

(Aus dem Botanischen Institut Münster i. W.)

DIE WIRKUNG DER AMMONIUMSALZE
IN IHRER ABHÄNGIGKEIT VON DER
WASSERSTOFFIONENKONZENTRATION. II.

Von

WALTER MEVIUS und HORST ENGEL.

(Eingegangen am 17. Juni 1929.)

Einleitung.

Vor einiger Zeit hat der eine von uns (MEVIUS 1928) eine Arbeit veröffentlicht, welche die Wirkung der Ammoniumsalze in ihrer Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration behandelt. Neben anderen wurden folgende Ergebnisse erhalten: „Die Wirkung der Ammoniumsalze starker Säuren ist von der Wasserstoffionenkonzentration der Nährlösung abhängig. Bei neutraler bis alkalischer Reaktion rufen die NH_4 -Salze eine ausgesprochene Giftwirkung hervor. Sie sind daher den Nitraten bei diesen p_{H} -Werten in ihrer Wirksamkeit stark unterlegen. Die Schäden sind von durch Säuren bedingten Giftwirkungen leicht zu unterscheiden. Sie machen sich in erster Linie an den Wurzeln bemerkbar. Das Wachstum wird gehemmt, die Haupt- und Nebenwurzeln nehmen an Dicke zu. Je nach dem Grade der Schädigung tritt ein Verglasen kleiner oder größerer Wurzelteile ein. In den schwersten Fällen sterben die ganzen Pflanzen ab. Der schädliche Einfluß nimmt zu mit steigender NH_4 -Konzentration und mit fallender Wasserstoffionenkonzentration. Ungünstige Außenfaktoren, wie Lichtmangel, Eisenmangel usw. bewirken eine erhebliche Steigerung der Giftwirkung der NH_4 -Salze. Mit fallendem p_{H} -Wert nimmt dann die Giftwirkung immer mehr ab, und im p_{H} -Intervall 5,3—5,6 sind die Ammoniumsalze in ihrer Wirksamkeit den Alkalinitraten gleich, und erhebliche Konzentrationen von ersteren werden ohne die geringste Schädigung von den Pflanzen ertragen. Alle Schädigungen, die in Gegenwart von NH_4 -Salzen auftreten, müssen, vorausgesetzt, daß der p_{H} -Wert der Außenlösung nicht unter 3,6 sinkt, nicht der physiologischen Azidität zugeschrieben, sondern auf ihren basischen Anteil zurückgeführt werden. In stark sauren Medien wird höchstwahrscheinlich die schädliche Wirkung der großen H-Ionenkonzentration durch die Gegenwart von Ammoniumsalsen noch verstärkt.“

Für diese Abhängigkeit der NH_4 -Salzwirkung von der Reaktion des Nährmediums wurde folgende Erklärung gegeben: Bestimmend für die Wirkung einer NH_4 -Salzlösung ist der Grad ihrer hydrolytischen Spaltung und damit die zu ihr gehörige NH_3 -Tension; denn je größer diese ist, in um so größerem Maße dringt Ammoniak, das ein starkes Zellgift ist, in die Zellen ein. Die NH_3 -Tension richtet sich bei gleicher H-Ionenkonzentration nach der NH_4 -Salzkonzentration der Lösung; je größer diese ist, um so größer ist auch der NH_3 -Druck. Bei gleicher NH_4 -Salzkonzentration ist andererseits die Reaktion der Lösung bestimmend für die NH_3 -Tension, und zwar nimmt sie mit steigendem p_{H} -Wert dauernd zu. Aus diesem Grunde werden in sauren Lösungen stärkere NH_4 -Salzmengen vertragen als bei neutraler oder sogar alkalischer Reaktion.

Von uns gemeinsam wurden in den Jahren 1928 und 1929 neue Versuche unternommen, um unter genauer Kontrolle des Stickstoffumsatzes in den Pflanzen, besonders in den Wurzeln, neue Beweise für die Richtigkeit der vorstehenden Ausführungen zu erbringen.

Methodik.

Als Versuchspflanze diente blauer Zuckermais. In einigen wenigen Fällen wurde auch die weiße Lupine, *Lupinus albus*, verwendet. Die Maispflanzen wurden, wie in der ersten Arbeit ausgeführt worden ist, vorbehandelt, d. h. vor Versuchsanstellung ihrer Hauptwurzel und des Samenkornes beraubt. Als Kulturgefäße dienten wieder 2,5 l fassende Glasgefäße aus Jenaer Glas „20“. Die früher benutzten Holzdeckel wurden durch gleichgebauter Porzellandeckel ersetzt. In jedes Kulturgefäß kamen auch bei diesen Versuchen wieder vier Versuchspflanzen. Als Lösungsmittel für die Nährsalze diente wegen seines starken Pufferungsvermögens das Leitungswasser von Münster i. W. Um Nährlösungen von p_{H} -Werten unter 7,0 zu erhalten, wurde folgendermaßen verfahren: durch Schwefelsäure wurde zunächst der Wasserstoffexponent des Leitungswassers auf 3,0 gebracht, sodann wurde solange CaHPO_4 oder, wenn größere p_{H} -Werte verlangt wurden, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ zugesetzt, bis der gewünschte Aziditätsgrad erreicht war. Diesen Lösungen wurden dann die übrigen Nährsalze zugesetzt. Nährlösungen von neutraler Reaktion wurden erhalten, wenn dem Leitungswasser direkt als Phosphatquellen $\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2$ und $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ und außerdem noch 500 mg CaCO_3 im Liter Wasser zugesetzt wurden. Unter dem Einfluß der Atmungskohlensäure der Wurzeln der Versuchspflanzen stellte sich sodann in einer derartigen Nährlösung ein p_{H} -Wert von 7,0—7,1 ein. Die Reaktion der Nährlösung wurde meistens kolorimetrisch mit Hilfe des HELLIGE-Komparators und CLARKschen Indikatoren bestimmt, in einigen Fällen aber auch elektrometrisch mit Hilfe der Mikrochinhydronelektrode nach PINKUSSEN. Elektrometrisch wurden auch die p_{H} -Werte der Wurzelpreßsäfte bestimmt. Der Gesamtstickstoff, der Eiweißstickstoff, der lösliche Stickstoff, der Ammonstickstoff, der Amidstickstoff und der α -Aminostickstoff — Reststickstoff — wurden nach den von ENGEL (1929) angegebenen Methoden ermittelt. Bei der Bestimmung des präformierten Ammoniaks muß noch erwähnt werden, daß die Analyse *sogleich* nach Fällung der Eiweißsubstanzen im Filtrat vorgenommen wurde. *Bleiben die Eiweißfiltrate längere Zeit stehen, so erfolgte eine merkliche Erhöhung des präformierten Ammoniaks.* Infolge der saueren Reaktion des Filtrates trat offenbar eine Hydrolyse der Amidgruppe des Asparagins

ein, eine Erscheinung, die schon nach 24 Stunden eine Senkung des Amidstickstoffs und eine Steigerung des NH_4 -Stickstoffs zur Folge hatte.

Die abgeschnittenen Wurzeln kamen zunächst eine halbe Stunde lang in destilliertes Wasser, das fünf- bis sechsmal gewechselt wurde. Das Trocknen erfolgte durch Abtupfen mit Fließpapier. Sodann blieben die Wurzeln aufgelockert noch 10 Minuten lang zwischen diesem liegen.

Die Werte der verschiedenen Stickstofffraktionen in den Tabellen wurden auf zwei Größen bezogen; einmal wurde das Frischgewicht der Wurzeln bzw. Sproßteile als Bezugsgröße gewählt — senkrechte Ziffern —, weiterhin wurde aber auch der Gesamtstickstoffgehalt als Bezugsgröße benutzt — schräge Ziffern.

Versuche.

I. Abschnitt.

Wenn für die von den Versuchspflanzen aus einer Ammoniumsalzlösung aufgenommene NH_4 -Menge die in der Lösung herrschende NH_3 -Tension in erster Linie bestimmend ist, und zwar in dem Sinne, daß mit steigendem NH_3 -Druck in der Lösung die Menge des in die Wurzelzellen eindringenden Ammoniaks zunimmt, so muß natürlich bei gleichem Wachstum der Versuchspflanzen der basische Anteil der Ammoniumsalze um so schneller aus der Lösung verschwinden, je größer der p_H -Wert des Nährmediums ist. Schon KUSNETZOW (1925) fand bei *Citromyces glaber* tatsächlich bei steigender Azidität fallende NH_4 -Aufnahme. Ähnliche Beobachtungen machten PRIANISCHNIKOW (1926) und PRIANISCHNIKOV und DOMONTOVITCH (1926) bei Versuchen mit Hafer, Mais und Erbse und NH_4NO_3 als Stickstoffquelle. Von uns wurden in dieser Richtung zwei Versuchsreihen angesetzt.

1. Blauer Zuckermais wurde zunächst vom 5. III. bis 27. III. 1929 in Leitungswasser ohne Nährsalzzusatz gezogen. Man bekam so Versuchspflanzen, die zwar relativ reich an Kohlehydraten waren, die aber andererseits sich schon längere Zeit im N-Hunger befanden und infolge ihres großen N-Defizits besonders dazu geeignet sein mußten, große N-Mengen aus dem Nährmedium aufzunehmen. Am 27. III. 1929, 6 Uhr abends kamen die Versuchspflanzen in die für sie bestimmten Nährlösungen, die sich in genau graduierten Gefäßen befanden, und zwar 2 Liter pro Gefäß. Im Liter Lösung befanden sich folgende Nährsalze: 500 mg MgSO_4 , 500 mg KCl , 500 mg $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 300 mg $\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2$ und außerdem CaHPO_4 bzw. $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Die Lösung mit dem größten p_H -Wert erhielt ferner 500 mg CaCO_3 . Es wurden für jeden p_H -Wert zwei Parallelkulturen mit je 16 Pflanzen angesetzt. Außerdem erhielt ein drittes Gefäß nur Nährlösung, aber keine Versuchspflanzen. Nach 110 Stunden wurde der Versuch abgebrochen, der NH_4 -Verbrauch und das Frischgewicht der Pflanzen bestimmt.

In den Gefäßen ohne Versuchspflanzen wurde dieselbe Ammoniumsulfatmenge gefunden wie zu Beginn des Versuches. Die übrigen Werte gibt die Tabelle 1 wieder. Die für die beiden Parallelkulturen gefundenen Zahlen sind jedesmal zu einem Wert zusammengefaßt worden. Der Wasserstoffexponent wurde zu Beginn und am Ende des Versuches bestimmt. Es fand, wie erwartet werden mußte, überall ein Aziditätsanstieg statt.

Auf welche Größe sollen nun die aus der Lösung verschwindenden NH_4 -Mengen bezogen werden? Zunächst wäre an das gesamte Frischgewicht zu denken. Da aber bekanntlich das Wachstum in weitem Maße von der Reaktion der Nährlösung abhängig ist, so muß es von erheblicher Bedeutung sein, ob man das Frischgewicht zu Beginn des Versuches oder am Ende feststellt. Zu brauchbaren Vergleichswerten dürfte aber nur das anfängliche Frischgewicht als Bezugsgröße führen; dieses festzustellen, ist aber, da die Pflanzen zu den Absorptionsversuchen weiterhin noch benutzt werden sollen, ohne eine Schädigung zahlreicher Wurzelspitzen nicht möglich. Würde man das Endfrischgewicht als Bezugsgröße wählen, so könnte das durch die verschiedene Reaktion bedingte ungleiche Wachstum der Pflanzen die Verhältnisse vollständig undurchsichtig machen. Als weitere Bezugsgröße könnte das Frischgewicht der in die Lösung eintauchenden Wurzelteile in Betracht kommen. Leider aber ist diese Bestimmung auch nur am Ende des Versuches möglich. Da aber auch das Wurzelwachstum stark von der Reaktion abhängig ist, so wird natürlich dadurch der Wert dieser Bezugsgröße sehr stark herabgemindert. Hinzu kommt noch als weitere Fehlerquelle, daß bei gleichen Frischgewichten die Oberfläche der gesamten Wurzelmassen der einzelnen Kulturen sich voneinander sehr stark unterscheiden können; denn bekanntlich werden bei einigen p_H -Werten sehr dünne und lange Wurzeln gebildet, während bei anderen Wasserstoffexponenten das Wurzelwachstum in Längsrichtung stark gehemmt wird und die Wurzeln selbst erheblich an Dicke zunehmen. Die beste Bezugsgröße würde man erhalten, wenn es möglich wäre, die resorbierende Oberfläche der gesamten Wurzelmassen in den verschiedenen Kulturen zu Beginn des Versuches zu bestimmen. Leider scheidet aber diese Möglichkeit von vornherein vollständig aus. Wir glauben nun, daß es am besten ist, zunächst die Versuchsdauer möglichst abzukürzen, damit die durch die verschiedene Reaktion bedingten Wachstumsunterschiede nicht so stark in Erscheinung treten. Weiterhin ist es zweckmäßig, möglichst viele Pflanzen zu jedem Versuche zu benutzen, da dann die Wahrscheinlichkeit besteht, daß zu Beginn des Versuches die gesamte resorbierende Oberfläche in allen Kulturen etwa die gleiche ist. Auch darf man bei Benutzung zahlreicher Versuchspflanzen erwarten, daß der NH_4 -Verbrauch in den einzelnen Kulturen so groß ist, daß man deutliche Unterschiede erhält. Als Bezugsgröße wählt man in diesem Falle entweder die einzelne Pflanze oder das Gramm-Frischgewicht der in die Lösung eintauchenden Wurzelteile oder aber das der ganzen Pflanze. Die Benutzung zahlreicher Versuchspflanzen in jedem Kulturgefäß hat allerdings den Nachteil, daß die Reaktion der Nährlösung auch bei großer relativer Pufferung sich ziemlich schnell verändert.

Tabelle 1.

p_H Anfangs- Wert	p_H End- Wert	Von 32 Pflz. auf- genommene N-Menge in mg	Von 1 Pflz. auf- genommene N-Menge in mg	Frisch- gewicht der 32 Pflanzen in g	Die von 1 g Frisch- gew. aufge- nommene N-Menge in mg	Frisch- gewicht der in die Lösg. eintauchen- den Wurzel- teile in g	Die von 1 g Frisch- gew. aufge- nommene N-Menge in mg
4,3	3,4	93,2	2,91	75,7	1,23	18,2	5,12
6,1	4,0	109,6	3,43	75,3	1,45	20,5	5,35
7,1	6,8	121,6	3,8	67,9	1,80	15,1	8,05

Welche Bezugsgröße wir nun auch wählen, wir sehen immer, daß mit steigendem p_H -Wert entsprechend der größeren NH_3 -Tension die aufgenommene N-Menge zunimmt, und daß sie am Neutralpunkt ihren größ-

ten Wert erreicht, obwohl das Wurzel- und das Gesamtfrischgewicht der 32 Pflanzen dort den kleinsten Wert besitzt. Das Wurzelwachstum war am günstigsten bei dem mittleren p_H -Wert. Es nahm nach beiden Seiten hin ab. Dabei ergab sich aber ein prinzipieller Unterschied. Am Neutralpunkt blieben die Wurzeln kurz, sie wurden aber auffällig dick und zeigten eine leicht gelbe Färbung, die in dem stark sauren Medium neu gebildeten Wurzeln und Wurzelteile waren schneeweiß, aber auffällig lang und dünn. Ferner zeigten die Lösungen, in denen sich diese Pflanzen befunden hatten, eine starke Trübung. Wir glauben, daß es sich hierbei um den Austritt von Phosphatiden im Sinne von HANSTEEN-CRANNER handelt, der durch den schnell erfolgenden starken Aziditätsanstieg hervorgerufen worden ist. Für beginnende Wurzelschäden in den stark sauren Lösungen spricht auch das Verschwinden der Schleimkappen, die an gesunden, normal wachsenden Wurzelspitzen immer angetroffen werden und deren Fehlen nach allen unseren Beobachtungen immer das erste Zeichen von starken Wurzelschäden darstellt.

2. Zu dieser Versuchsreihe wurden Pflanzen benutzt, die bei p_H 5,5—5,7 in vollständiger Nährlösung und in Gegenwart von 500 mg NH_4NO_3 als Stickstoffquelle 4 Wochen lang gezogen worden waren. Diese Versuchspflanzen waren also sehr reichlich vor Anstellung des Versuches mit gebundenem Stickstoff versorgt worden. Bevor die Pflanzen in die Versuchslösungen kamen, wurden sie in Leitungswasser 24 Stunden gestellt, das dreimal gewechselt wurde. Die Nährlösung hatte im Liter Leitungswasser folgende Zusammensetzung: 500 mg $(NH_4)_2SO_4$, 500 mg KCl, 500 mg $MgSO_4$, 300 mg $Fe_3(PO_4)_2$ und $CaHPO_4$ bzw. $Ca_3(PO_4)_2$. Vom 13. XI. 1928 bis 21. XI. 1928 befanden sich die Versuchspflanzen in den Versuchslösungen. In jedem Kulturgefäß befanden sich vier Pflanzen. Die Tabelle 2 gibt die Ergebnisse des Versuches wieder.

Tabelle 2.

p_H Anfangs-Wert	p_H End-Wert	N-Verbrauch der 4 Pflanzen in mg	Frischgewicht d. 4 Pflanz.		Bemerkungen
			Sproß in g	Wurzel in g	
5,5	5,0	8,8	29,5	7,7	Wurzeln schneeweiß
5,5	5,0	5,3	29,0	6,5	Wurzeln schneeweiß
7,1	7,2	23,8	32,0	6,25	Wurzeln leicht gelb, deutlich geschädigt
7,1	7,25	14,1	28,0	6,0	Wurzeln z. T. stark geschädigt

Auffällig ist im Vergleich zu dem vorhergehenden Versuche die geringe NH_4 -Aufnahme. Diese dürfte zunächst eine Folge des durch die ungünstige Jahreszeit bedingten geringen Wachstums gewesen sein, weiterhin wird aber auch die vorhergehende gute Versorgung mit gebundenem Stickstoff hemmend auf die NH_4 -Aufnahme und den NH_4 -Verbrauch eingewirkt haben. Jedoch auch diese Versuche lassen deutlich erkennen, daß mit steigendem p_H -Wert die NH_4 -Aufnahme zunimmt; denn obwohl die Pflanzen in den neutral reagierenden Lösungen am Ende des Ver-

suches die kleinsten Wurzelmassen besessen haben und außerdem noch ein Teil ihrer Wurzelspitzen am Ende des Versuches geschädigt war, also dadurch ihr Resorptionsvermögen noch herabgesetzt sein mußte, so haben sie dennoch erheblich größere NH_4 -Mengen der Lösung entzogen.

Die beiden Versuchsreihen haben also eindeutig gezeigt, daß mit steigendem p_{H} -Wert der Nährlösung die Versuchspflanzen den basischen Anteil eines NH_4 -Salzes in steigendem Maße aufnehmen.

Wie die folgenden Ausführungen zeigen sollen, können aber diese Versuche nur bei kurzer Versuchsdauer zu positiven Ergebnissen führen. Zwischen der NH_3 -Tension des Nährmediums und derjenigen in den resorbierenden Wurzelzellen wird sich zunächst ein statisches Gleichgewicht herstellen, das auch dauernd erhalten bleibt, wenn erstens kein Transpirationsstrom vorhanden wäre und zweitens nicht schon in den Wurzelzellen eine Umwandlung eines Teiles des präformierten Ammoniaks in Amide, Aminosäuren und Eiweißverbindungen stattfände. Wie später gezeigt wird, ist dieses aber tatsächlich der Fall. Durch diese Faktoren wird aber das statische Gleichgewicht dauernd gestört, so daß es nur zu einem dynamischen Gleichgewicht zwischen dem NH_3 -Druck in der Nährlösung und dem in den resorbierenden Wurzelzellen kommt. In welcher Menge in den Wurzeln die organischen N-Verbindungen gebildet werden, hängt bekanntlich einmal von der Menge des eingedrungenen Ammoniaks ab, sodann aber auch von den vorhandenen Kohlehydratmengen — siehe ENGEL 1929.

Da letztere nun zu Beginn des Versuches in allen Versuchspflanzen etwa dieselben gewesen sein dürften, so muß zunächst bei höheren p_{H} -Werten der NH_4 -Verbrauch erheblich größer sein als bei kleineren. Infolge des dynamischen Gleichgewichtes muß nun aber ständig im Innern der resorbierenden Zellen bei hohem p_{H} -Wert ein größerer NH_3 -Druck herrschen als bei niederem, vorausgesetzt natürlich, daß die NH_4 -Salzkonzentrationen in den Außenlösungen etwa dieselben sind. Wenn nun diese NH_3 -Tension einen bestimmten Wert überschreitet (am Neutralpunkte wird dieses bei den zur Anwendung gekommenen NH_4 -Salzkonzentrationen der Fall gewesen sein), so muß es zu einer Schädigung der resorbierenden Wurzelzellen kommen und sehr wahrscheinlich auch zu einer Herabsetzung des Wurzel- und Sproßwachstums. Die Folge hiervon ist aber, daß bei längerer Versuchsdauer von den Pflanzen bei tieferen p_{H} -Werten infolge ihres besseren Wachstums, und weil dadurch das Gleichgewicht zwischen Außenlösung und Wurzelzellen in ganz besonders starkem Maße ständig gestört wird, die aufgenommene NH_4 -Menge eine stärkere Steigerung erfährt als bei den Pflanzen, die sich in Lösungen mit höherem p_{H} -Wert befinden. Wenn es nun außerdem noch in letzterem Falle zu einer Hemmung in der Eisenaufnahme und damit zur Chlorose kommt, wie bei unseren Versuchen tatsächlich immer beob-

achtet wurde, so wird in diesem Falle die Störung des Gleichgewichtes zwischen Außenlösung und Wurzelzellen wegen der fehlenden Kohlehydrate eine ständige Verzögerung erfahren; d. h., die NH_4 -Aufnahme muß sich noch weiterhin zugunsten der Pflanzen verschieben, die sich in Lösungen von kleinerem p_H -Wert befinden. Es kann daher der Fall eintreten, daß jetzt der NH_4 -Verbrauch bei größerer Wasserstoffionenkonzentration größer als bei kleinerer ist. *Versuche über die NH_4 -Abnahme in einer Nährlösung in Abhängigkeit vom Wasserstoffexponenten sind daher nur bei kurzer Versuchsdauer¹ und bei Anwendung einer großen Anzahl von Versuchspflanzen imstande, uns einwandfreie Ergebnisse zu liefern.*

II. Abschnitt.

Seit den Untersuchungen von KINOSHITA (1895), SUZUKI (1896, 1897), TAKABAYASHI (1897, 1898) und vor allen Dingen von PRIANISCHNIKOW und seinen Mitarbeitern (1904, 1910, 1913, 1924, 1926) wissen wir, daß die höheren Pflanzen auf erhöhte NH_4 -Salzzufuhr durch starke Asparaginbildung antworten. Diese Beobachtungen sind in der neuesten Zeit von MOTHES (1926, 1929) bestätigt worden. Wir dürfen heute mit Recht annehmen, daß das Asparagin in der Pflanze einen Ammoniakentgifter darstellt — es sei auf die Ausführungen von MOTHES (1926, 1929) und ENGEL (1929) verwiesen. RUHLAND und WETZEL (1926, 1927, 1929) haben weiterhin darauf hingewiesen, daß eine Gruppe von grünen Pflanzen von außen zugeführtes oder im Stoffwechsel entstehendes Ammoniak durch Neutralisation unschädlich machen kann. Es muß also in diesem Falle eine gesteigerte NH_3 -Zufuhr sich in einem starken Anstieg des präformierten Ammoniaks bemerkbar machen. Wenn die Ammoniakaufnahme wirklich die von uns angenommene Abhängigkeit von der Reaktion der Nährlösung zeigt, so muß es möglich sein, an Hand der in den Wurzeln auftretenden Asparaginmengen und vielleicht auch der Mengen präformierten Ammoniaks unsere Annahme auf ihre Richtigkeit zu prüfen. Weiterhin müssen dabei natürlich auch die anderen Stickstofffraktionen wie Eiweiß-N und Amino-N berücksichtigt werden, da ja bei besonders günstigen Assimilationsbedingungen, also großem Kohlehydratvorrat, es möglich sein muß, daß von der Pflanze direkt der Weg Ammoniak-Aminosäure-Eiweißstoffe beschritten wird. — Dabei wird es nicht zur Aufspeicherung von Asparagin kommen, obwohl die NH_3 -Aufnahme eine beträchtliche gewesen sein kann. Es wurden nun die folgenden Versuche zur Prüfung der Richtigkeit unserer Arbeitshypothese angestellt.

1. 30 mal 4 Pflanzen kamen am 1. VII. 1928 in Leitungswasser. Am

¹ Diese darf allerdings auch nicht zu kurz sein, damit reine Adsorptionserscheinungen an den Oberflächen der Zellwandteilchen eine Aufnahme durch die lebenden Zellen nicht vortäuschen können.

4. VII. 1928 wurden die Hauptwurzeln und die Samen entfernt, am 7. VII. 1928 Überführung der Pflanzen in die Versuchslösungen. Am 20. VII. 1928 wurden die Versuche abgebrochen.

a) *Leitungswasser + 220 mg $(NH_4)_2SO_4$ im Liter H_2O .* Der Anfangs p_H -Wert betrug 7,3. Während des Versuches fiel er langsam bis auf 6,8—6,9. Die Sprosse zeigten das bekannte Bild: lange Lebensdauer und kein Aufbleichen der ältesten Blätter, mittelstarke bis starke Chlorose der jüngsten Sproßteile. Die Wurzeln wurden im Wachstum gehemmt und nahmen erheblich an Dicke zu. Langsam stellten sich auch sichtbare Schäden ein. Die schneeweiße Farbe wich einem hellen Gelbgrau, und an den Spitzen schwanden die Schleimpfropfen. Später bräunten sich die Wurzelspitzen und begannen zu faulen.

b) *Leitungswasser + 260 mg $NaNO_3$ im Liter H_2O .* Der Anfangs- p_H -Wert 7,3 fiel während des Versuches wahrscheinlich infolge der mit zunehmender Wurzelmasse zunehmenden Atmungskohlensäure auf 7,0—7,1. Die Sprosse verhielten sich wie bei a. Die Wurzeln zeigten anfangs eine Wachstumshemmung, die aber nach etwa 8 Tagen überwunden war. Am Ende des Versuches waren alle Wurzelspitzen intakt und die Haupt- und Nebenwurzeln erheblich länger als in den $(NH_4)_2SO_4$ -Kulturen.

c) *Leitungswasser ohne N-Salze.* Der p_H -Wert stellte sich auf 7,1—7,2 ein. Die Hauptwurzeln wuchsen sehr stark in die Länge. Sie waren schneeweiß und besaßen zahlreiche Nebenwurzeln. Die Sprosse blieben klein. Das Grüne der ältesten Blätter hellte sich schon nach wenigen Tagen auf. Bald vergilbten und vertrockneten sie. Die jüngsten Blätter zeigten niemals Chlorose. Sie deckten ihren Eisen- und N-Bedarf auf Kosten der älteren Blätter (MEVIUS 1928, ENGEL 1929).

Die Pflanzen wurden zu verschiedenen Zeiten analysiert. Die Tabelle 3 gibt die Ergebnisse der Wurzelanalysen wieder.

Wie schon der eine von uns — ENGEL 1929 — zeigen konnte, nimmt bei Abwesenheit von N-Verbindungen im Nährmedium die Gesamtstickstoffmenge in den Wurzeln stark ab. Von den verschiedenen N-Fractionen ist von dem Abbau in erster Linie die Eiweißfraktion betroffen worden. Eine deutliche Verminderung zeigt aber auch die Menge des Aminosäurestickstoffs. Keine nennenswerte Veränderung hat die auf Frischgewicht bezogene, absolute Größe des Ammon- und Amidstickstoffes erfahren. Wählen wir allerdings die Gesamtstickstoffmenge als Bezugsgröße, so haben relativ diese beiden Fraktionen zugenommen.

Ganz andere Verhältnisse treffen wir aber an, wenn dem Leitungswasser Ammoniumsulfat zugesetzt wird. Zunächst erfolgt ein sehr starker Anstieg des Gesamtstickstoffes, der später allerdings von einem leichten Abfall abgelöst wird. An dem Anstieg sind alle N-Fractionen beteiligt, in ganz besonderem Maße aber der lösliche Stickstoff, der sich in 9 Tagen ungefähr versiebenfacht hat, wenn wir berücksichtigen, daß am 7. VII., als die Pflanzen in die $(NH_4)_2SO_4$ -Lösungen kamen, die Menge des löslichen Stickstoffes noch kleiner gewesen sein muß als am 4. VII. Von besonderem Interesse für die Beantwortung der von uns gestellten Frage sind aber die Verhältnisse bei den einzelnen Fraktionen der Gruppe „löslicher Stickstoff“. Am stärksten hat absolut — auf

Tabelle 3.

Wurzeln in	Analyse begonnen am	Gesamt-N	Eiweiß-N	Löslicher N	Ammon.-N	Doppelter Amid-N	Amino-N	Durchschnittlicher Pr-Wert des Wurzelpreßsaftes am 19. VII. 28
Leitungswasser ohne N-Quelle	4. VII.	0,173 100	0,125 72,3	0,048 27,7	0,0036 2,08	0,012 6,93	0,032 18,7	5,32
	24. VII.	0,102 100	0,071 69,6	0,031 30,4	0,0031 3,04	0,012 11,8	0,016 15,6	
Leitungswasser + (NH ₄) ₂ SO ₄	12. VII.	0,382 100	0,178 46,6	0,204 53,4	0,016 4,19	0,106 27,7	0,082 21,5	5,71
	16. VII.	0,547 100	0,208 38,0	0,339 62,0	0,023 4,20	0,180 32,9	0,136 24,9	
	19. VII.	0,516 100	0,181 35,1	0,335 64,9	0,028 5,43	0,208 40,3	0,099 19,2	
Leitungswasser + NaNO ₃	18. VII.	0,213 100	0,145 68,1	0,068 31,9	0,0037 1,74	0,020 9,39	0,044 20,8	5,71
	26. VII.	0,243 100	0,143 58,8	0,100 41,2	0,0037 1,52	0,036 14,8	0,060 24,9	

Frischgewicht bezogen — und relativ — auf Gesamtstickstoff bezogen — der Amidstickstoff zugenommen, er hat sich versiebenzehnfacht. An zweiter Stelle steht der Ammonstickstoff, der etwa den achtfachen Wert erreicht, und an letzter Stelle der Aminostickstoff, der gegen Ende des Versuches wieder eine Verminderung erfahren hat. Die Verhältnisse werden noch eindeutiger, wenn wir, wie das in der Tabelle 4 geschehen ist, den „löslichen N“ als Bezugsgröße wählen.

Tabelle 4.

Analyse begonnen am	Löslicher N	Ammon-N	Doppelter Amid-N	Amino-N	Bemerkungen
4. VII. 1928	100	7,5	25,0	67,5	
12. VII. 1928	100	7,8	52,0	40,2	
16. VII. 1928	100	6,8	53,1	40,1	
19. VII. 1928	100	8,4	62,1	29,5	Wurzelspitzen zum Teil abgestorben

Wir sehen dann deutlich, wie sich das Verhältnis Doppelter Amid-N: Amino-N ständig zugunsten des ersteren verschiebt. Es werden vielleicht mit zunehmender Versuchsdauer in steigendem Maße die gebildeten Aminosäuren zu Amiden weiter verarbeitet. Wie nun die Eiweißstickstoffabnahme gegen Ende des Versuches erkennen läßt, müssen im Gegensatz zu den ersten Tagen des Versuches, wo ein deutlicher Eiweißaufbau festgestellt werden konnte, die Aminosäuren, wenigstens zu einem Teile, aus dem Eiweißabbau stammen. Infolge der ständig eindringenden großen Ammoniakmengen ist vielleicht die Pflanze gezwungen, um das Ammoniak zu entgiften, ihre Reserveeiweißstoffe zu hydrolysieren und so Aminosäuren zur Bildung von Amiden heranzuziehen. Diese allerdings keineswegs ausreichend bewiesene Tatsache läßt sich sehr wohl in die schematische Darstellung des Stickstoffumsatzes einordnen, die der eine von uns (ENGEL 1929) angegeben hat.

Wie weiterhin festgestellt werden konnte, entfiel der Amidstickstoff wohl vollständig auf Asparagin; denn es gelang, dieses Amid aus den Wurzelpreßsäften abzuscheiden. Die Wurzeln wurden zerrieben, der Wurzelbrei mit 1% Tanninlösung versetzt und vom Rückstand abfiltriert. Die Entfernung der überschüssigen Gerbsäure aus dem Filtrat geschah mittels Barytlaug, die Entfernung des überschüssigen Bariums durch Ammoniumkarbonat. Das ammoniakalische Filtrat wurde bis zur Sirupkonsistenz eingengt und mit Alkohol gefällt. Der Niederschlag wurde in wenig Wasser gelöst und abermals mit Alkohol gefällt. Die dabei entstehenden Kristalle zeigten die für das Asparagin charakteristischen Eigenschaften.

Wieder andere Verhältnisse treffen wir in den Pflanzenwurzeln an, die in den NaNO_3 -Lösungen gestanden haben. Hier hat auch der Ge-

samtstickstoff eine, allerdings erheblich geringere, Steigerung erfahren. Der lösliche Stickstoff hat sich aber in den ersten 11 Tagen nur etwa um die Hälfte vermehrt und nach 19 Tagen nur verdoppelt. Von den einzelnen Fraktionen des löslichen Stickstoffs hat der Ammonstickstoff, auf Frischgewicht bezogen, überhaupt keine Änderung erfahren. Auf Gesamtstickstoff bezogen hat er sich sogar deutlich vermindert. Das Asparagin hat sich verdreifacht. Eine Verdoppelung hat der Amino-stickstoff erfahren. Mit einigen Worten ist auch noch auf die Frage einzugehen, in welcher Form das präformierte Ammoniak vorliegt. Die NH_4 -Fraktion umfaßt sowohl das freie Ammoniak als auch dasjenige, welches an Säuren gebunden ist. Bei den $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Pflanzen muß fast alles präformierte Ammoniak in Form von NH_4 -Salzen vorliegen, denn sonst hätte der Preßsaft einen erheblich höheren p_H -Wert liefern müssen als derjenige der NaNO_3 -Pflanzen, die nur geringe Mengen NH_4 -N besitzen. Für die Gegenwart von freiem Ammoniak scheint allerdings ein Vergleich mit dem niedrigen p_H -Wert des Preßsaftes der im N-freien Medium gezogenen Wurzeln zu sprechen. Ein solcher Vergleich scheint uns aber nicht zugänglich zu sein.

Die Beobachtung, daß die Abwesenheit von N-Verbindungen im Nährmedium von einem Abfall des p_H -Wertes des Preßsaftes begleitet ist, steht vollständig in Übereinstimmung mit den Befunden von RÜHLAND und WETZEL (1926), die ebenfalls beobachten konnten, daß sich Stickstoffmangel in einem Aziditätsanstieg der Gewebepreßsäfte äußert. Wegen dieses Verhaltens, und weil die Wurzeln der im reinen Leitungswasser gezogenen Pflanzen sich morphologisch sehr stark von denen der Pflanzen unterscheiden, die in der $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - bzw. NaNO_3 -Lösung gezogen worden sind, glauben wir, daß man überhaupt keine Vergleiche zwischen den Preßsäften der N-freien Kulturen und denen der N-führenden Kulturen anstellen darf. Den gleichen morphologischen Bau zeigen aber die Wurzeln der $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Pflanzen und die der NaNO_3 -Pflanzen, daher scheint uns wohl hier ein Vergleich des p_H -Wertes der Preßsäfte erlaubt zu sein.

Bei unseren Versuchspflanzen wurden auch die N-Verhältnisse in den verschiedensten Blättern analysiert. Die folgende Tabelle gibt die Ergebnisse wieder.

In den ältesten Blättern der mit Ammoniumsulfat ernährten Pflanzen hat also trotz erheblicher Ammoniak-Aufnahme durch die Wurzeln keine Neubildung von Eiweißstoffen stattgefunden. Vielleicht ist sogar der Eiweißabbau, der in den ältesten Blättern der Hungerpflanzen in so starkem Maße erfolgte, auch bei N-Zufuhr nicht vollständig zum Stillstand gekommen. Eine deutliche, wenn auch nicht sehr starke Steigerung hat dagegen der Gehalt an Amino-N, NH_4 -N und an Asparagin erfahren. Vergleichen wir aber diese Zunahmen mit denen in den Wurzeln, so ergibt

Tabelle 5.

Nährmedium	Analysierter Sproßteil	Analyse begonnen am	Gesamt-N	Eiweiß-N	Löslicher-N	Ammon.-N	Doppelter Amid-N	Amino-N	Bemerkungen
Leitungswasser	Die ältesten Blätter	4. VII.	0,243 100	0,220 90,5	0,023 9,50	0,0021 0,86	0,0080 3,29	0,013 5,35	
		9. VII.	0,183 100	0,156 85,2	0,027 14,8	0,0023 1,26	0,0022 1,20	0,022 12,3	
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	Die ältesten Blätter	11. VII.	0,197 100	0,153 77,7	0,044 22,3	0,0027 1,37	0,014 7,11	0,027 13,8	
		12. VII.	0,211 100	0,148 70,1	0,063 29,9	0,0036 1,71	0,022 10,4	0,037 17,8	
	Die zweitjüngsten Blätter	20. VII.	0,532 100	0,269 50,6	0,263 49,4	0,0056 1,05	0,140 26,3	0,117 22,0	Blätter zum Teil chlorotisch
		20. VII.	0,568 100	0,281 49,5	0,287 50,5	0,0043 0,76	0,170 29,9	0,113 19,8	
NaNO_3	Die zweitjüngsten Blätter	25. VII.	0,327 100	0,223 68,2	0,104 31,8	0,0015 0,46	0,040 12,2	0,062 19,1	Blätter zum Teil chlorotisch
		25. VII.	0,496 100	0,235 47,4	0,261 52,6	0,0039 0,79	0,142 28,6	0,115 23,2	

sich doch ein sehr auffälliger Unterschied. Das Verhältnis gebundener Kohlenstoff: gebundenem Stickstoff, das in den Wurzeln eine sehr starke Verschiebung zugunsten des letzteren erfahren hatte, muß sich in den ältesten Blättern wieder zugunsten des Kohlenstoffs verschoben haben. Dafür spricht auch der relativ hohe Wert des Verhältnisses Eiweiß-N: löslichem N in den ältesten Blättern.

In den zweitjüngsten und jüngsten Blättern, die, da keine Eisenquelle gegeben wurde, eine ausgesprochene Eisenchlorose zeigten, treffen wir wieder ganz andere N-Verhältnisse an. Alle N-Fractionen haben zugenommen, einige sogar in sehr starkem Maße. Die geringste Steigerung hat aber der Eiweißstickstoff erfahren. Ja relativ genommen, hat er sogar abgenommen, so daß sich das Verhältnis Eiweiß-N: löslichem N sehr stark zugunsten des letzteren verschoben hat. Außerordentlich groß ist die Zunahme an Asparagin und an Aminosäuren. Sehr gering ist die Steigerung an präformiertem Ammoniak. *Vergleichen wir die Verhältnisse in den verschiedenen Blättern mit denen in den Wurzeln, so sehen wir zunächst, daß die Fülle der in den Wurzeln gebildeten N-Verbindungen mit Ausnahme des präformierten Ammoniaks in die Sproßspitzen geleitet wird. Dort erfolgt eine Ansammlung, weil wegen Mangel an wichtigen Nährstoffen — es wurde ja keine vollständige Nährlösung gegeben — das Sproßwachstum außerordentlich schwach ist. Auf dem Wege zu den Sproßspitzen treffen die in den Wurzeln befindlichen NH_4 -Salze auf die in den normal grünen, älteren Blätter gebildeten und von dort auch nach den Wurzeln abgeleiteten N-freien Assimilate. Die Folge davon ist, daß absolut und relativ die Menge des präformierten Ammoniaks auf dem Wege zur Sproßspitze eine ständige Verminderung erfährt.* Die günstigere Lage des Sprosses in bezug auf die Versorgung mit gebundenem Kohlenstoff läßt sich auch an dem hohen Gehalt der jüngeren Blätter an Eiweiß- und Aminostickstoff erkennen. Wir dürfen erwarten, daß der Gehalt an Eiweißsubstanzen noch größer gewesen wäre, wenn nicht die jüngsten Teile durch die Eisenchlorose mehr oder weniger vollständig in ihrer CO_2 -Assimilation gehemmt worden wären.

Bei den Nitratpflanzen treffen wir in den jüngsten, chlorotischen Blättern ganz ähnliche Verhältnisse an wie in den entsprechenden der Ammonpflanzen. Die relativen Werte der einzelnen N-Fractionen beider Versuchsreihen zeigen eine geradezu auffallende Übereinstimmung: Beziehen wir die verschiedenen N-Fractionen allerdings auf das Frischgewicht, so haben Gesamtstickstoff, Eiweißstickstoff und Amidstickstoff bei den $NaNO_3$ -Pflanzen eine geringere Zunahme erfahren. Dieses dürfte wohl eine Folge des geringeren Vorrats der Wurzeln an gebundenem Stickstoff sein. Besonders auffällig ist nun aber der große Gehalt der jüngsten Blätter der Nitratpflanzen an Asparagin. Unter Berücksichtigung der Annahme, daß Asparagin ein Entgiftungsprodukt des

Ammoniaks darstellt und immer nur dann in größeren Mengen auftritt, wenn von außen zugeführtes oder im Stoffwechsel entstehendes Ammoniak in der Pflanze nur ungenügende Vorräte an N-freien organischen Kohlenstoffverbindungen antrifft, dürfen wir den Schluß ziehen, daß in unserem Falle auch bei Ernährung mit Nitraten in den Maispflanzen relativ große Mengen von Ammoniak aufgetreten sein müssen, die nur durch Reduktion aus den Nitraten entstanden sein können. Stammten sie aus desaminierten Aminosäuren, dann hätte man auch in den jüngsten Blättern derjenigen Pflanzen einen ähnlichen Asparaginanstieg feststellen müssen, die in reinem Leitungswasser gezogen worden waren. Dieses ist aber, wie schon früher der eine von uns — ENGEL 1929 — gezeigt hat, nicht der Fall. Die Übereinstimmung des N-Haushaltes in den jüngsten Blättern der mit $\text{NO}_3\text{-N}$ und mit $\text{NH}_4\text{-N}$ ernährten Maispflanzen dürfte uns gestatten, bemerkenswerte Schlüsse über den Vorgang der Eiweißsynthese bei Fütterung mit Nitraten zu ziehen. Es soll hierauf noch kurz am Schluß der Arbeit eingegangen werden.

Aus diesen Beobachtungen geht also hervor, daß Maispflanzen, die sich in einer neutral reagierenden Ammoniumsulfatlösung befinden, in ihren Wurzeln einen außerordentlich großen Anstieg ihres Gehaltes an präformiertem Ammoniak und Asparagin erkennen lassen, Mengen, die um das Vielfache größer sind als diejenigen, die angetroffen werden, wenn den Pflanzen Natriumnitrat als N-Quelle dargeboten wird. Aus Preßsaft- p_H -Messungen geht hervor, daß das präformierte Ammoniak fast vollständig als $\text{NH}_4\text{-Salz}$ in den Wurzeln vorliegen muß. Der starke Anstieg der Amid- und der $\text{NH}_4\text{-Salz}$ -Mengen in den Pflanzenwurzeln läßt noch den weiteren Schluß zu, daß bei neutraler Reaktion auch aus einer relativ schwachen $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Lösung Ammoniak in für die Wurzelzellen unerwünscht großen Mengen in diese eindringt, und daß die Kohlehydratvorräte in den Wurzeln nicht ausreichen, um alles eingedrungene Ammoniak direkt über Aminosäuren in Eiweißsubstanzen zu überführen. Die sich nach einigen Tagen einstellenden Wurzelschäden müssen dadurch bedingt sein, daß auch die letzten Reserven zur Entgiftung des Ammoniaks verbraucht sind. In den Sprossen kehren mit fortschreitender Entfernung von den resorbierenden Wurzelteilen langsam normalere N-Verhältnisse wieder. Besonders auffällig ist der starke Abfall des Gehaltes an präformiertem Ammoniak. Es dürfte jetzt auch verständlich werden, warum bei Ammoniakvergiftung die Sprosse auch dann noch nicht die geringsten Schäden erkennen lassen, wenn schon ganze Wurzelteile der Zerstörung anheimgefallen sind.

2. Zu den folgenden Versuchsreihen, die mit gleichaltrigen und ebenso vorbehandelten Maispflanzen wie bei den vorhergehenden Versuchen angestellt wurden, kamen vollständige Nährlösungen zur Anwendung. Am 7. VII. 1928 wurden die Versuchspflanzen in die Nährlösung überführt, die im Liter Wasser folgende Nährsalzmengen führten: 750 mg NH_4NO_3 ,

500 mg MgSO_4 , 500 mg KCl , 300 mg $\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2 + \text{CaHPO}_4$. Damit der p_H -Wert nicht so schnellen Änderungen ausgesetzt war, wurde an Stelle des stark physiologisch sauren Ammoniumsulfates das schwächer physiologisch saure Ammoniumnitrat gewählt. Es wurden zwei Versuchsreihen angesetzt von je 6×4 Pflanzen. Am 20. VII. wurden alle Lösungen erneuert.

a) *Reihe mit p_H -Anfangswert 4,0.* Die Wasserstoffionenkonzentration stieg langsam an. Als der Versuch am 2. VIII. 1928 abgebrochen wurde, war der p_H -Wert auf 3,2—3,1 gefallen. Das Wurzelwachstum war anfangs gut. Lange, dünne Haupt- und Nebenwurzeln wurden gebildet. Gegen Ende des Versuches ließ das Wachstum stark nach, und an den Wurzelspitzen traten typische Säureschäden auf. Letzteres war aber noch nicht der Fall, als die Wurzeln am 27. VII. analysiert wurden. Auch das Sproßwachstum war gut. Die Blätter waren auffallend dunkelgrün gefärbt. Kurz vor Abbruch der Untersuchungen traten an einigen Blattspitzen die schon in der ersten Arbeit beschriebenen „Säureschäden“ auf. An diesen Stellen ließ der Turgor in den Zellen nach, die Blattspitzen schrumpften zusammen und die Gewebepartien starben ab. Wurden die noch nicht ausgerollten, jüngsten Blätter befallen, so gelang es diesen nicht mehr, sich zu entfalten, und langsam faulten sodann die Endknospen ab.

b) *Reihe mit p_H -Anfangswert 5,7.* Am Ende des Versuches betrug der p_H -Wert, der gleichfalls ständig langsam gesunken war, 5,0—5,1. Das Wurzel- und Sproßwachstum war sehr gut. Schäden oder leichte Chlorose wurden niemals festgestellt. Am Ende des Versuches waren die Pflanzen dieser Reihe erheblich kräftiger als die der vorhergehenden. Es war dieses ja auch zu erwarten gewesen, da die Reaktion der Nährlösung für diesen Mais, dessen p_H -Optimum bei etwa 5,5 liegt, eine ganz besonders günstige gewesen sein muß. Die Wurzeln waren schneeweiß und erheblich kräftiger als die der Pflanzen, die in dem stark sauren Medium gezogen worden waren. Irgendwelche Wachstumshemmungen wurden niemals an den Wurzeln beobachtet.

Am 2. VIII. 1928 wurden von allen Kulturen Wurzelpreßsäfte hergestellt und deren p_H -Wert bestimmt. Die Werte für die verschiedenen N-Fractionen bei den beiden Kulturreihen gibt die Tabelle 6 wieder. Zum Vergleich sind auch noch Analysenwerte, die an den Ausgangspflanzen gewonnen wurden, beigelegt.

Trotz der sehr großen Gaben von anorganisch gebundenem N zeigen die Wurzeln beider Versuchsreihen im Vergleich zu den vorhergehenden Versuchen mit $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ als N-Quelle einen wesentlich geringeren Gehalt an Gesamtstickstoff, ja dieser ist sogar noch geringer als bei den Wurzeln der Nitratkulturen. Diese Verminderung des Gesamtstickstoffs fällt nur zu einem kleinen Teil auf den Eiweißstickstoff. In erster Linie ist sie eine Folge des niedrigen Betrages für den löslichen Stickstoff. Besonders ins Auge fallend ist die geringe Menge präformierten Ammoniaks und Asparagins. Diese beiden N-Fractionen erreichen, wie auch nach unserer Hypothese erwartet werden mußte, in den Wurzeln der Pflanzen, die in dem stark sauren Medium gezogen sind, ihre niedrigsten Werte. Wie gering bei diesen Pflanzen der aufge-

Tabelle 6.

Nährmedium	Analysierter Pflanzenteil	Analyse begonnen am	Gesamt-N	Eiweiß-N	Löslicher N	Ammonium-N	Doppelter Amid-N	Amino-N	Durchschnittlicher Pr-Wert des Wurzelpreßsaftes am 2. VIII. 1928
Leitungswasser	Wurzeln	4. VII.	0,173 100	0,125 72,3	0,048 27,7	0,0036 2,08	0,012 6,93	0,032 18,7	5,32
	Die ältesten Blätter	4. VII.	0,243 100	0,220 90,5	0,023 9,5	0,0021 0,86	0,0080 3,29	0,013 5,3	
	Die jüngsten Blätter	23. VII.	0,195 100	0,176 90,2	0,019 9,8	0,0013 0,66	0,0034 1,74	0,014 7,40	
Vollständige Nährlösung. Pr-Anfangswert 4,0	Wurzeln	27. VII.	0,212 100	0,153 72,2	0,059 27,8	0,0059 2,78	0,014 6,60	0,039 18,4	5,60
	Die ältesten Blätter	27. VII.	0,307 100	0,279 90,9	0,028 9,10	0,0021 0,68	0,0054 1,43	0,020 7,00	
	Mittelstücke aus gewachsener junger Blätter	27. VII.	0,471 100	0,351 74,3	0,120 25,7	0,0093 1,97	0,036 7,64	0,075 16,1	
	Die jüngsten Blätter ¹	30. VII.	0,440 100	0,351 79,8	0,089 20,2	0,0048 1,19	0,028 6,91	0,036 12,1	
Vollständige Nährlösung. Pr-Anfangswert 5,7	Wurzeln	31. VII.	0,212 100	0,137 64,6	0,075 35,4	0,0093 4,39	0,026 12,3	0,040 18,7	5,58
	Die ältesten Blätter	2. VIII.	0,349 100	0,320 91,7	0,029 8,3	0,0010 0,29	0,0030 0,86	0,025 7,1	
	Mittelstücke aus gewachsener junger Blätter	2. VIII.	0,395 100	0,332 80,8	0,063 19,2	0,0019 0,48	0,022 5,57	0,039 13,1	
	Die jüngsten Blätter ¹	2. VIII.	0,405 100	0,319 78,8	0,086 21,2	0,0027 0,67	0,034 8,39	0,049 12,1	

¹ Die Blätter waren noch eingerollt. Sehr wahrscheinlich ist der Gesamt-N-Gehalt noch größer als angegeben, da die eingerollten Blätter immer Guttationswasser festhalten, das ohne Zerstörung der Blätter nicht entfernt werden kann. Aus diesem Grunde muß das Frischgewicht zu hoch ausgefallen sein.

nommene gebundene Stickstoff gewesen sein muß, das geht auch aus einem Vergleich mit den Ausgangspflanzen hervor. Die Menge aller N-Fractionen hat zwar unter dem Einfluß des Ammoniumnitrates eine deutliche Steigerung erfahren; der Eiweißstickstoff ist z. B. von 0,125% auf 0,153% gestiegen. Da aber das Verhältnis fast aller N-Fractionen zueinander eine geradezu auffallende Übereinstimmung mit dem des Ausgangsmaterials zeigt, so muß daraus geschlossen werden, daß das Verhältnis N:C in der Wurzel dauernd seinen ursprünglichen Wert beibehalten hat. Bei den Pflanzen, die bei den höheren p_H -Werten aufgewachsen sind, muß, wie die relativen Werte der verschiedenen N-Fractionen zeigen, eine leichte Verschiebung zugunsten des Stickstoffs erfolgt sein. Es hat wahrscheinlich infolge der etwas größeren NH_3 -Tension der Nährlösung ein stärkeres Eindringen von Ammoniak stattgefunden, ohne daß eine entsprechend stärkere Zufuhr an Kohlehydraten erfolgt ist.

Bei den in den schwach sauren Lösungen gezogenen Pflanzen nimmt der Eiweißstickstoff in den Blättern mit abnehmendem Alter ständig ab, wenn wir die Gesamtstickstoffmenge als Bezugsgröße wählen. Umgekehrt erfahren NH_4 -N, Amino-N und besonders der Asparaginstickstoff eine ständige Zunahme. Letzterer erreicht in den jüngsten Blättern, gleichgültig, welche Bezugsgröße wir wählen, einen etwa 10mal so großen Wert wie in den ältesten Blättern. Dieser hohe Gehalt an löslichen N-Verbindungen, besonders an dem „Reservestoff“ Asparagin, dürfte sich leicht daraus erklären, daß die jungen noch nicht vollständig ausgewachsenen Blätter Stellen größten N-Bedarfes darstellen. Hinzu kommt noch, daß sie auch die Stellen stärkster Transpiration sind. Nicht ganz so gesetzmäßig liegen die Verhältnisse bei den Pflanzen, die in den stark sauren Lösungen gezogen worden sind. Hier haben sich, wenn die Gesamtstickstoffmenge als Bezugsgröße gewählt wird, die Verhältnisse zwischen den jüngsten und den etwas älteren Blättern umgekehrt. Es wäre sehr wohl denkbar, daß hier eine Abnormalität vorliegt, die in ursächlichem Zusammenhange steht mit dem starken Aziditätsanstieg und den niedrigem p_H -Wert in der Nährlösung; denn mit dieser Möglichkeit muß um so mehr gerechnet werden, als an einigen Blattspitzen schon die „Säureschäden“ auftraten. Auch der relativ große Gehalt an NH_4 -N in dem Mittelstück der ausgewachsenen jungen Blätter kann vielleicht hiermit in ursächlichem Zusammenhang stehen.

Weiterhin geht auch noch aus unserer Tabelle hervor, daß in den ältesten Blättern, im Gegensatz zu denen im vorhergehenden Versuche, noch eine erhebliche Eiweißsynthese stattgefunden hat. Worauf kann dieser Unterschied wohl zurückgeführt werden? Bei den früheren Versuchen waren die jungen und jüngsten Blätter mittelstark bis stark chlorotisch, so daß für die Versorgung der ganzen Pflanze mit gebundenem Kohlenstoff fast nur die ältesten Blätter in Betracht kamen,

während, wie der sehr hohe Gehalt an Asparagin in den Wurzeln und in den jüngsten Blättern zeigt, in diesen Organen ein ausgesprochenes Defizit an gebundenem Kohlenstoff herrscht. Dieses mußte sehr wahrscheinlich eine schnelle Entleerung der älteren Blätter, den einzigsten Stellen starker C-Assimilation, an Kohlehydraten zur Folge haben. Es übten gewissermaßen alle übrigen Pflanzenteile eine saugende Wirkung auf die ältesten Blätter aus, so daß es dort gar nicht mehr infolge eines gewissen Kohlehydratmangels zu einer Eiweißbildung kommen konnte. Anders liegen natürlich die Verhältnisse, wenn alle Blätter zur normalen C-Assimilation befähigt sind und allein die Wurzeln als Nur-Kohlenstoffverbrauchsstellen in Betracht kommen, wie es bei den vorliegenden Versuchen der Fall gewesen ist. Jetzt ist in den älteren Blättern, da der gebundene Kohlenstoff nicht so schnell ihnen entzogen wird, auch eine stärkere Eiweißsynthese möglich. Zum Schluß sei allerdings auch noch darauf aufmerksam gemacht, daß bei den ersten Versuchen keine vollständigen Nährlösungen den Pflanzen dargeboten wurden. Es ist daher der Einwand nicht einfach von der Hand zu weisen, daß das Fehlen irgend eines Stoffes die Ursache für das Fehlen einer Eiweiß-N-Zunahme in den ältesten Blättern gewesen ist. Die in N-freiem Medium gezogenen Wurzeln lieferten auch hier wieder die sauersten Wurzelpreßsäfte.

Unsere zweite Versuchsreihe hat also gezeigt, daß bei kleinen p_H -Werten der Nährlösung trotz der Gegenwart großer NH_4 -Salzmengen die N-Aufnahme relativ sehr schwach sein muß; denn präformiertes Ammoniak und Asparagin kommen in normalen Mengen vor. Diese sind in den Wurzeln um so kleiner, je größer die Azidität der Lösung ist.

Da die beiden vorhergehenden Gruppen von Versuchen nicht direkt miteinander zu vergleichen sind — in einem Falle wurde eine unvollständige Nährlösung benutzt —, so wurde eine dritte Reihe von Versuchen angesetzt. Es sollte dadurch der Einwand entkräftet werden, daß in den Wurzeln der bei neutraler Reaktion und in Gegenwart von $(NH_4)_2SO_4$ gezogenen Pflanzen nur deshalb so große Mengen von Ammon-N und Amid-N angetroffen wurden, weil in der Nährlösung wichtige Nährstoffe, besonders Phosphorsäure fehlten und dadurch eine Weiterverarbeitung der beiden N-Fractionen unterbunden wurde. Es wäre nur durch die Anreicherung von Zwischenprodukten ein starkes Eindringen von Ammoniak vorgetäuscht worden.

3. Zu diesen Versuchen wurden vollständige Nährlösungen von gleicher Zusammensetzung wie bei den vorhergehenden Versuchsreihen benutzt. Pro Liter Nährlösung wurden 750 mg NH_4NO_3 oder 1575 mg $NaNO_3$ gegeben. Zu jedem Versuch wurden 6×4 Pflanzen benutzt. Am 4. IX. 1928 kamen die Maispflanzen in die Versuchslösungen. Nach Abbruch des Versuches wurde auch das prozentuale Trockengewicht der Sprosse bestimmt. Zu diesem Zwecke wurde am Ende des Versuches

zunächst das Sproßfrischgewicht aller Pflanzen ermittelt. Sodann ließen wir sie 20 Tage lang an der Luft trocknen und noch 30 Minuten lang bei 100° nachtrocknen.

a) 750 mg NH_4NO_3 + 500 mg $CaCO_3$, p_H -Anfangswert 7,0—7,1. Der Wasserstoffexponent pendelte während der ganzen Versuchsdauer zwischen 6,9 und 7,1. Die Pflanzen zeigten die schon in der ersten Arbeit beschriebenen Ausfallerscheinungen: mittelstarke Chlorose der jüngsten Blätter, die aber gegen Ende des Versuches erheblich zurückgegangen war, Hemmung des Wurzel- und des Sproßwachstums. Die Wurzeln blieben relativ kurz, nahmen aber erheblich, besonders an den jüngeren Teilen, an Dicke zu. Nach einigen Tagen trat eine Graugelbfärbung der Wurzeln auf, kurz darauf starben ganze Wurzelteile ab. Auffällig war es weiterhin, daß beim Zerreiben der Wurzeln zur Preßsaftgewinnung diese sich als außerordentlich spröde und zerbrechlich erwiesen. Die in einem N-freien Medium gezogenen Wurzeln waren sehr viel fester und zäher. Die Wurzelpreßsäfte der Ammon-Pflanzen lieferten folgende p_H -Werte: 5,75, 5,75, 5,73, 5,73, 5,73, 5,73.

b) 1575 mg $NaNO_3$ + 500 mg $CaCO_3$, p_H -Anfangswert 7,0—7,1. Der Wasserstoffexponent stieg langsam bis auf 7,3. Das Sproßwachstum war sehr gut. Zu Beginn des Versuches stellte sich eine leichte Chlorose ein, die aber nach wenigen Tagen überwunden war. Am Ende des Versuches waren alle Pflanzen kräftig grün gefärbt. Auch das Wurzelwachstum war gut, allerdings waren die Wurzeln kürzer und etwas dicker als in den entsprechenden sauren Lösungen. Wurzelschäden traten niemals auf. Die Wurzelpreßsäfte lieferten folgende p_H -Werte: 5,71, 5,73, 5,77, 5,75, 5,78, 5,80, die Wurzeln waren weniger spröde als bei a.

c) 750 mg NH_4NO_3 , p_H -Anfangswert 5,5. Der Wasserstoffexponent fiel während des Versuches langsam bis auf 5,1—5,0. Das Sproß- und Wurzelwachstum war ausgezeichnet. Die Blätter waren saftig grün, die Haupt- und Nebenwurzeln schneeweiß und sehr lang. Es wurden nicht die geringsten Schäden beobachtet. Die Pflanzen waren bei weitem die kräftigsten der ganzen NH_4NO_3 -Reihe. Die Wurzeln waren sehr spröde und zerbrechlich. Der p_H -Wert der Wurzelpreßsäfte betrug 5,56, 5,56, 5,52, 5,52, 5,54, 5,56. Das Frischgewicht der Sprosse verhielt sich zu demjenigen der bei neutraler Reaktion gezogenen Ammonpflanzen wie 160 : 104.

d) 1575 mg $NaNO_3$, p_H -Anfangswert 5,5. Der Wasserstoffexponent stieg in wenigen Tagen bis auf 6,5. Er wurde dann aber immer durch Schwefelsäure auf seinen ursprünglichen Wert zurückgebracht. Dieser ständige, starke p_H -Wechsel zeigte sich auch etwas im Wachstum der Pflanzen. Die Wurzelentwicklung war allerdings ausgezeichnet. Die Wurzeln waren lang und schneeweiß. Auch die Sprosse waren kräftig und dunkelgrün gefärbt. Im Vergleich zu den Nitratkulturen, die bei neutraler Reaktion gezogen wurden, hätte aber nach allen unseren früheren Beobachtungen die Entwicklung der Pflanzen eine noch kräftigere sein müssen. Die Wurzeln waren erheblich fester als die der entsprechenden NH_4NO_3 -Kulturen. Die Wurzelpreßsäfte lieferten folgende p_H -Werte: 5,68, 5,68, 5,68, 5,68, 5,68, 5,73.

e) 750 mg NH_4NO_3 , p_H -Anfangswert 4,1. Die in den Kulturen erfolgenden Aziditätsanstiege gibt die Tabelle 7 wieder.

Das Wachstum der Sprosse war zunächst sehr gut. Die Blätter waren tief dunkelgrün gefärbt, sie waren aber auffallend schmal. Langsam blieben die Pflanzen stark hinter den entsprechenden in den schwächer sauren Lösungen zurück. Am Ende des Versuches verhielten sich die Frischgewichte wie 93 : 160, auch zeigten sich an einigen Blattspitzen leichte Säureschäden. Das Wurzelwachstum war anfangs ebenfalls recht gut. Bald ließ es aber infolge des Aziditätsanstieges

Tabelle 7.

p _H -Wert am:	10. IX.	16. IX.	26. IX.	28. IX.
Kultur 1	3,8	3,5	3,3	3,2
Kultur 2	3,7	3,4	3,2	3,1
Kultur 3	3,8	3,4	3,3	3,2
Kultur 4	3,6	3,4	3,2	3,1
Kultur 5	3,7	3,4	3,2	3,1
Kultur 6	3,7	3,4	3,2	3,1

stark nach. Am Ende des Versuches waren die meisten Wurzeln auffallend lang und dünn. Die Hauptwurzeln ähnelten sehr stark denjenigen, die in einem N-freien Nährmedium ausgebildet werden. An den Wurzelspitzen waren am Ende des Versuches die Schleimtropfen verschwunden. Es deutet dieses auf beginnende Wurzelspitzenchäden hin, die durch die zu starke Azidität der Lösung hervorgerufen worden sind. Zerstörungen der Wurzelspitzen wurden aber nicht beobachtet. Die Wurzelpreßsäfte lieferten folgende p_H-Werte: 5,30, 5,30, 5,30, 5,35, 5,35, 5,37.

f) 1575 mg NaNO₃, Anfangs-p_H-Wert 4,5. Der Wasserstoffexponent stieg in 5—7 Tagen auf 5,5. Er wurde dann aber immer wieder auf seinen ursprünglichen Wert zurückgebracht. Das Sproß- und Wurzelwachstum war ganz ausgezeichnet. Die Wurzelpreßsäfte lieferten folgende p_H-Werte: 5,44, 5,44, 5,46, 5,47, 5,47 5,47.

g) 750 mg (NH₄)₂SO₄ + 500 mg CaCO₃, Anfangs-p_H-Wert 7,0—7,1. Anfangs sehr starke Chlorose der jüngsten Sproßteile, die noch deutlich am Ende des Versuches zu erkennen ist. Das Sproßwachstum war etwa dasselbe wie bei a. Die Wurzeln waren durch das Ammoniumsulfat sehr stark geschädigt worden. Am 28. IX. waren derartig große Wurzelstücke abgestorben und verfault, daß es nicht mehr möglich war, den p_H-Wert der Wurzelpreßsäfte zu bestimmen und Analysen von den Wurzeln auszuführen. Die Steigerung der Schäden im Vergleich zu a muß auf den größeren Gehalt der Lösung an NH₄-Ionen zurückgeführt werden; denn damit muß natürlich bei gleicher Reaktion die NH₃-Tension zugenommen haben.

Die Tabelle 8 gibt die Analysenergebnisse wieder.

Auch diese Tabelle zeigt, daß die Wurzeln der NH₄-Pflanzen bei p_H 7,0 einen ganz anormal hohen Gehalt an Gesamtstickstoff besitzen, der in erster Linie durch die großen Mengen von präformiertem Ammoniak und Asparagin hervorgerufen wird. Die Werte für diese beiden Fraktionen sind noch erheblich größer als bei den entsprechenden Versuchen der Tabelle 3. Das Verhältnis Eiweiß-N : löslichem N hat allerdings keine Veränderung erfahren. Also auch in einer vollständigen Nährlösung findet bei neutraler Reaktion aus einer NH₄-Salzlösung eine ganz außerordentlich starke Stickstoff-Aufnahme statt, die durch die große NH₃-Tension in dieser Lösung bedingt ist. Wie stark dieses Eindringen von NH₄-N in die pflanzlichen Wurzeln gewesen sein muß, das zeigt auch das Verhältnis Eiweiß-N : löslichem N. In normalen Wurzeln trifft man meistens das Verhältnis 7 : 3 an. In unserem Falle hat eine vollständige Umkehrung stattgefunden. Das Verhältnis hat den Wert 3,5 : 6,5 ange-

Tabelle 8.

N-Quellen	Analysierter Pflanzenteil	pH-Anfangswert	Analyse begonnen am	Gesamt-N	Eiweiß-N	Löslicher N	Ammon-N	Doppelter Amid-N	Amino-N	Relatives Trockengewicht der Sprosse in %	Durchschnittl. pH-Wert des Wurzepreßsaftes	
NH ₄ NO ₃	Wurzeln	7,0	22. IX.	0,533 100	0,195 36,6	0,338 63,4	0,055 10,3	0,216 40,5	0,067 12,6	8,94	5,74	
			26. IX.	0,694 100	0,241 34,7	0,453 65,3	0,063 9,08	0,282 40,6	0,108 15,6			
		22. IX.	0,215 100	0,142 66,0	0,073 34,0	0,0055 2,56	0,019 8,84	0,048 22,6				
		27. IX.	0,228 100	0,156 68,4	0,072 31,6	0,0056 2,46	0,028 12,3	0,038 12,8				
	Blätter	4,1	25. IX.	0,206 100	0,130 63,1	0,076 36,9	0,0096 4,66	0,030 14,6	0,036 17,6	5,54		
			27. IX.	0,203 100	0,124 61,1	0,079 38,9	0,0070 3,45	0,022 10,8	0,050 24,6			
		5,5	1. X.	0,183 100	0,106 57,9	0,077 42,1	0,0052 2,84	0,012 6,56	0,060 32,7		8,81	5,76
			2. X.	0,156 100	0,105 67,3	0,051 32,7	0,0031 1,99	0,0086 5,51	0,039 25,2		7,70	5,69
NH ₄ NO ₃	Junge ausgewachsene Blätter	4,5	2. X.	0,159 100	0,107 67,3	0,052 32,7	0,0030 1,89	0,0096 6,04	0,039 24,8	8,12	5,46	
			28. IX.	0,507 100	0,343 67,7	0,164 32,3	0,0031 0,61	0,096 18,9	0,065 12,8			
	Junge ausgewachsene Blätter	7,0	4. X.	0,470 100	0,437 93,0	0,033 7,00	0,0020 0,43	0,012 2,55	0,019 4,00			
			4. X.	0,429 100	0,391 91,1	0,038 8,90	0,0014 0,33	0,010 2,33	0,027 6,24			

nommen. Auch in den jungen ausgewachsenen Blättern klingt dieser Überfluß an N-Verbindungen noch nach. Das Verhältnis von Eiweiß-N: löslichem N, welches durchschnittlich bei normaler N-Versorgung mit Alkalinitraten in *ausgewachsenen, jugendlichen, grünen* Blättern zwischen 9:1 und 8:2 schwankt — je nach dem Alter —, hat in vorliegendem Falle erst den Wert 7 : 3 erreicht. Über dem Normalwert liegen auch die Zahlen für Asparagin-N und Amino-N.

Mit fallendem p_H -Wert der Nährlösung nimmt bei den NH_4 -Pflanzen der Gesamtstickstoff der Wurzeln stark ab, um bei p_H 4,1—3,1 seinen kleinsten Wert zu erreichen. Auch das Verhältnis Eiweiß-N: löslichem N nähert sich sehr stark dem Normalwert. Von den Wurzeln der entsprechenden Nitratpflanzen unterscheiden sich die der Ammonpflanzen nur noch durch den etwas höheren Gehalt an Gesamt-, Eiweiß-, Asparagin- und NH_4 -Stickstoff. Zu einem bestimmten Teil muß dieser Unterschied, abgesehen von einer schwächeren N-Versorgung, auch darauf zurückgeführt werden, daß die Wurzeln der Nitratpflanzen, die erst am 2. X. geerntet wurden, also fast 7 Tage später als die der NH_4 -Pflanzen, noch stark weitergewachsen sind. Starkes Wachstum muß aber bei schwacher N-Aufnahme zu einer Senkung des „N-Niveaus“ führen.

Etwas eingehender ist noch auf die Unterschiede der löslichen N-Fractionen in den Wurzeln der NH_4 -Pflanzen bei p_H 5,5 und p_H 4,1 einzugehen. Nach unseren bisherigen Erfahrungen — siehe Tabelle 6 — und in Übereinstimmung mit unserer bisherigen Arbeitshypothese wäre zu erwarten gewesen, daß man bei den löslichen Fractionen dieser Reihen gerade umgekehrte Verhältnisse erhielte, also bei den niedrigsten p_H -Werten auch die niedrigsten Mengen an Amid-, NH_4 - und Amino-stickstoff und weiterhin ein möglichst hohes Eiweiß-N: löslichem N-Verhältnis. Andererseits war aber auch damit zu rechnen, daß bei den hier vorliegenden Versuchen die stark sauren Kulturen etwas andere Werte liefern würden, als die im Hochsommer angestellten entsprechenden Versuche der Tabelle 6. Bei den hier vorliegenden Versuchen war zunächst die Nährlösung während des Versuches nicht erneuert und der p_H -Wert nicht auf seinen ursprünglichen Wert zurückgebracht worden. Es müssen daher die Bedingungen für das Sproß- aber besonders auch für das Wurzelwachstum bei den neuen Versuchen schlechter gewesen sein. Es kommt aber noch als weiterer ungünstiger Faktor hinzu, daß bei den neuen Versuchen, die im September und Oktober ausgeführt wurden, die Licht- und Wärmeverhältnisse viel ungünstiger waren. Der niedrige Gehalt an Gesamtstickstoff bei p_H 4,1 zeigt, daß die N-Aufnahme sehr gering gewesen sein muß. Wäre das Wachstum, besonders das der Wurzeln, nicht so stark gehemmt worden, so hätte sogar das „N-Niveau“ noch niedriger liegen müssen. Wenn aber trotzdem bei p_H 4,1 die Amid- und die NH_4 -Stickstoffmenge auf Frischgewicht bezogen, etwas größer als

bei p_H 5,5 ist, so kann das verschiedene Ursachen haben. Erstens ist bei p_H 5,5 die Sproßentwicklung sehr viel üppiger. Dadurch sind für die C-Assimilation besonders günstige Bedingungen geschaffen. Eine schnelle Weiterverarbeitung des NH_4 -N und des Asparagins beim Aufstieg in den Wurzeln ist die Folge. Das Verhältnis C : N muß sich in allen Pflanzenteilen zugunsten des Kohlenstoffs verschieben. Zweitens hat sich aber bei den Pflanzen in den stark sauren Kulturen eine ständig zunehmende Verzögerung im Wurzelwachstum eingestellt. Dadurch muß es in den Wurzeln zu einer Stauung der N-Verbindungen kommen. Die Hemmung des Wurzelwachstums muß sich aber auch noch in anderer Weise auswirken. Bei unseren Versuchen wurden zu den N-Analysen immer ganze Wurzeln benutzt. Ebenso wie die jungen Sproßteile andere N-Verhältnisse haben als die älteren, werden natürlich auch die Wurzelspitzen einen anderen N-Haushalt aufweisen als die ausgewachsenen Wurzelzonen¹. Das präformierte Ammoniak z. B. wird sicher in den resorbierenden Wurzelteilen seinen größten Wert bei Ernährung mit den NH_4 -Salzen erreichen, um dann in den älteren Wurzelstücken eine Abnahme zu erfahren, die um so größer ist, je weiter diese von den Spitzen entfernt sind. Für die Größen der verschiedenen N-Fractionen, die bei der Analysierung ganzer Wurzeln erhalten werden, muß es natürlich bestimmend sein, ob lange Wurzeln vorliegen, bei denen die resorbierenden Zonen nur einen kleinen Teil der gesamten Wurzelmasse ausmachen, oder ob kurze Wurzeln für die N-Bestimmungen benutzt werden. Aus diesen Überlegungen ergibt sich nun für unseren speziellen Fall der Schluß, daß bei den Pflanzen, die in dem stark sauren Medium gezogen sind, die in den resorbierenden Zonen herrschenden N-Verhältnisse für den Ausfall der Stickstoffanalysen der ganzen Wurzeln in stärkerem Maße mitbestimmend gewesen sein müssen als bei den Pflanzen, deren Wurzeln bei p_H 5,5 ein ganz besonders starkes Wachstum gezeigt haben. Ganz klare Verhältnisse werden wir bei allen diesen Untersuchungen in vielen Fällen überhaupt nur erhalten können, wenn wir nicht ganze Wurzeln, sondern eben nur ganz bestimmte Wurzelstücke zu den N-Analysen benutzen und die so erhaltenen Werte miteinander vergleichen. In den meisten Fällen dürften solche Untersuchungen aber an der Materialfrage scheitern. Zum Schluß wäre allerdings auch noch die Frage zu prüfen, ob nicht die Ansammlung der löslichen N-Verbindungen eine Folge des starken Aziditätsanstieges und des kleinen p_H -Endwertes ist. Da am Ende des Versuches nur bei diesen Kulturen im Verlauf von 2 Tagen Eiweiß- und Amid-N keine Zunahme erfahren haben, so wäre mit der Möglichkeit zu rechnen, daß unter dem Einfluß des starken Säuregrades der Nährlösung die synthetischen Vorgänge in den Wurzelzellen eine Hemmung erfahren haben.

¹ Versuche in dieser Richtung haben dieses auch bestätigt. Siehe Nachtrag.

Es sind von uns besondere Untersuchungen angestellt worden, um diese Frage zu prüfen. Wir werden daher im Verlaufe dieser Arbeit noch auf diese Annahme näher eingehen.

Mit einigen Worten sind auch noch die Befunde bei den Nitratpflanzen zu streifen. Die in den sauren Lösungen gezogenen Pflanzen unterscheiden sich in ihrem Stickstoffhaushalt gar nicht voneinander. Anders liegen die Verhältnisse bei den Pflanzen, die bei p_H 7,0 gehalten worden sind. Der Gesamtstickstoffgehalt hat eine deutliche Steigerung erfahren. Diese Zunahme geht aber nicht auf Konto Eiweiß-N, sondern muß den löslichen N-Fractionen zugeschrieben werden. Der Amino-stickstoff hat, absolut genommen, die größte Steigerung erfahren. Aber auch NH_4 -N und Amid-N zeigen eine Zunahme. Warum bei p_H 7,0 die Menge der löslichen N-Verbindungen höher liegt, muß dahingestellt bleiben. Es wäre möglich, daß bei dieser Reaktion die Nitrataufnahme eine stärkere gewesen ist, als bei kleineren p_H -Werten. Dagegen sprechen aber die Versuche von WARBURG-NEGELEIN (1920), HOAGLAND (1919, 1920), HOAGLAND-DAVIS (1923, 1924), KUSNETZOW (1925), THERON (1924) und KLEIN-KISSER (1925), die gerade die umgekehrten Beobachtungen machten. Wahrscheinlicher wäre schon die Annahme, daß die Weiterverarbeitung des Nitratstickstoffs bei p_H 7,0 schneller in den Pflanzen verläuft als bei saurer Reaktion. Dieses würde in Übereinstimmung mit dem größeren Gehalt an Gesamtstickstoff und mit dem relativ niedrigen Verhältnis Eiweiß-N : löslichem N stehen. Dafür würde auch weiterhin die Größe des Asparagin-N und die des NH_4 -N sprechen; denn diese sind fast ebenso groß wie in den Wurzeln der bei p_H 5,5 gezogenen Ammonpflanzen. Zum Schluß ist auch noch daran zu denken, daß die Wurzeln der Nitratpflanzen bei p_H 7,0 erheblich kürzer und dicker gewesen sind als diejenigen der bei p_H 4,5 bzw. 5,5 gezogenen NO_3 -Pflanzen. Man könnte sich sehr wohl vorstellen, daß es infolge von Wachstumshemmungen zu Stauungen in der Weiterverarbeitung der löslichen N-Verbindungen in den Wurzeln bei neutraler Reaktion des Nährmediums gekommen ist.

Keine eindeutigen Beziehungen ließen sich zwischen der N-Quelle der Nährlösung, ihrer Reaktion und dem relativen Trockengewicht der Sprosse feststellen. Die bekannte Erscheinung, daß bei langsamem Trocknen die N-Fractionen in ihren gegenseitigen Mengenverhältnissen und auch absolut genommen, eine sehr starke Änderung erfahren, konnte aber auch bei unseren Versuchen bestätigt werden¹. Die Menge des Gesamtstickstoffes hatte beim Trocknen erheblich abgenommen, und das Verhältnis Eiweiß-N : löslichem N hatte eine starke Verschiebung zugunsten des letzteren erfahren. Der Asparagin-N hatte dabei stark zu-

¹ Ähnliche Beobachtungen haben vor kurzem IWANOFF und LISCHKREWITSCH besonders bei Pilzen gemacht. (Biochem. Ztschr. 205, 329. 1929.)

kommen. Bekanntlich ist es unmöglich, durch destilliertes Wasser adsorbierte Stoffe aus den Zellwandkolloiden vollständig auszuwaschen. Die zurückgebliebenen Mengen müssen natürlich beim Zermahlen zu einer p_H -Wert-Senkung der Quetschsäfte führen. Direkt verglichen wird man daher nur solche Preßsäfte, die von Pflanzen stammen, deren Wurzeln bei etwa demselben p_H -Wert der Nährlösungen gezogen worden sind. Dieses trifft bei den hier vorliegenden Versuchsreihen nur für die bei neutraler Reaktion gezogenen Nitrat- und Ammonpflanzen zu. *Da nun letztere trotz eines fast 10mal so großen Gehaltes an präformiertem Ammoniak in ihrem Wurzelpreßsaft keine alkalische Reaktion zeigen, so können wir auch hieraus wieder den Schluß ziehen, daß die Hauptmasse des präformierten Ammoniaks in den Wurzelzellen nicht in Form von freiem Ammoniak vorliegen kann, sondern daß diese Base an Säuren gebunden sein muß.* Da auch der Wurzelhabitus bei p_H 7,0 bei den Nitratpflanzen fast der gleiche ist wie bei den Ammonpflanzen, so scheint uns der auf Seite 25 gemachte Einwand in vorliegendem Falle nicht stichhaltig zu sein.

III. Abschnitt.

Da bekanntlich die Menge der in den pflanzlichen Geweben vorhandenen Kohlehydrate von bestimmendem Einfluß für den Stickstoffumsatz ist, und da weiterhin die Größe der CO_2 -Assimilation in weitem Maße von der Stärke des Lichtes abhängt, so wurde eine weitere Gruppe von Versuchen angestellt, um durch Änderung der Intensität des Tageslichtes noch tiefere Einblicke in die NH_4 -Aufnahme und seine Weiterverarbeitung durch die Maiswurzeln zu erhalten. Zu diesem Zwecke wurde in das große Versuchsgewächshaus des Institutes ein kleines Glashaus gestellt, zu dem der Lichtzutritt durch Bekleiden mit Fettpapier überall gleichmäßig stark gehemmt worden war. Die Beleuchtungsstärke betrug in diesem Häuschen ungefähr ein Drittel derjenigen, die im Versuchsgewächshaus herrschte. Die Beleuchtungsstärken wurden in allen Fällen mit dem Luxmeter nach BECHSTEIN der Firma SCHMIDT und HAENSCH, Berlin, bestimmt. Bei dieser Versuchsanstellung war es natürlich unvermeidbar, daß sich kleine Temperaturunterschiede zwischen Gewächshaus und Glashaus einstellten. Ferner muß natürlich in letzterem die relative Feuchtigkeit eine größere gewesen sein. Die Folge davon wird eine verschieden starke Beeinflussung der Transpiration gewesen sein. Trotz dieser Fehlerquellen haben sich aber doch, wie die nächsten Versuche zeigen werden, eine Reihe von interessanten Gesetzmäßigkeiten feststellen lassen.

1. Zu den ersten Versuchen wurde wieder eine vollständige Nährlösung von gleicher Zusammensetzung wie bei den vorhergehenden Versuchen benutzt. Als N-Quelle wurde Ammoniumnitrat gegeben und

zwar 750 mg im Liter Wasser. Am 19. X. 1928 kamen die Pflanzen in die Versuchslösungen. Nach 10—14 Tagen wurden sie analysiert. Die N-Bestimmungen beschränkten sich diesmal auf die Wurzeln und auf die basalen Stengelteile.

a) p_H -Anfangswert der Nährlösung 7,0—7,1.

a) Im vollen Lichte (3 × 4 Pflanzen). Die jüngsten Teile wurden leicht chlorotisch. Das Sproßwachstum war stark gehemmt. Auch das Wachstum der Wurzeln war mäßig. Am Ende des Versuches — 8. XI. 1928 — waren alle Wurzeln stark gestaucht und große Wurzelteile erheblich geschädigt, die meisten Wurzelspitzen zerstört. Für die Analyse wurden am 29. X. 1928 nur solche Wurzeln benutzt, deren Spitzen noch lebten.

β) Im geschwächten Licht (3 × 4 Pflanzen). Das Sproßwachstum war erheblich stärker gehemmt als bei *a*. Die Chlorose der jüngsten Teile war andererseits sehr viel schwächer. Es dürfte dieses durch das sehr gehemmte Wachstum bedingt gewesen sein. Die Wurzeln hatten sich erheblich schlechter entwickelt als im vollen Licht. Auch waren die Wurzelzerstörungen am Ende des Versuches — 8. XI. 1928 — stärker als bei den Pflanzen der vorhergehenden Reihe. Bei Ausführung der N-Bestimmungen am 29. X. 1928 waren schon überhaupt keine Wurzeln mehr vorhanden, deren Spitzen nicht geschädigt waren.

b) p_H -Anfangswert der Nährlösung 5,5.

a) Im vollen Licht (3 × 4 Pflanzen). Der p_H -Wert hielt sich ziemlich konstant auf 5,5—5,6. Das Sproßwachstum war unter Berücksichtigung der Jahreszeit gut. Die Farbe der Blätter war ein kräftiges Grün. Die Wurzeln waren ziemlich lang und erheblich schlanker als im Sommer. Sie waren schneeweiß und zeigten nicht die geringsten Schäden. Sie besaßen zahlreiche, aber nicht sehr lange Nebenwurzeln.

β) Im geschwächten Licht (3 × 4 Pflanzen). Der Wasserstoffexponent verschob sich langsam nach der *alkalischen* Seite. Er betrug am Ende des Versuches etwa 6,3. Das Sproßwachstum war erheblich schwächer als vorher. Chlorose wurde nicht beobachtet. Die Wurzeln waren dicker und kürzer. Offensichtliche Schäden waren nicht vorhanden.

Die Tabelle 10 gibt die bei den Analysen gefundenen Werte wieder.

Auch bei diesen Versuchen fallen die bei p_H 7,0 gezogenen Wurzeln durch ihren außerordentlich großen Gehalt an Gesamtstickstoff sofort ins Auge. Die gefundenen Werte bleiben allerdings etwas hinter denen beim vorhergehenden Versuche zurück. Es darf aber nicht vergessen werden, daß bei dem September-Versuch die Wurzeln schon 18 Tage lang in den Versuchslösungen sich befunden hatten, bevor sie analysiert wurden. Im vorliegenden Falle ist das Verhältnis Eiweiß N : löslichem N im vollen und im schwachen Lichte fast dasselbe wie bei dem früheren Versuche. Ein erheblicher Unterschied besteht aber, wenn wir die einzelnen N-Fractionen ins Auge fassen. Besonders auffallend ist hier die Verschiebung, die das Verhältnis NH_4 -N : Amid-N erfahren hat. Im September hatte es noch den Wert 10 : 40, jetzt hingegen wird der Wert 20 : 30 erreicht. Auch wenn wir als Bezugsgröße das Frischgewicht wählen, fällt bei den neuen Versuchen die große Menge an NH_4 -N auf. Diese Um-

Tabelle 10.

D_{11} Anfangswert	Analysierter Pflanzenteil	Licht	Analyse begonnen am	Gesamt-N	Eiweiß-N	Löslicher N	Ammon-N	Doppelter Amid-N	Amino-N
7,0	Wurzeln	voll	29. X.	0,505 100	0,199 39,4	0,306 60,6	0,100 19,8	0,150 29,7	0,056 11,1
		geschwächt	29. X.	0,406 100	0,152 37,4	0,254 62,6	0,085 20,9	0,108 26,6	0,061 15,1
	Stengelbasis	voll	29. X.	0,537 100	0,219 40,8	0,318 59,2	0,029 5,42	0,238 44,3	0,051 9,50
		geschwächt	29. X.	0,584 100	0,242 41,4	0,342 58,6	0,034 5,82	0,256 43,8	0,052 9,00
5,5	Wurzeln	voll	2. XI.	0,257 100	0,147 57,2	0,110 42,8	0,025 9,73	0,022 8,56	0,063 24,5
		geschwächt	31. X.	0,237 100	0,119 50,2	0,118 49,8	0,053 22,4	0,032 13,5	0,033 13,9
	Stengelbasis	voll	2. XI.	0,242 100	0,111 45,9	0,131 54,1	0,012 4,96	0,058 24,0	0,061 25,1
		geschwächt	31. X.	0,440 100	0,236 53,6	0,204 46,4	0,019 4,32	0,130 29,5	0,055 12,6

kehrung müssen wir sicher den ungünstigen Lichtverhältnissen und der dadurch bedingten schwachen Versorgung mit Kohlehydraten zuschreiben. Diese Annahme findet noch eine weitere Bestätigung, wenn wir die Wurzeln der „Lichtpflanzen“ mit denen der „Schattenpflanzen“ vergleichen. Die Versorgung mit gebundenem Kohlenstoff ist in diesem Falle bei letzteren so schwach, daß der gesamte N-Haushalt mit Ausnahme der Amino-N-Fraktion, die fast immer die schwächsten Schwankungen zeigt, erheblich tiefer liegt. Man könnte nun allerdings aus der Tatsache, daß der Gesamtstickstoffgehalt bei den „Lichtpflanzen“ größer ist als bei den „Schattenpflanzen“, die Folgerung ziehen, daß nicht die Kohlehydratversorgung bei letzteren schlechter gewesen ist, sondern daß erstere eine sehr viel intensivere N-Aufnahme getätigt haben. Dem muß aber einmal entgegen gehalten werden, daß im schwachen Licht das Verhältnis $NH_4-N:Amid-N$ einen ganz extrem hohen Wert von 21:27 erreicht hat, eine Tatsache, die für ein starkes Defizit an gebundenem Kohlenstoff spricht. Weiterhin muß doch auch die Beobachtung, daß im schwachen Licht die Wurzelschäden schneller und stärker in Erscheinung treten als im vollen Licht, mit den übrigen Ergebnissen in Einklang gebracht werden. Für alles dieses gibt es nur eine Erklärung: *Die Wurzeln der Versuchspflanzen stehen unter einem bestimmten NH_3 -Druck, der sich nach der NH_3 -Tension der Außenlösung richtet. Um in den Zellen diesen*

*Druck herabzusetzen und den p_{H} -Wert des Zellsaftes konstant zu halten, ist die Pflanze bestrebt, das eingedrungene Ammoniak zu binden. Zum Teil wird sie dieses durch Salzbildung bewerkstelligen; dieses dürfte wohl, wie später noch wahrscheinlich gemacht werden soll, die erste Stufe der Ammoniakentgiftung darstellen. Bei genügendem Kohlehydratvorrat geht sie aber noch einen Schritt weiter und legt das Ammoniak als Asparagin fest. Erst wenn für die Bildung dieses Ammoniakentgifters keine Kohlenstoffquellen mehr zur Verfügung stehen, muß sich das freie Ammoniak in den Pflanzenzellen auswirken, und erst jetzt wird es zu einer Reaktionsveränderung im Zellsaft kommen können. Wie nun weiterhin die Versuche amerikanischer Forscher an *Nitella*- und *Valoni*azellen gezeigt haben, halten die Pflanzen diese Reaktionsveränderung nur wenige Stunden aus. Das gegenseitige Verhältnis der verschiedenen N-Fractionen in den Wurzeln der „Schattenpflanzen“ läßt aber deutlich erkennen, daß bei ihnen die Stelle, bei der alle Kohlenstoffreserven aufgebraucht sind, wenigstens in den resorbierenden Wurzelzonen früher erreicht sein muß als bei den „Lichtpflanzen“. So wird es auch verständlich, daß trotz geringeren Gehaltes an präformiertem Ammoniakstickstoff die Wurzeln der „Schattenpflanzen“ schneller und stärker geschädigt worden sind als die der Lichtpflanzen. Weiterhin können wir aber auch aus diesem Versuche ersehen, daß die relativen Werte der einzelnen N-Fractionen und ihre gegenseitigen Mengenverhältnisse sehr viel sichere Aufschlüsse über den Kohlenstoff-Stickstoffhaushalt einer Pflanze zu geben imstande sind, als die Werte, die man erhält, wenn man das Frischgewicht als Bezugsgröße wählt.*

Die ungünstigen C-Assimilationsbedingungen, die bei den vorliegenden Versuchen geherrscht haben, spiegeln sich aber auch deutlich im Stickstoffhaushalt der Wurzeln der bei p_{H} 5,5 gezogenen Pflanzen wieder. Die alte Beobachtung, daß mit fallendem p_{H} -Wert der Gesamtstickstoffgehalt abnimmt, und daß das Verhältnis Eiweiß-N : löslichem N sich zugunsten des ersteren verschiebt, findet sich auch hier wieder bestätigt. Im Vergleich zu den Hoch- und Spätsommerversuchen wird aber der hohe Wert für das Verhältnis Eiweiß-N : löslichem N nicht mehr erreicht. Weiterhin fällt auch auf, daß der Ammonstickstoff, der im Sommer 4,5% des Gesamtstickstoffes ausmachte, jetzt im vollen Licht den Wert von 9,7%, im geschwächten Licht sogar den von 22,4% erreicht. Im Spätsommer wurden derartige Werte nur in Wurzeln angetroffen, die schon eine sehr starke Ammoniakvergiftung zeigten. Hieraus könnte man vielleicht den Schluß ziehen, daß im Sommer die Empfindlichkeit der Wurzeln gegen NH_3 -Vergiftungen größer ist als im Winter. Diese Möglichkeit wird später noch eingehender geprüft. Hier soll nur darauf hingewiesen werden, daß noch eine zweite Erklärung möglich ist. Unsere Analysen, die an ganzen Wurzeln gewonnen worden sind, sagen uns nichts über die N-Verhältnisse in den einzelnen Wurzelteilen. Wenn

nun eine N-Fraktion, z. B. der $\text{NH}_4\text{-N}$, auf dem Wege von den resorbierenden Teilen zu den ältesten Wurzelzonen eine schnelle Veränderung erfährt, so muß die Analyse einen niedrigen Wert liefern, auch wenn diese Stickstoff-Fraktion in den resorbierenden Wurzelzellen in großen Mengen angetroffen wird. Gerade umgekehrte Ergebnisse werden wir erwarten dürfen, wenn die Fraktion auf dem Wege von den jüngsten zu den ältesten Wurzelzonen eine nur schwache Abnahme erfährt, also alle Zellen in den Wurzeln etwa gleiche Mengen von dieser Fraktion führen. Bei der Analyse müssen dann diese N-Verbindungen einen erheblichen Teil des Frischgewichts ausmachen, obwohl sie in den einzelnen Zellen der resorbierenden Wurzelteile in viel schwächerem Maße angetroffen werden als in dem ersten Beispiele.

Die Unterschiede der bei saurer Reaktion gezogenen Maiswurzeln der „Licht“- und „Schattenspflanzen“ in ihrem N-Haushalt werden wir nicht allein auf Konto der ungleichen Beleuchtungsverhältnisse setzen dürfen. Da im geschwächten Licht der p_H -Wert der Nährlösung sich nach der alkalischen Seite verschoben hat, so muß natürlich die NH_3 -Tension in der Lösung zugenommen haben, und ein stärkeres Eindringen von Ammoniak in die Wurzeln muß die Folge gewesen sein.

Von einem gewissen Interesse sind aber auch die Verhältnisse im N-Haushalt der untersten Sproßenden. Da die Wurzeln sehr viel wasserreicher als diese Sproßstücke sind, so müßte man eigentlich, um einen Vergleich zwischen den N-Fraktionen des Stengels und denen der Wurzeln ziehen zu können, in beiden Fällen das Trockengewicht als Bezugsgröße wählen. Dieses ist aber nicht möglich, da beim Trocknen der N-Haushalt eine starke Veränderung erfährt. Wir werden aber auch an Hand der vorliegenden Werte, die in beiden Fällen auf das Frischgewicht bezogen sind, eine Reihe von Schlüssen ziehen können, wenn wir uns dabei klarmachen, daß alle Werte, die wir für die Stengelbasis erhalten haben, im Vergleich mit den Wurzelwerten zu klein sind, und daß sie eigentlich alle noch mit einem Faktor malgenommen werden müßten, der leicht errechnet werden kann, wenn man in beiden Fällen den prozentualen Wassergehalt kennt. Leider wurde unsererseits eine derartige Bestimmung unterlassen.

Auch bei diesen Winterpflanzen treffen wir die bemerkenswerte Erscheinung, daß das in den Wurzeln noch in großen Mengen vorhanden gewesene präformierte Ammoniak in den untersten Stengelteilen schon zum größten Teil nicht mehr angetroffen wird. Asparagin und Eiweißstoffe sind an seine Stelle getreten. *Die Weiterverarbeitung fast des ganzen präformierten Ammoniaks findet also schon in den Wurzeln statt.*

Die Analyse der Stengelbasis läßt weiterhin erkennen, daß bei p_H 7,0 erheblich größere Mengen anorganisch gebundenen Stickstoffs in die Wurzeln eingedrungen sein müssen als bei p_H 5,5. Am eindeutigsten ist

das Bild bei den Pflanzen, die im vollen Licht gestanden haben. Die Menge des Gesamtstickstoffs hat im ersteren Falle mehr als eine Verdoppelung erfahren. Der Asparagin-N macht davon allein 44,3% aus. Bei p_H 5,5 treffen wir in der Stengelbasis nur noch den vierten Teil dieser Asparaginstickstoffmengen an. Auch machen sie nur noch 24% des Gesamtstickstoffs aus.

Vergleichen wir weiterhin die Verhältnisse im N-Haushalt der Stengelteile der „Licht“- und auch der „Schattenpflanzen“ mit denen der Wurzeln, so beobachten wir eine auffällige Umkehrung. Bei den im geschwächten Licht gezogenen Pflanzen ist in den Stengeln, gerade umgekehrt wie in den Wurzeln, die Menge des Gesamtstickstoffs und damit natürlich auch die der einzelnen N-Fraktionen größer als in den entsprechenden Organen der „Lichtpflanzen“. Bei p_H 5,5 ist dieser Unterschied noch auffällender als bei p_H 7,0. Wodurch ist nun diese Umkehrung bedingt? Die bei der CO_2 -Assimilation gebildeten Kohlehydrate haben in unseren Pflanzen drei Aufgaben zu erfüllen: *die Zellatmung zu unterhalten, Baumaterialien für neue Zellen zu liefern, und die Entgiftung eingedrungenen Ammoniaks zu bewirken.* Damit die Pflanzen am Leben bleiben können, müssen die zweite und die dritte Aufgabe unbedingt erfüllt werden. Nicht trifft dieses für die erste Aufgabe zu. Bei unseren „Schattenpflanzen“ ist, wie schon vorher erwähnt wurde, das Sproßwachstum ganz außerordentlich schwach gewesen. Es haben hier allem Anscheine nach keine genügenden Mengen gebundenen Kohlenstoffs mehr vorgelegen, um auch die normale Bildung neuen Gewebes zu gestatten. Da aber die Entgiftung des ständig eindringenden Ammoniaks in unseren Schattenpflanzen immer weitergegangen sein muß, ein Verbrauch der dabei gebildeten N-Verbindungen aber wegen des fast eingestellten Wachstums nur in ganz schwachem Maße erfolgen kann, so muß es in den Stengeln zu einer starken *Stauung* dieser Körper kommen, die sich sehr wahrscheinlich später auch in den Wurzeln bemerkbar machen wird, vorausgesetzt, daß diese nicht vorher an Ammoniakvergiftung zugrunde gehen. Nicht unerwähnt soll aber bleiben, daß die Stauung auch noch durch die schwächere Transpiration der „Schattenpflanzen“ sehr wahrscheinlich begünstigt worden ist.

2. Ein ähnlicher Versuch wie der vorhergehende, nur mit dem Unterschiede, daß die Nährlösungen den sechsten Teil an NH_4NO_3 führten, also 125 mg im Liter Wasser, wurde am 20. X. angesetzt. Der p_H -Wert wurde auf 7,0 eingestellt. Ein Teil der Pflanzen kam in das kleine Glashauss, der andere befand sich im vollen Licht. Nach 19 bzw. 23 Tagen wurden die Pflanzen analysiert.

Auch hier war im vollen Licht das Sproßwachstum erheblich stärker als im geschwächten. Beide Gruppen von Pflanzen zeigten leichte Chlorose, die bei den „Lichtpflanzen“ am Ende des Versuches vollständig, bei den „Schattenpflanzen“

fast vollständig verschwunden war. Die Wurzeln zeigten in der ersten Zeit sehr starke Wachstumshemmung, die aber besonders bei den „Lichtpflanzen“ am Ende des Versuches durch neuerwachendes Wachstum abgelöst wurde. Die Tabelle 11 gibt den N-Haushalt wieder.

Tabelle 11.

Analysierter Pflanzenteil	Licht	Analyse begonnen am	Gesamt-N	Eiweiß-N	Löslicher N	Ammon-N	Doppelter Amid-N	Amino-N
Wurzeln	voll	12. XI.	0,257 100	0,169 65,8	0,088 34,2	0,0053 2,06	0,016 6,23	0,067 25,9
	geschwächt	8. XI.	0,257 100	0,111 43,2	0,146 56,8	0,020 7,78	0,064 24,9	0,062 24,1
Stengelbasis	voll	8. XI.	0,260 100	0,165 63,5	0,095 36,5	0,0028 1,08	0,046 17,7	0,046 17,7
	geschwächt	12. XI.	0,433 100	0,203 46,9	0,230 53,1	0,0065 1,50	0,160 37,0	0,063 14,6

Betrachten wir zunächst einmal die Analysenergebnisse der Wurzeln. Der auch hier wieder erheblich geringere Eiweißgehalt der „Schattenpflanzen“ und der niedrige Wert des Verhältnisses Eiweiß-N : löslichem N bei ihnen zeigen ganz deutlich die durch Lichtmangel gehemmte Versorgung dieser Pflanzen mit Kohlehydraten. Der niedrige Wert der NH_4 -Fraktion und der Amid-Fraktion bei den „Lichtpflanzen“ läßt andererseits einwandfrei erkennen, daß am Ende des Versuches in der Außenlösung nur noch eine ganz geringe NH_3 -Tension geherrscht hat. Es ließ sich auch tatsächlich in der Lösung nur noch eine Spur von Ammoniak nachweisen. Mit den niedrigen Werten für den NH_4 -N und Amid-N steht auch das neu einsetzende, gute Wurzelwachstum gegen Ende des Versuches in bester Übereinstimmung.

Die Analysenergebnisse der Stengelbasis zeigen uns dieselben Gesetzmäßigkeiten wie die entsprechenden des vorhergehenden Versuches. Bei den Kulturen im geschwächten Licht beobachten wir infolge des stark gehemmten Wachstums eine starke durch Stauung hervorgerufene Ansammlung der verschiedensten N-Verbindungen. Das niedrige Verhältnis Eiweiß-N : löslichem N und der sehr große Vorrat an Asparagin lassen eindeutig die im Verhältnis zur N-Versorgung ungenügende Bildung organischer Kohlenstoffverbindungen erkennen.

3. Aus Tabelle 10 geht, wie wir gesehen haben, hervor, daß bei p_H 7,0 und 750 mg NH_4NO_3 im Liter Wasser als N-Quelle in den Wurzeln im geschwächten Licht die NH_4 -Fraktion und auch die Asparagin-Menge kleiner gewesen sind als im vollen Licht. Bei erheblich kleineren NH_4 -Salzgaben kehren sich, wie Tabelle 11 zeigt, die Verhältnisse wieder um. Wir haben auf Seite 29 eine Erklärung für dieses merkwürdige Verhalten gegeben.

Es ist angenommen worden, daß die in Gegenwart großer NH_4 -Salzgaben in den Wurzeln der „Schattenpflanzen“ vorhandenen Mengen von NH_4 - und Asparagin-N nur deshalb kleiner gewesen sind als bei den entsprechenden „Lichtpflanzen“, weil bei ersteren die zur Entgiftung des eingedrungenen Ammoniaks erforderlichen Substanzen früher erschöpft worden sind als bei letzteren. Ist diese Annahme richtig, so muß es möglich sein, wieder eine Umkehrung zu erzwingen, wenn es gelingt, auch in Gegenwart großer NH_4NO_3 -Gaben die Menge des eindringenden Ammoniaks herabzusetzen und so das Verhältnis von gebundenem Stickstoff zu gebundenem Kohlenstoff wieder etwas zugunsten des letzteren zu verschieben. Nach unserer Hypothese muß dieses durch eine Senkung des p_H -Wertes der Nährlösung möglich sein. Die folgenden Untersuchungen wurden angestellt, um die Richtigkeit dieser Überlegungen zu prüfen.

a) Zu diesem Versuche wurde eine vollständige Nährlösung benutzt, die im Liter Wasser 750 mg NH_4NO_3 führte. Der Anfangs- p_H -Wert betrug 6,1—6,2. Ein Teil der Kulturen kam wieder in das kleine Glashaus. Der Wasserstoffexponent stieg anfangs an und zwar im geschwächten Licht stärker als im vollen. Aus diesem Grunde lag bei den „Schattenpflanzen“ in der Nährlösung der p_H -Wert durchschnittlich um 0,2—0,3 Einheiten höher. Am 15. XI. 1928 kamen die Pflanzen in die Versuchslösung. Am 30. XI. 1928 wurde mit der Analysierung der Wurzeln begonnen. Die Tabelle 12 gibt die Ergebnisse dieser Untersuchungen wieder.

Tabelle 12.

Analysierter Pflanzenteil	Licht	Analyse begonnen am	Gesamt-N	Eiweiß-N	Löslicher N	Ammon-N	Doppelter Amid-N	Amino-N
Wurzeln	voll	30. XI.	0,390	0,232	0,158	0,045	0,064	0,049
			100	59,5	40,5	11,5	16,4	12,6
	geschwächt	30. XI.	0,363	0,138	0,225	0,105	0,062	0,058
			100	38,0	62,0	28,9	17,1	16,0

Die Tabelle 12 zeigt, daß der Versuch die Richtigkeit unserer Überlegungen im weitesten Maße bestätigt hat. Wir treffen hier tatsächlich bei den „Schattenpflanzen“ mehr NH_4 -N an als bei den „Lichtpflanzen“. Auch sonst geht in sehr klarer Form der große Einfluß des Lichtes auf den N-Umsatz in den Wurzeln hervor. *Das auffallend niedrige Verhältnis von Eiweiß-N : löslichem N und der anormal hohe Anteil des NH_4 -N am Gesamtstickstoff — fast ein Drittel — bei den Schattenpflanzen zeigen auch hier wieder deutlich, daß sich das Verhältnis von gebundenem Kohlenstoff zu gebundenem Stickstoff sehr viel stärker zugunsten des Stickstoffs verschoben hat als bei den im vollen Licht gezogenen Pflanzen.* Bemerkenswert ist es weiterhin auch noch, welche große Mengen von Ammoniak-N in den Pflanzen im Winter aufgestapelt werden können. Für die Richtigkeit unserer Überlegungen spricht auch ferner noch der Gehalt der Wurzeln der „Schattenpflanzen“ an Eiweiß- und Asparagin-N. *Wegen des*

Kohlehydratmangels mußte die Weiterverarbeitung des größeren Teiles des eingedrungene Ammoniaks auf der ersten Stufe der Ammoniakentgiftung stehen bleiben. Asparagin konnte nur in beschränktem Maße gebildet werden. Um dieses überhaupt zu ermöglichen, hat vielleicht, wie der niedrige Eiweißgehalt zeigt, eine Hydrolyse von Eiweißstoffen stattfinden müssen. Eine Eiweißsynthese dürfte wohl, wie die Zahlen zeigen, überhaupt nicht stattgefunden haben, wenigstens nicht in dem größten Teil der Wurzeln; denn die auf Frischgewicht berechnete Menge von Eiweiß-N liegt erheblich tiefer als bei den Ausgangspflanzen. Zum Schluß muß allerdings auch hier darauf aufmerksam gemacht werden, daß die Unterschiede im N-Haushalt der „Licht-“ und „Schattenpflanzen“ im vorliegenden Versuche nicht ganz allein auf die Unterschiede in den Beleuchtungsverhältnissen zurückgeführt werden dürfen. Zum kleinen Teile müssen sie auch der verschieden starken Reaktionsveränderung der Nährlösungen zugeschrieben werden.

b) Eine ähnliche Reihe wurde mit $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ als N-Quelle ebenfalls am 15. XI. 1928 angesetzt. Die Nährlösung enthielt 500 mg von diesem NH_4 -Salz im Liter Wasser. Der p_{H} -Wert wurde auf etwa 6,0 gehalten. Leider wurde dieser Versuch durch in den Kulturen gegen Ende des Versuches einsetzende Nitrifikation gestört. Alle unsere bisherigen Beobachtungen wurden aber auch hier wieder bestätigt. Bei den Wurzeln der „Lichtpflanzen“ betrug das Verhältnis Eiweiß-N zu löslichem N rund 60 : 40, bei denen der „Schattenpflanzen“ nur noch 50 : 50. Die Eiweiß-N-Menge war bei den „Lichtpflanzen“ stets größer, die NH_4 -N-Menge und auch die des Asparagins bei den letzteren.

4. Da im Sommer wegen des stärkeren Wachstums der Versuchspflanzen in stark sauren NH_4 -Salzlösungen wegen des schnellen Aziditätsanstieges schon nach wenigen Tagen für die Pflanzenwurzeln kritische p_{H} -Werte erreicht wurden, und daher, wie Seite 23 gezeigt wurde, die Analysenergebnisse sehr wahrscheinlich durch die Säurewirkungen beeinflusst worden sein müssen, so wurden diese Versuche zum Teil noch einmal im Februar wiederholt; denn nach unseren bisherigen Erfahrungen war damit zu rechnen, daß das schwache Wachstum, eine Folge der ungünstigen Licht- und Temperaturverhältnisse, nur eine langsame Reaktionsveränderung bewirkt und dadurch „Säureschäden“ ausgeschlossen werden können. Es kamen vollständige Nährlösungen zur Anwendung, die im Liter Wasser 500 mg NH_4NO_3 führten. Am 13. II. 1929 kamen die Pflanzen in die Versuchslösungen.

a) p_{H} -Anfangswert der Nährlösung 7,1.

a) *Im vollen Licht* (4 × 4 Pflanzen). Der Wasserstoffexponent erfuhr keine nennenswerten Schwankungen. Am Ende des Versuches betrug er in allen Kulturen 7,0. Die jüngsten Pflanzenteile zeigten starke Chlorose. Die Wurzeln waren kurz und dick. Sie waren zum Teil verfärbt und zeigten am Ende des Versuches — 21. II. 1929 — leichte Wurzelspitzenschäden. Auffällig war es, daß bei diesem Versuche die Wurzeln sich als erheblich *widerstandsfähiger erwiesen als im Sommer.*

β) *Im geschwächten Licht* (4 × 4 Pflanzen). Die jüngsten Sproßteile zeigten schwache Chlorose. Die Wurzeln waren zum Teil sehr stark geschädigt. Einige Teile waren sogar schon abgestorben. Zur Analyse wurden aber nur solche Wurzeln benutzt, bei denen nur die Spitzen sichtbare Schäden zeigten. Bei diesen Kulturen verschob sich der p_H-Wert langsam nach der alkalischen Seite. Er betrug am 16. II. 1929 etwa 7,2 und am 21. II. etwa 7,45. *Er lag also am Ende des Versuches erheblich höher als bei den Kulturen, die im vollen Licht gezogen waren.* Dieses muß natürlich bei der Bewertung der Analysenergebnisse mit berücksichtigt werden.

b) p_H-Anfangswert der Nährlösung 4,0.

α) *Im vollen Licht* (4 × 4 Pflanzen). Der Wasserstoffexponent fiel langsam. Er betrug am 16. II. 1929 etwa 3,95, am 19. II. 1929 etwa 3,8, am 20. II. etwa 3,7 und am 23. II. 1929 etwa 3,65. Die Entwicklung des Sprosses und der Wurzeln war ganz normal. Die Blätter waren tief grün gefärbt.

β) *Im geschwächten Licht* (4 × 4 Pflanzen). Der Wasserstoffexponent erfuhr überhaupt keine Änderung. Die Wurzeln waren schneeweiß, die Sprosse dunkelgrün. Die Analysenergebnisse sind nicht mit aufgeführt worden, da die Bestimmung des Eiweiß-Stickstoffs verunglückte.

Die Tabelle 13 gibt die Analysenergebnisse der beiden Reihen wieder.

Die außerordentlich große Überschwemmung der Wurzeln der Versuchspflanzen mit gebundenem Stickstoff bei p_H 7,1 geht besonders klar aus den anormal hohen Werten für den Gesamtstickstoff hervor. In welch' krassem Gegensatz dazu stehen die Wurzeln der bei p_H 4,0 gezogenen Pflanzen! Hier hat nicht allein keine Vermehrung des Gesamtstickstoffs stattgefunden, sondern sogar eine deutliche Verminderung. Für den niedrigen Wert des Verhältnisses gebundener Kohlenstoff zu gebundenem

Tabelle 13.

Pflanzenzell	Nährmedium	Licht	Analyse begonnen am	Gesamt- N	Eiweiß-N	Löslicher N	Ammon- N	Doppelter Amid-N	Amino- N
Wurzeln	Ausgangsmaterial	—	13. II. 1929	0,216 100	0,164 75,9	0,052 24,1	0,0019 0,88	0,027 12,5	0,023 10,7
	Vollständige Nähr- lösung, p _H Wert 7,1	voll	21. II. 1929	0,627 100	0,236 37,6	0,391 62,4	0,067 10,7	0,217 34,6	0,107 17,1
		geschwächt	21. II. 1929	0,552 100	0,178 32,2	0,374 67,8	0,120 21,7	0,154 27,9	0,100 18,2
	Vollständige Nähr- lösung, p _H Wert 4,0	voll	22. II. 1929	0,197 100	0,140 71,1	0,057 28,9	0,0076 1,386	0,020 10,2	0,029 14,8

Stickstoff bei p_H 7,1 sprechen zunächst der große Anteil des löslichen Stickstoffs am Gesamtstickstoff und weiterhin die Werte für die NH_4 -Fraktion und für den Asparaginstickstoff. Im geschwächten Licht tritt dieses natürlich, wie auch zu erwarten war, noch deutlicher zutage als im ungeschwächten. Hier erreicht der Ammonstickstoff den bisher noch niemals in dieser Höhe beobachteten Wert von 0,12% des Frischgewichts. Auch hat das Verhältnis Eiweiß-N : löslichem N, welches in normal mit N versorgten Maiswurzeln bekanntlich 70:30 beträgt, eine vollständige Umkehrung — 32 : 68 — erfahren.

Bei p_H 4,0 ist die N-Aufnahme so schwach gewesen, daß das Verhältnis Eiweiß-N : löslichem N fast denselben Wert behalten hat wie bei den Ausgangspflanzen. Der Gesamtstickstoff hat sogar eine deutliche Verminderung erfahren. Die Werte für NH_4 -N und Amid-N sind ganz normal. Die erhebliche Verminderung des Eiweißstickstoffs, die man, wie der eine von uns — ENGEL 1929 — gezeigt hat, sonst nur beobachtet, wenn sich die Pflanzen im absoluten N-Hunger befinden, zeigt in ganz eindeutiger Weise ebenfalls wieder, in wie schwachem Maße der NH_4 -N der Außenlösung von den Maispflanzen bei stark saurer Reaktion aufgenommen wird. Weiterhin zeigen aber auch die für die verschiedenen N-Fractionen gefundenen Werte und ganz besonders das Verhältnis Eiweiß-N zu löslichem N, daß bei den ganz entsprechenden Versuchen im Spätsommer — Tabelle 8 — der relativ niedrige Wert dieses Verhältnisses nur eine Folge des starken Aziditätsanstieges und wahrscheinlich auch des niedrigen p_H -Endwertes in den Nährlösungen gewesen sein kann. Auch bei den Wurzeln der im Schatten gezogenen Pflanzen läßt sich aus den allein vorliegenden Analysenwerten — löslicher N 0,079% des Frischgewichtes, NH_4 -N 0,013%, Asparagin-N 0,031%, Amino-N 0,035% — die infolge der großen Azidität sehr schwache N-Versorgung klar ablesen. Trotz der infolge der schlechten Lichtverhältnisse nur sehr schwachen Assimilation müssen die zu Verfügung stehenden Kohlehydrate vollständig ausgereicht haben, um eine normale Weiterverarbeitung des eingedrungenen NH_4 -N zu bewerkstelligen; dieses dürften nach unserer Ansicht eindeutig die für die löslichen N-Fractionen gefundenen Werte zeigen.

Mit einigen Worten ist auch noch auf den auffällig hohen Wert der Amino-N-Fraktion der bei p_H 7,1 gezogenen Wurzeln einzugehen. Wir möchten vermuten, daß diese Form von gebundenem N hauptsächlich ihren Sitz in den älteren Wurzelteilen gehabt hat. Die Aminosäuren dürften sich zum größten Teil nicht primär aus dem eingedrungenen NH_4 -N und verfügbaren Kohlehydraten gebildet haben, sondern durch Eiweißhydrolyse sekundär entstanden sein, um bei der Asparaginsynthese Verwendung zu finden. Sie werden daher wohl auch zu einem Teil aus dem Sproß stammen. *Die Pflanzen werden eben alle Möglichkeiten*

ausnützen, um das eingedrungene Ammoniak zu entgiften. Einen Beweis für diese Annahme müssen wir allerdings vorläufig noch schuldig bleiben.

5. Um ebenfalls zu prüfen, ob auch in stark saurer Nährlösung die Änderung der Beleuchtungsstärke einen großen Einfluß auf die NH_4 -Aufnahme und -Weiterverarbeitung hat, wurde im Januar der folgende Versuch angestellt. Benutzt wurde eine vollständige Nährlösung, die im Liter 500 mg $(NH_4)_2 SO_4$ als N-Quelle führte. Der p_H -Wert betrug zu Beginn des Versuchs, der am 9. I. 1929 zu laufen begann, 4,0. Ein Teil der Pflanzen kam wieder in das Glashaus.

Im geschwächten Licht erfolgten keine nennenswerten p_H -Wert-Veränderungen. Im Licht stieg die Azidität langsam an. Am 17. I. war der p_H -Wert 3,8 und am 22. I. 3,65—3,7 erreicht, Sprosse und Wurzeln zeigten keine Schäden. Die N-Verhältnisse gibt Tabelle 14 wieder.

Tabelle 14.

Analysierter Pflanzenteil	Licht	Analyse begonnen am	Gesamt-N	Eiweiß-N	Löslicher N	Ammon-N	Doppelter Amid-N	Amino-N
Wurzeln	— Ausgangspflanzen	9. I. 1929	0,210 100	0,141 67,1	0,069 32,9	0,0030 1,43	0,034 16,2	0,032 15,3
	voll	22. I. 1929	0,198 100	0,136 68,7	0,062 31,3	0,0059 2,98	0,013 6,57	0,043 21,7
	ge- schwächt	22. I. 1929	0,176 100	0,111 63,1	0,065 36,9	0,0035 1,99	0,022 12,5	0,039 22,4

Obwohl die Beleuchtungsverhältnisse wegen der Jahreszeit die denkbar ungünstigsten gewesen sind, und obwohl relativ große NH_4 -Salzgaben den Wurzeln geboten wurden, so finden wir doch in unseren Analysenwerten auch nicht die geringsten Anhaltspunkte für ein im Verhältnis zur Kohlenstoffversorgung irgendwie ungünstig hohes Eindringen von Ammoniak. Am deutlichsten zeigt dieses der große Wert des Verhältnisses Eiweiß-N : löslichem N — im vollen Licht fast 7 : 3. — Hieraus und weiterhin aus den niedrigen Werten für den NH_4 -N und den Asparagin-N geht eindeutig hervor, daß nur *sehr schwache* Dosen vom NH_4 -N des Außenmediums in die Wurzeln eingedrungen sind. Von besonderem Interesse sind auch noch die für den Eiweiß-N gefundenen Werte. Auf Frischgewicht berechnet hat diese Fraktion, besonders im geschwächtem Licht, eine deutliche Verminderung erfahren. Es muß in diesem Falle das Material für die wachsenden Gewebe in den Wurzeln so knapp gewesen sein, daß ein Teil der in den älteren Wurzelteilen befindlichen Eiweißstoffe hydrolysiert und zu den Meristemen hingeführt worden ist. Wir haben hier dieselbe Erscheinung vor uns, wie sie der eine von uns (ENGEL 1929) für Maispflanzen beobachtete, die sich im abso-

luten Stickstoffhunger befunden hatten. *Uns scheint gerade die vorliegende kleine Versuchsreihe ganz besonders für die Richtigkeit unserer Annahme zu sprechen, daß es die NH_3 -Tension einer NH_4 -Salzlösung ist, die darüber entscheidet, welche Mengen von NH_4 -N in eine Wurzelzelle eindringen. Es muß sich, wenn keine Weiterverarbeitung des eingedrungenen Ammoniaks in der Zelle erfolgt, also bei sehr großem Kohlenstoffdefizit und bei fehlender Weiterleitung, ein gleicher NH_3 -Druck im Außenmedium und im Zellinnern einstellen. Diese Tension muß natürlich in vorliegendem Falle bei der starken Azidität der Außenlösung außerordentlich gering sein. Je schneller nun das eingedrungene Ammoniak weiterverarbeitet wird, je günstiger also vor allen Dingen die Zufuhr organisch-gebundenen Kohlenstoffs ist, um so mehr NH_4 -N wird eindringen und zur Eiweißsynthese Verwertung finden können. Von der Menge der dabei gebildeten Aminosäuren wird es nun in erster Linie abhängen, ob hieraus allein der Bedarf der wachsenden Pflanzenteile an Eiweißsubstanzen gedeckt werden kann, oder ob sie in so kleinen Mengen vorhanden sind, daß Reserveeiweiße mobilisiert werden müssen.* Bei unseren Versuchen dürfte dieses besonders in geschwächtem Lichte der Fall gewesen sein. Der Fall, daß der Eiweißvorrat noch nachträglich eine ausgesprochene Zunahme erfährt, wird dann eintreten müssen, wenn bei schwachem Wachstum eine gleich gute Zufuhr von gebundenem Kohlenstoff und Stickstoff erfolgt. Diesen Fall haben wir, wie Tabelle 6 zeigt, schon bei der Analyse älterer Blätter kennengelernt.

Es könnte allerdings noch der Einwand erhoben werden, daß der Eiweißstickstoff deshalb in den Wurzeln der im geschwächten Licht gezogenen Pflanzen eine Verminderung erfahren hat, weil diese gezwungen waren, Aminosäuren zu bilden, um das stark eingedrungene Ammoniak unter Amidbildung zu entgiften. Die Unhaltbarkeit dieser Annahme geht aber einwandfrei aus den niedrigen Werten hervor, die für den NH_4 -N und Amid-N gefunden wurden.

IV. Abschnitt.

In der ersten Arbeit mußte die Möglichkeit offen gelassen werden, ob in stark sauren Lösungen, deren p_H -Werte für die Wurzeln der Maiswurzeln als kritisch, vielleicht sogar schon als schädlich bezeichnet werden müssen, durch die Gegenwart von NH_4 -Salzen die Wirkung der H -Ionen in einem für die Wurzeln ungünstigen Sinne beeinflußt wird. Mit unserer Arbeitshypothese scheint allerdings diese Annahme nicht in Einklang zu bringen zu sein. Alle unsere älteren Versuche sprachen aber dafür. Es wurde allerdings weiterhin damals gezeigt, daß die Schäden, die in einem solchen Falle an Sproß und Wurzeln auftreten, nichts mit Ammoniakschäden zu tun haben können, da sie ein ganz charakteristisches, von ersteren sehr wohl unterscheidbares Bild liefern. Es sei auf ein noch-

maliges Aufzählen dieser Unterschiede verzichtet und auf die erste Arbeit verwiesen.

PORT hat 1925 darauf hingewiesen, daß Ammoniumsalze in der Reihenfolge $\text{NH}_4\text{CNS} > \text{NH}_4\text{NO}_3 > \text{NH}_4\text{Cl} > (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ das Eindringen der H-Ionen in das Pflanzenplasma fördern. Hier muß natürlich neben einer spezifischen Wirkung der Anionen auch eine solche der NH_4 -Ionen auf die H-Ionen vorliegen. Sollten sich nun unsere älteren Versuche bestätigen, so brauchte dieses auch nicht im geringsten Maße gegen unsere Arbeitshypothese sprechen; denn diese besagt nur, daß die in einer Lösung eines NH_4 -Salzes befindlichen NH_3 -Moleküle schnell in die Wurzeln der höheren Pflanzen einzudringen vermögen, und daß sie dort eine Ammoniakvergiftung hervorrufen, wenn nicht die zur Entgiftung erforderlichen Kohlehydratmengen in den Geweben zur Verfügung stehen. Da nun die NH_3 -Tension einer NH_4 -Salzlösung mit steigender Azidität abnimmt, so muß natürlich auch die Gefahr einer NH_3 -Vergiftung um so geringer sein, je kleiner der p_{H} -Wert des Nährmediums ist. Daß aber außerdem alle in der Lösung befindlichen Ionen einen mehr oder weniger großen Einfluß hinsichtlich Permeierfähigkeit aufeinander ausüben, das dürfte eine heute nicht mehr bestrittene Tatsache sein. Daher kann sehr wohl mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß bei kritischen p_{H} -Werten der Außenlösung, wie das bei unseren früheren Versuchen der Fall war, die NH_4 -Ionen tatsächlich die Permeierfähigkeit der H-Ionen erhöhen. Eine Verschiebung der p_{H} -Wertwachstumsgrenzen nach der alkalischen Seite müßte in diesem Falle die Folge sein.

Die in den Jahren 1928 und 1929 angestellten Versuche ergaben nun in stark sauren Medien eine erheblich größere Widerstandsfähigkeit der Wurzeln und der Sprosse bei derselben Maisrasse wie bei den früheren Versuchen. Weiterhin konnte man bei den neuen Untersuchungen die Beobachtung machen, daß man bei diesen „Säurevergiftungen“ zwei Arten von Pflanzenschäden unterscheiden muß, die nicht immer einander zu begleiten brauchen. Die erste Form trat nur an den Blättern auf und zwar nur an den Spitzenpartien. An diesen Stellen ließ der Turgor nach, das Blattgewebe schrumpfte hier zusammen und starb ab, die übrigen Blattpartien zeigten auch nicht die geringsten sichtbaren Schäden. Das Gewebe behielt seinen normalen Turgor und seine normal-grüne Farbe bei. In einer Reihe von Fällen wurden von diesen Zerstörungen gerade die jüngsten Blätter, die noch nicht aufgerollt waren, befallen. Wurde hier nicht sofort für eine Erhöhung des p_{H} -Wertes der Nährlösung gesorgt, so starb das „Herz“ der Maispflanzen ab. Diese Sproßschäden traten meistens auf, ohne daß die Wurzeln, abgesehen von einem gehemmten Wachstum, auch nur die geringste Erkrankung erkennen ließen. Diese Form von „Säurewirkung“ wurde von uns *nur* bei

solchen Versuchen beobachtet, die im *Sommer* angestellt worden waren, also zu einer Zeit, wo das Wachstum der Versuchspflanzen ein ganz besonders intensives war und daher natürlich auch die Reaktionsveränderung, der Aziditätsanstieg, einen sehr schnellen Verlauf nahm. 1928 konnte weiterhin von uns beobachtet werden, daß dieselben Sproßschäden auch bei Pflanzen auftreten können, die in vollständigen Nährlösungen vom Anfangs- p_{H} -Wert 5,7 und End- p_{H} -Wert 3,8 sich befanden, vorausgesetzt, daß der Aziditätsanstieg sehr schnell erfolgte. Hier war also ein Aziditätsgrad am Ende des Versuches erst erreicht, der von unseren Maispflanzen, falls sie von reinem Leitungswasser aus sofort in eine Lösung von derartiger Reaktion gestellt werden, noch ohne die geringsten Schäden ertragen wird.

Aus diesen Beobachtungen dürfte hervorgehen, daß die soeben beschriebenen Schäden die Folge einer sehr schnell erfolgenden Reaktionsveränderung des Nährmediums und wohl kaum eine direkte Wirkung der großen Konzentration der H-Ionen der Außenlösung sind.

Andere Schäden beobachtet man, wenn man entweder die Versuchspflanzen in Lösungen bringt, deren Azidität größer als die für ihre Wurzeln kritische Wasserstoffionenkonzentration ist, oder wenn sich in ein NH_4 -Salz führenden Nährlösungen ein solch tiefer p_{H} -Wert unter dem Einfluß der wachsenden Pflanzen von selbst einstellt. Zunächst verschwindet der Schleimtropfen, der sich immer bei Anwendung von Wasserkulturen an den Spitzen der Maispflanzenwurzeln befindet, solange sie noch normales Wachstum zeigen. Später schnurren die Streckungszonen zusammen und werden glasig. Steigt die Azidität nicht weiter an, so werden meistens die älteren Wurzelteile nicht angegriffen. Im anderen Falle greift das Verglasen auch auf diese über. Werden die Wurzeln direkt in extrem saure Lösungen gebracht, so können in etwa 2—3 Tagen die ganzen Wurzeln dieser Zerstörung anheimfallen. Ganz besonders charakteristisch ist nun auch das Verhalten der Sprosse. Das Chlorophyll bleicht aus, das dunkle Grün der Blätter weicht einer viel helleren Farbe. Der Turgor läßt in allen Blättern nach, und langsam vertrocknen diese. Diese Schäden an Sproß und Wurzeln erhält man auch, wie der eine von uns (MEVIUS 1927) zeigen konnte, wenn man mit extrem sauren Lösungen arbeitet, die überhaupt keine N-Quellen führen. Es liegen hier also *echte Säureschäden* vor.

Ein Vergleich unserer neuen Versuche mit denen aus den Jahren 1926 und 1927 ergab nun, daß die typischen Wurzelschäden im letzteren Falle sehr viel schneller auftraten als im ersteren. Der Grund hierfür war der verschieden schnell erfolgende Aziditätsanstieg. In dem Leitungswasser, das zu den neuen Untersuchungen benutzt wurde, war die Pufferung größer als in den Nährlösungen der älteren Versuche, die mit destilliertem Wasser angesetzt waren. Als noch sehr viel widerstandsfähiger erwiesen

sich aber die Wurzeln der Pflanzen, die im Winter, also unter ungünstigen Wachstumsbedingungen, zu gleichen Versuchen benutzt wurden. Allerdings erfolgte auch hier der p_H -Abfall sehr viel langsamer als bei den Sommersversuchen, so daß sich hieraus schon vielleicht die größere Widerstandsfähigkeit erklären ließe. Aber der Vergleich zwischen den Sommer- und Winterversuchen und denen, die der eine von uns (MEVIUS) mit N-freien Nährmedien in den Jahren 1926, 1927 angestellt hatte, ergab doch noch eine andere merkwürdige Tatsache. Maispflanzen, die bei neutraler Reaktion in Leitungswasser gezogen worden waren, zeigten die typischen Wurzelschäden, wenn sie in eine Nährlösung von p_H 3,5 überführt wurden. Wurden sie in Lösungen gestellt, deren Anfangs- p_H -Wert etwa 3,9—4,0 betrug und die NH_4NO_3 oder $(NH_4)_2SO_4$ als N-Quellen führten, so traten dieselben Schäden erst bei um so kleineren p_H -Werten auf, je langsamer der Aziditätsanstieg erfolgte. Im Winter wurden daher von denselben Maispflanzen noch p_H -Werte bis einschließlich 2,9 ohne Schäden ertragen. Erst bei p_H 2,8 und tiefer traten diese auf. Es ging aus alle den Versuchen, die mit dem gleichen Saatgut angestellt wurden, hervor, daß es eine konstante Aziditätsgrenze auch in vollständigen Nährlösungen für das Wurzelwachstum nicht gibt. Die Wurzeln können auch an solche Aziditätsgrade gewöhnt werden, die im allgemeinen die Wurzelspitzen in kurzer Zeit zum Absterben bringen. Dieses ist der Fall, wenn man den extremen Säuregraden solche Wurzeln aussetzt, die bisher in einem Nährmedium von höheren p_H -Werten sich befunden haben. Die Aziditätsgrenze kann um so mehr verschoben werden, je langsamer der p_H -Wert fällt. Die Gewöhnung der Pflanzen an sonst schädliche Säuregrade erstreckt sich nur auf solche Wurzeln und Wurzelteile, die in der Lösung den Aziditätsanstieg selbst mit durchgemacht haben. Werden neue Wurzeln über der Wasseroberfläche gebildet, so besitzen sie diese erworbene Widerstandsfähigkeit nicht. Während die alten Wurzeln in solchen Lösungen auch noch nicht die geringsten Schäden erkennen lassen, schnurren die Streckungszonen der ersteren zusammen, sobald sie die Wasserschicht erreicht haben und nur wenige Stunden damit in Berührung geblieben sind.

Ferner konnte aus allen unseren neuen Versuchen geschlossen werden, daß bei gleichbleibendem p_H -Wert durch die Gegenwart von NH_4 -Salzen die schädliche Aziditätsgrenze nicht nach der alkalischen Seite verschoben wird, wenigstens nicht bei Anwendung der von uns gewählten Ammoniumsalzkonzentrationen.

Die früher beobachtete Verstärkung der ungünstigen Wirkung einer kritischen H-Ionenkonzentration durch NH_4 -Salze ist nur eine scheinbare. Weil sich im Licht in Gegenwart eines NH_4 -Salzes einer starken Säure ein Aziditätsanstieg nicht vermeiden läßt, muß natürlich die schon ungünstige Wasserstoffionenkonzentration dadurch noch eine Steigerung erfahren.

Von PRIANISCHNIKOW ist bekanntlich die Beobachtung gemacht

worden, daß Keimlinge, die im Dunkeln aufgezogen worden sind, dann Ammoniak an die Außenlösung abgeben, wenn sie in stark verdünnte Salzsäure überführt werden. Am stärksten war dieses bei der Lupine der Fall, in schwächerem Maße bei der Erbse und noch viel schwächer beim Hafer. Der russische Forscher vertritt die Ansicht, daß durch die starke Azidität der Lösung die Umwandlung von stickstoffhaltigen Substanzen in den Pflanzen eine Störung erfährt, „die darin besteht, daß die Ausscheidung des Ammoniaks in das die Wurzeln umgebende Medium erfolgt, statt es in Amidgruppen umzuarbeiten“. Die Wirkung der Säure wird vollständig gleichgesetzt der Wirkung anästhesierender Substanzen. Letztere hemmen bekanntlich in der Pflanze alle synthetischen Vorgänge, unter anderem auch die Bildung von Aminosäuren und Asparagin. In der ersten Arbeit wurde von unserer Seite darauf aufmerksam gemacht, daß die Versuchsanstellung von PRIANISCHNIKOW keineswegs imstande ist, die Richtigkeit seiner Annahme zu beweisen. Da der russische Forscher seine Versuche im Dunkeln angestellt hat, muß er mit Pflanzen gearbeitet haben, die sehr reich an präformiertem Ammoniak gewesen sind. Es müssen also in den Wurzelzellen größere Mengen von NH_4 -Salzen vorhanden gewesen sein, zu denen natürlich eine bestimmte NH_3 -Tension gehört, die sich mit dem Außenmedium ins Gleichgewicht setzen muß. Weiterhin kommt aber hinzu, daß PRIANISCHNIKOW bei seinen Lupinenversuchen mit viel zu starken Aziditätsgraden gearbeitet hat. Der Anfangs- p_H -Wert betrug 2,0—2,9. Diese Werte verschoben sich allerdings nach der alkalischen Seite unter dem Einfluß des austretenden Ammoniaks. PRIANISCHNIKOW gibt aber weiterhin an, daß nach 24 Stunden der alte Wert immer wieder hergestellt wurde. Der eine von uns — MEVIUS — hat aber schon 1927 festgestellt, daß bereits bei p_H 3,5—3,6 die Wurzeln der Lupine sehr stark geschädigt werden und die Streckungszonen nach einigen Tagen zusammenschnurren. Dieselben Werte hat auch ARNDT (1926) als äußerste Wachstumsgrenze angegeben. Noch erheblich empfindlicher sind aber die Lupinenwurzeln gegen Säuren, wenn, wie es bei PRIANISCHNIKOW der Fall war, den Nährlösungen keine Ca-Salze zugesetzt werden.

Zahlreiche Untersuchungen der letzten Jahre haben nun aber einwandfrei gezeigt, daß die erste Folge eines zu stark sauren Außenmediums eine anormal erhöhte Permeabilität der Wurzelzellen ist, die zur Exosmose führt. *Es mußten also bei den vorliegenden Untersuchungen unter dem Einfluß der starken Azidität der Außenlösung die organischen NH_4 -Salze aus den Wurzelzellen austreten.* Hier in der Außenlösung setzten sie sich dann mit den starken Säuren unter Aziditätsverminderung um; daher der beobachtete p_H -Anstieg unter gleichzeitigem positiven Ausfall der NESSLERSchen Reaktion. Vielleicht haben auch noch sich in den absterbenden Zellen abspielende autolytische Vorgänge mit

zu einer NH_4 -Vermehrung im Außenmedium beigetragen. Auch bei den Erbsenversuchen ist mit zu großen Aziditätsgraden gearbeitet worden. Das geht deutlich aus der kurzen Lebensdauer der Versuchspflanzen hervor, 5—11 Tage, je nach der zur Anwendung kommenden Säuremenge. Die ersten Schäden müssen natürlich noch sehr viel früher sich geäußert haben. Obwohl also die Hypothese von PRJANISCHNIKOW auch *nicht zum geringsten Teil bewiesen ist*, so darf man natürlich andererseits nicht die Möglichkeit von der Hand weisen, daß die Pflanze auf Säurevergiftung ebenso mit Ammoniakbildung antwortet, wie das Tier, das bekanntlich auf diese Weise den p_{H} -Wert seines Blutes konstant hält. Ja, man könnte vielleicht sogar die Ergebnisse der Tabelle 8, wo bei den tiefsten p_{H} -Werten ein für saure Lösungen relativ hoher Wert für die NH_4 -Fraktion erhalten wurde, als Beweis für die Richtigkeit dieser Überlegungen anführen. Diese Möglichkeit sollte nun durch neue Versuche geprüft werden. Außerdem würde ein positiver Ausfall der Versuche auch noch dafür sprechen, daß Ammoniumsalze in extrem sauren Lösungen die ungünstige Wirkung der H-Ionen noch verstärken, da natürlich durch eine NH_4 -Zufuhr von außen bei gleichzeitiger Hemmung der Asparagin- usw. Synthesen die Gefahr einer Ammoniakvergiftung in den Zellen noch zunehmen muß.

Zu den ersten Versuchen kam eine vollständige Nährlösung zur Anwendung, die im Liter 500 mg $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ führte. Der Anfangs- p_{H} -Wert betrug 4,0. Vom 5. III. bis 18. III. 1929 befanden sich die Versuchspflanzen in Leitungswasser. Am 18. III. 1929 kamen diese Pflanzen, die sich natürlich im starken N-Hunger befanden, in die Versuchslösung.

Das Wurzel- und besonders auch das Sproßwachstum war zunächst sehr gut. Die Blätter waren dunkelgrün und die Wurzeln lang und schlank. Ihre Farbe war ein reines Weiß. Der p_{H} -Wert fiel ständig. Von etwa p_{H} 3,4 ab ließ das Wurzelwachstum sehr stark nach. Am 30. April war p_{H} 3,0 erreicht. Aber es waren noch keine Wurzelschäden zu beobachten. Auch bei p_{H} 2,9 war dieses nicht der Fall. Die Sprosse hatten sich sogar ganz besonders üppig entwickelt. Bei etwa 2,8 verschwanden die Schleimtropfen an den Wurzelspitzen, und bei p_{H} 2,7 traten an den Wurzelspitzen die typischen Schäden auf. Jetzt erst reagierten auch die Sprosse. Der Turgor ließ nach, die Farbe schlug nach grau-grün um, und langsam vertrockneten die Blätter. Die geschädigten Wurzeln hatten höchstwahrscheinlich den Wasserbedarf der Sprosse nicht mehr decken können. Am 20. April hatten dennoch alle 15 Kulturen den auffällig niedrigen Wert von p_{H} 2,4 erreicht. Bei ein und derselben Pflanze zeigten aber die Wurzeln der Wasserstoffionenkonzentration gegenüber eine sehr verschiedene Empfindlichkeit. Am stärksten waren die jüngsten Teile der längsten Wurzeln, die unten auf dem Boden des Kulturgefäßes lagen, geschädigt. Wir dürfen wohl annehmen, daß es Sauerstoffmangel gewesen ist, der diese Erhöhung der Empfindlichkeit bewirkt hat. Wie gut während des Versuches die Entwicklung der Sprosse gewesen ist, dürfte daraus hervorgehen, daß das Frischgewicht von vier Pflanzen, die 4 Wochen lang in der Nährlösung gewesen waren, ohne Wurzeln etwa 50—60 g betrug. Bei den Versuchen, die in der ersten Arbeit beschrieben worden sind, erreichte die gleiche

Zahl von Pflanzen bei gleichem p_H -Anfangswert und gleicher N-Gabe trotz günstigster Assimilationsbedingungen ein Sproßfrischgewicht von nur etwa 27 g. Der Grund hat im sehr viel schneller erfolgenden Aziditätsabfall bei den Sommerversuchen gelegen. Vielleicht hat auch noch die hohe Temperatur im Gewächshause die Säurewirkung verstärkt.

Bei unserem jetzigen Versuche wurde alle 2 Tage ein Teil der Wurzeln, die aus den verschiedensten Kulturen stammten, analysiert. Während des Wachstums nahm nun aber die Wurzellänge zunächst sehr schnell, sodann aber nur noch ganz langsam zu, um schließlich ganz zum Stillstand zu kommen. Da nun aber während des Wachstums das Verhältnis der jüngsten Teile zu den älteren Teilen eine ständige Veränderung erfährt, man aber wegen Materialmangels nicht allein die resorbierenden Wurzelteile, sondern die ganzen Wurzeln nehmen muß, so wird man bei vorliegender Versuchsreihe nicht erwarten dürfen, daß alle N-Fractionen eine ganz gesetzmäßige Änderung werden erkennen lassen. Auch muß erwähnt werden, daß zu Beginn des Versuches für eine Analyse 9 Wurzeln benötigt wurden, während gegen Ende nur noch drei Wurzeln nötig waren; die Folge ist natürlich, daß im letzteren Falle individuelle Besonderheiten mehr zum Vorschein kommen. Die Tabelle 15 gibt die Analysenergebnisse wieder.

Tabelle 15.

Analyse am	p_H -Wert an diesem Tage	Gesamt-N	Eiweiß-N	Löslicher N	Ammon-N	Doppelter Amid-N	Amino-N	Bemerkungen
18. III. 1929	—	0,211 100	0,146 69,2	0,065 30,8	0,0043 2,04	0,033 15,6	0,028 13,2	Ausgangsmaterial
18. III. 1929	3,9	0,265 100	0,162 61,1	0,103 38,9	0,0056 2,11	0,059 22,3	0,038 14,5	
22. III. 1929	3,7	0,237 100	0,164 69,2	0,073 30,8	0,0032 1,35	0,032 13,5	0,038 15,9	
25. III. 1929	3,5	0,174 100	0,132 75,9	0,042 24,1	0,0069 3,97	0,019 10,9	0,016 9,20	
27. III. 1929	3,4	0,176 100	0,126 71,6	0,050 28,4	0,0058 3,30	0,020 11,4	0,024 13,7	Am 30. III. p_H 3,0
2. IV. 1929	2,7	0,228 100	0,158 69,3	0,070 30,7	0,0049 2,15	0,033 14,5	0,032 14,0	Wurzelspitze leicht geschädigt
5. IV. 1929	2,6	0,261 100	0,182 69,7	0,079 30,3	0,0087 3,33	0,029 11,1	0,041 15,9	Wurzelspitze stark geschädigt

Wie die Tabelle 15 zeigt, nimmt zunächst der Gesamtstickstoff zu, und das Verhältnis Eiweiß-N : löslichem N verschiebt sich zugunsten des letzteren. Dieses ist leicht verständlich, wenn wir berücksichtigen, daß sich die Wurzeln der Versuchspflanzen vom 5.—18. III. 1929 im N-freien Nährmedium befunden haben, in ihnen also sicher, wie auch der niedrige Eiweißgehalt zeigt, ein N-Defizit geherrscht hat. Mit weiter steigender Azidität nehmen, der fallenden NH_3 -Tension folgend, Gesamt-

stickstoff, löslicher Stickstoff und auch Eiweißstickstoff wieder ab. Dieser Abstieg wird sodann später wieder von einem Anstieg abgelöst. Worauf dieser zweite Anstieg zurückgeführt werden muß, dürfte nicht einwandfrei zu beantworten sein. Eine Erklärung wäre folgende: Von etwa p_H 3,5 ab hat, wie schon erwähnt, das Längenwachstum der Wurzeln sehr stark nachgelassen, um etwas später vollständig zu erlöschen. Parallel damit geht natürlich der Bedarf an organischen N-Verbindungen zum Aufbau *neuer* Zellen ständig zurück. Infolge des gleich starken Zustromes an N-freien Kohlenstoffverbindungen aus dem Sproß und der weiteren Aufnahme von NH_4 -Stickstoff aus der Lösung — daß dieses tatsächlich der Fall ist, zeigt der weiter sinkende p_H -Wert des Nährmediums — muß es natürlich auch weiterhin zur N-Verarbeitung kommen, und die gebildeten Stoffe müssen sich, soweit sie nicht in den Sproß abgeleitet werden, in den Wurzelzellen ansammeln. Nach unserer Ansicht dürfte diese Annahme aber erst als gesichert zu gelten haben, wenn man die gleiche Gesetzmäßigkeit auch dann anträfe, wenn bei allen Analysen nicht ganze Wurzeln, sondern einander genau entsprechende Wurzelteile benutzt würden.

Die Schwankungen der Wurzeln im Gehalt an Aminosäuren-N ähneln stark denen der Eiweiß-N-Fraktion. Die Schwankungen der Wurzeln im Gehalt an Asparagin- und NH_4 -N lassen überhaupt keine Gesetzmäßigkeiten erkennen. *Eins geht aber doch deutlich aus diesen Werten hervor, daß der steigenden Azidität der Außenlösung kein Anstieg im Gehalt an präformiertem Ammoniak parallel geht.* Es muß allerdings darauf hingewiesen werden, daß beim tiefsten p_H -Wert auch die größten Mengen an präformiertem Ammoniak angetroffen wurden; allerdings ist auch diese Menge, auf Frischgewicht berechnet, *gering*, und sie ist auch noch immer *von der Größendimension, wie wir sie in Wurzeln mit normalen N-Haushalt antreffen.* Ihre wirkliche Größe geht auch daraus hervor, daß die gefundene NH_4 -N-Menge nur eine Verdoppelung des Wertes bedeutet, der in den Hungerpflanzen zu Beginn des Versuches angetroffen worden ist. Ob nun dieser etwas höhere Gehalt an präformiertem Ammoniakstickstoff tatsächlich, wie PRIANISCHNIKOW annimmt, die Folge einer „*gehemmten Amidbildung*“ ist, das dürfte nach den hier vorliegenden Versuchen mehr als zweifelhaft sein; denn mit demselben Recht könnte man zunächst die hohen Eiweiß- und Amino-N-Werte für eine deutliche Synthese anführen, die in den Wurzeln trotz des hohen Aziditätsgrades noch hat stattfinden müssen. Auch spricht ferner der hohe Wert des Verhältnisses Eiweiß-N : löslichem N, der derselbe ist wie beim Ausgangsmaterial, *gegen eine Hemmung bei der Weiterverarbeitung des Ammoniaks.* Zudem dürfen wir auch nicht vergessen, *daß die relativ hohen Werte für den NH_4 -N in Wurzeln angetroffen wurden, bei denen die jüngsten Teile schon stark geschädigt waren. Es kann daher auch rein sekundär der NH_4 -N*

beim Absterben der Zellen durch autolytische Vorgänge eine Vermehrung erfahren haben.

Um nun zu prüfen, ob der Anstieg des $\text{NH}_4\text{-N}$ in den Wurzeln bei extrem saurer Reaktion darauf zurückzuführen ist, daß das eingedrungene Ammoniak wegen gehemmter Amidbildung nicht weiter verarbeitet werden konnte und daher aufgespeichert werden mußte, oder ob es sich etwa um Abbauerscheinungen der durch Säuren stark geschädigten oder vollständig abgetöteten Protoplasten gehandelt hatte, wurde der nächste Versuch angestellt. 14 Tage lang wurden Maispflanzen in reinem Leitungswasser gezogen. Sie befanden sich also im N-Hunger. Diese Pflanzen wurden sodann in Leitungswasser gebracht, dessen p_H -Wert durch Schwefelsäure auf 2,2 gesenkt worden war, also ein N-freies Medium von extrem saurer Reaktion. Dieser starke Aziditätsgrad wurde gewählt, einmal um ähnliche Verhältnisse in bezug auf Säuregrade zu haben wie PRJANISCHNIKOW, weiterhin sollte hierdurch die Versuchsdauer auf ein Minimum herabgesetzt werden; denn nur so war es möglich, die Veränderungen, die innerhalb des N-Gehaltes der Wurzeln infolge fortschreitenden Wachstums auftreten müssen, auszuschalten. Die Tabelle 16 gibt die Versuchsergebnisse wieder.

Tabelle 16.

Versuchsdauer	Gesamt-N	Eiweiß-N	Löslicher N	Ammon-N	Doppelter Amid-N	Amino-N	Bemerkungen
—	0,216 100	0,164 75,9	0,052 24,1	0,0019 0,88	0,027 12,5	0,023 10,7	Ausgangsmaterial
3 Stunden 30 Min.	0,218 100	0,163 74,8	0,055 25,2	0,0036 1,65	0,028 12,8	0,023 10,7	Wurzelspitzen deutlich geschädigt NH_3 im Außenmedium nicht nachweisbar
23 Stund.	0,213 100	0,155 72,8	0,058 27,2	0,0084 3,94	0,028 13,1	0,022 10,2	Große Wurzelteile geschädigt NH_3 im Außenmedium nicht nachweisbar

Während des Versuches hat also das Verhältnis Eiweiß-N : löslichem N eine leichte Verschiebung zugunsten des letzteren erfahren. Die Werte für den Asparagin-N und Amino-N sind fast unverändert geblieben. Der Ammon-N hat unter gleichzeitiger Abnahme des Eiweiß-N die stärkste Zunahme erfahren. Mit Bezug auf das Frischgewicht ist die auch in den stark geschädigten Wurzeln gefundene NH_4 -Menge nicht groß, aber immerhin liegt sie doch bedeutend über dem Normalwert von Pflanzen, die sich schon seit einiger Zeit im Stickstoffhunger befunden haben.

Gegenüber dem Ausgangsmaterial hat der $\text{NH}_4\text{-N}$ eine Steigerung um 450% erfahren.

Wir sehen also, daß auch bei fehlender N-Zufuhr starke Schädigungen der Wurzeln, die durch extrem hohe Aziditätsgrade der Außenlösung hervorgerufen sind, von einem Anstieg der $\text{NH}_4\text{-N}$ -Fraktion begleitet sind. Der Ammoniak-N dürfte auch hier seinen Ursprung zum größten Teil autolytischen Vorgängen verdanken, die in absterbenden und schon abgestorbenen Zellen stattgefunden haben. Für eine durch Hemmung der synthetischen Vorgänge in den Wurzeln bedingte Ammoniakaufspeicherung liegen auch nicht die geringsten Anhaltspunkte vor.

Zum Schluß soll aber noch die Möglichkeit geprüft werden, ob überhaupt bei Anwendung von *starken, fast vollständig dissoziierten Säuren* die Frage zu lösen ist: Reagieren auf Säurevergiftung die Pflanzen ebenso wie das Tier durch Bildung von Ammoniak? Nach unseren heutigen Kenntnissen muß diese Frage verneint werden. Schon seit OVERTON (1895, 1897, 1899) wissen wir, daß die Zellen gegenüber stark dissoziierten Substanzen ein ganz anderes Verhalten an den Tag legen als den schwach und nicht dissoziierten gegenüber, vorausgesetzt, daß bei letzteren das Molekularvolumen nicht zu groß ist. Erstere dringen nur sehr langsam in die Zellen ein, letztere aber sehr viel schneller. Besonders charakteristisch ist das verschiedene Verhalten starker und schwacher Säuren, das auch schon seit OVERTON bekannt ist, aber in den letzten Jahren ganz besonders an *Valonia-* und *Nitellazellen* studiert wurde. Bei diesen Substanzen treffen wir, ebenso wie das schon in der ersten Arbeit für schwache und starke Basen gezeigt ist, folgende charakteristischen Unterschiede. *Die schwachen Säuren und zwar ihre nicht dissoziierten Moleküle dringen sehr schnell in die Zellen ein, unabhängig von Oberflächenveränderungen der Protoplasten.* Sie können daher auch, falls die Reaktionsveränderung im Zellinnern nur ganz kurze Zeit dauert, wieder ausgewaschen werden, ohne daß die Zellen absterben oder sichtbar geschädigt werden. *Die fast vollständig dissoziierten starken Säuren auf der anderen Seite bewirken erst dann im Zellinnern einen Aziditätsanstieg, wenn die H-Ionen an den Plasmagrenzschichten eine Schädigung irreversibler Natur hervorgerufen haben.*

PRIANISCHNIKOW hat bei seinen Untersuchungen über die Ausscheidung von Ammoniak durch die Wurzeln im extrem sauren Medium noch besonders darauf hingewiesen, daß die Pflanzen bei Säurevergiftung ebenso wie das Tier durch Ammoniakbildung reagieren. „Es verlaufen also die Erscheinungen der Säurevergiftung analog im pflanzlichen und tierischen Organismus“, schreibt er in seiner Arbeit. *Nach unserer Ansicht ist nun aber ein Vergleich zwischen Wurzelzellen, die im Inneren erst dann einen Aziditätsanstieg erfahren haben, nachdem durch eine zu starke Azidität des Außenmediums ihre Plasmagrenzschichten eine irreversible*

Änderung erfahren haben, und einem an Säurevergiftung erkrankten Tier überhaupt nicht statthaft. Werden von außen her in den Körper des Tieres Mineralsäuren gebracht, oder kommt es infolge von Sauerstoffmangel oder bestimmter Krankheiten zu einer vermehrten Säurebildung im Tierkörper, so reagiert das Tier hierauf durch eine verstärkte Ammoniakausscheidung. Wie HAMMARSTEN schreibt, „spielt der Ammoniak die Rolle eines Neutralisationsmittels der im Körper gebildeten oder ihm zugeführten Säuren.“ „Das Ammoniak des Harnes dürfte . . . wohl einen Ammoniakrest repräsentieren, welcher wegen des Überschusses der bei der Verbrennung entstandenen, den fixen Alkalien gegenüber, von solchen Säuren gebunden und demnach von der Synthese zu Harnstoff ausgeschlossen worden ist.“ Der Sinn der Neutralisation der freien Säuren ist es bekanntlich, den Wasserstoffexponenten des Blutes konstant zu halten. Dabei bedient der Tierkörper sich aller ihm zur Verfügung stehenden basischen Substanzen, *auch des beim Abbau der Eiweißsubstanzen freiwerdenden Ammoniaks, das auf diese Weise einfach einer Weiterverarbeitung zu Harnstoff entzogen wird.* Diese Neutralisation des Ammoniaks und die dadurch verminderte Harnstoffbildung in Parallele zu setzen mit einer Hemmung der Harnstoffsynthese in der Leber unter dem Einfluß von Chloroform, wie es PRANISCHNIKOW tut, scheint uns ebenfalls *nicht* statthaft zu sein.

Wollen wir nun bei der Pflanze Verhältnisse schaffen, die etwa denen beim Tier gleichkommen, so dürfen wir nicht *von außen* an die Gewebe Säuren heranbringen, die erst die Plasmagrenzschichten mehr oder weniger weit zerstören müssen, um überhaupt im Zellinnern eine „Azidosis“ hervorzurufen. Wir müssen vielmehr versuchen, im Innern der Zellen ohne eine irreversible Plasmaschädigung einen p_H -Abfall zu erzeugen. Wenn uns dieses gelingt, und wenn sich ein Anstieg des präformierten Ammoniaks einstellt, erst dann dürfen wir vielleicht davon sprechen, daß bei Säurevergiftung Tier und Pflanze ein ähnliches Verhalten zeigen. Ob man allerdings dann bei der Pflanze die Ansammlung von NH_4-N ebenso wie bei der Chloroformvergiftung als eine Hemmung der Asparaginsynthese ansehen darf, oder ob auch eine einfache Neutralisation vorliegt, das müßte außerdem noch entschieden werden.

Wir dürfen heute wohl mit ziemlicher Sicherheit annehmen, daß auch die meisten Pflanzenzellen einen ziemlich konstanten p_H -Wert im Innern haben, vor allen Dingen scheint dieses für den Zellsaft Raum zu gelten. Die Zelle ist nun bestrebt, diesen p_H -Wert ständig aufrecht zu halten. Gelingt ihr dieses nicht, so kommt es, wie BROOKS an *Valonia*-zellen gezeigt hat, zu ernstlichen Zellschäden, die sich zunächst in einer mehr oder weniger starken Exosmose der im Zellsaft Raum eingeschlossenen Stoffe äußern. Es ist daher von vornherein damit zu rechnen, daß die Zellen zur Beseitigung eines künstlich im Zellinnern hervorgerufenen

Aziditätsanstiegs alle Reserven an basischen Substanzen heranzuführen werden.

Die schwachen Säuren, deren Moleküle ja, wie gezeigt wurde, leicht in die Zellen eindringen, geben uns nun die Möglichkeit zu prüfen, wie die Pflanzenzellen auf eine künstliche „Azidosis“ reagieren. Auch hat man es bei dieser Methode in der Hand, mit Lösungen zu arbeiten, die einen p_H -Wert besitzen, bei dem die Wurzeln noch normal wachsen können, sodaß also von außen hier keine direkte H-Ionenwirkung in dem von uns beschriebenen Sinne zu erwarten ist. Man braucht nur durch ein Alkalisalz dieser Säure ihre Dissoziation soweit zurückzudrängen, bis der gewünschte p_H -Wert erreicht ist.

Von uns sind in dieser Richtung einige orientierende Versuche unternommen worden. Als Versuchspflanzen dienten wegen ihres großen Eiweißreichtums Lupinen und zwar *Lupinus albus*. Für die ersten Versuche wurde zur künstlichen Ansäuerung Kohlensäure benutzt. Durch diese Säure ist natürlich eine p_H -Senkung im Zellsaft nur möglich, wenn dieser nicht zu stark sauer ist. Dieses scheint aber bei der Lupine, wenn Preßsäfte der Wurzeln eine gewisse Orientierung in dieser Richtung gestatten, nicht der Fall zu sein. Aus einem Kohlensäureapparat ließ man dauernd Kohlensäure in die Versuchslösungen einströmen, damit aber kein Sauerstoffmangel eintrat und dadurch eine Desaminierung der Aminosäuren unterbunden wurde, ließen wir gleichzeitig kleine Sauerstoffblasen durch die Lösung perlen, die aus einer Sauerstoffflasche stammten.

Zu den beiden ersten Versuchen wurden 8 Tage alte Keimlinge benutzt, die im Tageslicht aufgewachsen waren. Als Lösung diente Leitungswasser, das durch Schwefelsäure auf p_H 4,1 herabgedrückt worden war. Ein Gefäß, in dem sich 12 Keimlinge befanden, wurde mit den beiden Gasen beschickt. Ein Kontrollgefäß mit der gleichen Zahl von Pflanzen blieb unbehandelt. Der p_H -Wert am Ende des Versuches betrug im ersten Falle 4,1, im zweiten Falle 4,5. Die folgende Tabelle gibt die nach 24stündiger Versuchsdauer in den Wurzeln gefundenen N-Werte wieder.

Tabelle 17.

Lösung	Gesamt-N	Eiweiß-N	Löslicher N	Ammon-N	Doppelter Amid-N	Rest-N	p_H -Werte der Wurzelpreßsäfte am Ende des Versuches
Mit CO ₂	0,402	0,126	0,276	0,0036	0,164	0,108	6,04; 6,09; 6,09; 6,15; 6,17; 6,21; 6,21
	100	31,3	68,7	0,90	40,8	27,0	
Ohne CO ₂	0,378	0,124	0,254	0,0042	0,144	0,106	5,43; 5,45; 5,45; 5,52; 5,55; 5,60; 5,60
	100	32,8	67,2	1,11	38,1	28,0	

Aus der Tabelle 17 läßt sich auch nicht der geringste Anhalt dafür gewinnen, daß durch die CO₂-Zufuhr von außen es zu einer Hemmung der

Asparaginsynthese und zu einer Ammoniakauflösung gekommen ist. Ein gleicher Versuch, der sich aber über dreimal 24 Stunden erstreckte, lieferte dieselben Ergebnisse. Gegen die Annahme aber, daß auf die CO₂-Zufuhr die Wurzeln überhaupt nicht reagiert haben, spricht sehr deutlich der große Unterschied, den die p_H-Werte der Wurzelpreßsäfte der beiden Kulturen zeigten. Auffälligerweise ist aber hier die Ansäuerung durch Kohlensäure von einem starken *Aziditätsabfall* begleitet. Bei den Kulturen, die nach dreimal 24 Stunden zur Untersuchung gelangten, wurden dieselben Unterschiede festgestellt. Wir möchten nun folgende *vorläufige* Erklärung für dieses merkwürdige Verhalten geben. Um die Reaktion in der Zelle aufrecht zu erhalten, schreitet die Pflanze dazu, unter dem Einfluß der eindringenden Kohlensäure ihr Karbonat-Bikarbonat-Puffersystem durch Karbonatbildung zu verstärken. Das sich in der Pflanze neu einstellende Gleichgewicht zwischen Kohlendioxyd, Bikarbonat und Karbonat muß natürlich beim Zermahlen der Wurzeln sofort gestört werden. CO₂ entweicht und dadurch verschiebt sich der p_H-Wert des Preßsäftes nach der alkalischen Seite. Sicher bewiesen ist diese Annahme aber erst, wenn man das CO₂-Bindungsvermögen der verschiedenen Preßsäfte festgestellt und dabei gefunden hat, daß dieses bei den CO₂-Wurzeln größer ist als bei den anderen.

Gegen die beiden Versuche könnte nun aber noch der Einwanderhoben werden, daß in den Wurzeln der im Licht gezogenen Pflanzen wegen genügender Versorgung mit Kohlehydraten überhaupt keine Desaminierung erfolgt sei, und daß es aus dem Grunde auch nicht zu einer Ansammlung von NH₄-N und zu einer Verhinderung der Asparaginbildung habe kommen können. Es wurde daher noch ein weiterer, gleicher Versuch angestellt mit Pflanzen, die sich 20 Tage lang vor Versuchsanstellung im Dunkeln befunden hatten. Die Versuche selbst fanden in einer Dunkelkammer statt. Sie dauerten 72 Stunden. Der p_H-Wert des Nährmediums verschob sich in Gegenwart von CO₂ von 4,1 auf 4,2, in Abwesenheit dagegen von 4,1 auf 5,3. Ammoniak wurde in keinem Falle in der Außenlösung angetroffen. Die Tabelle 18 gibt die Analysenwerte für die N-Fractionen in den Wurzeln wieder.

Tabelle 18.

Lösung	Gesamt-N	Eiweiß-N	Löslicher N	Ammon-N	Doppelter Amid-N	Rest-N	p _H -Wert der Wurzelpreßsäfte am Ende der Versuche
mit CO ₂	0,286	0,110	0,176	0,0032	0,126	0,047	6,59; 6,59; 6,53; 6,56
	100	38,5	61,5	1,12	44,1	16,3	
ohne CO ₂	0,277	0,096	0,181	0,0033	0,138	0,040	5,67; 5,67; 5,62; 5,56
	100	34,7	65,3	1,19	49,8	14,3	

Die für den NH_4 -Stickstoff gefundenen, trotz der Verdunkelung auffallend kleinen Werte sprechen auch nicht im geringsten für eine Ansammlung von Ammoniak. Man könnte vielleicht für eine gehemmte Asparaginsynthese den Umstand anführen, daß in Gegenwart von CO_2 der Wert der Amidfraktion kleiner ist als in Abwesenheit. Aber dieses dürfte nicht stichhaltig sein, wenn wir uns einmal das Verhältnis Eiweiß-N : löslichem N bei den beiden Kulturen ansehen. Der etwas schwächere Gehalt an Asparagin stellt sich dann einfach als eine Folge eines etwas langsamer erfolgenden Eiweißabbaues heraus. Es hat also auch die Versuchsreihe, die mit im Dunkeln aufgezogenen Pflanzen im Dunkeln angestellt worden ist, *uns nicht den geringsten Beweis dafür geliefert, daß eine durch CO_2 -Zufuhr in den Wurzelzellen hervorgerufene „Azidosis“ eine NH_4 -Speicherung und Hemmung der Asparaginsynthese im Gefolge hat.* Der charakteristische Unterschied im p_H -Wert der Wurzelpreßsäfte zwischen den CO_2 -Pflanzen und denen, durch deren Nährlösung kein Kohlendioxyd geleitet worden ist, ist auch hier wieder vorhanden. Da unsere Versuchspflanzen im Außenmedium und vielleicht auch schon als Reservestoffe genügend Alkalien zur Verstärkung ihres Karbonat-Bikarbonatpuffersystems zur Verfügung gestanden haben, so konnten sie vielleicht auf die Freimachung von Ammoniak durch Desaminierung verzichten. Aus diesem Grunde wäre es sehr wohl denkbar, daß man in einem an Alkalien freien Medium andere Ergebnisse erhalten würde.

Eine weitere Versuchsreihe, um den Einfluß von in die Wurzelzellen eindringenden Säuren auf die Asparaginsynthese festzustellen, wurde mit Essigsäure angestellt. Leitungswasser wurde zunächst durch Schwefelsäure auf p_H 5,5 gebracht. Dem Liter dieses angesäuerten Wassers wurden 600 mg Essigsäure — $\frac{1}{100}$ n — zugesetzt und soviel Na-Azetat, bis der p_H -Wert 4,4 erreicht war. Die Konzentration der Essigsäure erwies sich aber als zu stark. Schon nach 3 Stunden waren alle Wurzelspitzen abgestorben. Es kam daher eine Lösung zur Anwendung, die nur 120 mg Essigsäure — $\frac{1}{500}$ n — führte und soviel Na-Azetat bis der p_H -Wert 4,4 ebenfalls erreicht war. Es wurden sodann folgende vier Versuche angesetzt: 1. Lupinenkeimlinge, die 13 Tage alt und im Tageslicht aufgezogen waren, kamen im Gewächshaus zur einen Hälfte in die Azetatlösung, zur anderen Hälfte in Leitungswasser, das durch H_2SO_4 auf den gleichen p_H -Wert gebracht worden war. 2. 13 Tage lang im Dunkeln gezogene Keimlinge kamen ebenfalls zur einen Hälfte in die Azetatlösung, zur anderen Hälfte in das angesäuerte Leitungswasser. Diese beiden Kulturen befanden sich während des Versuches in einem Dunkelraum. Die Pflanzen kamen alle am 4. VI. 29 in die Versuchslösungen. Nach 28 Stunden wurde ein Teil der Wurzeln analysiert. Die Tabelle 19 gibt die Ergebnisse wieder.

Im angesäuerten Leitungswasser entwickelten sich die Wurzeln

Tabelle 19.

	Analyse begonnen am	Gesamt-N	Eiwelb-N	Löslicher N	Ammon-N	Doppelter Amid-N	Rest-N
Licht- pflanzen	Ausgangsmaterial im Leitungswasser von pH 4,4 in der Azetatlösung von pH 4,4	0,249	0,124	0,125	0,0037	0,096	0,025
		100	49,8	50,2	1,49	38,6	10,1
		0,272	0,132	0,140	0,0026	0,093	0,044
Dunkel- pflanzen	Ausgangsmaterial im Leitungswasser von pH 4,4 in der Azetatlösung von pH 4,4	0,307	0,124	0,133	0,0033	0,112	0,068
		100	40,4	59,6	1,07	36,5	22,0
		0,284	0,105	0,179	0,0091	0,117	0,053
Dunkel- pflanzen	Ausgangsmaterial im Leitungswasser von pH 4,4 in der Azetatlösung von pH 4,4	100	37,0	63,0	3,20	41,2	18,6
		0,309	0,118	0,191	0,0034	0,122	0,066
		100	38,2	61,8	1,10	39,5	21,2
Dunkel- pflanzen	Ausgangsmaterial im Leitungswasser von pH 4,4 in der Azetatlösung von pH 4,4	0,301	0,111	0,190	0,0047	0,130	0,055
		100	36,9	63,1	1,56	43,2	18,3

normal. Es war allerdings im Licht das Wurzelwachstum sehr viel besser. In der Azetatlösung fand überhaupt keine Längenzunahme der Wurzeln statt. Gegen Ende des Versuches — nach etwa 25—26 Stunden — ließ der Turgor in den Streckungszonen nach, einige Stunden später starben diese Teile ab. Im Laufe von weiteren 24 Stunden griffen diese Zerstörungen auch auf die älteren Wurzelteile über. Das Bild der Wurzelschäden war dasselbe, wie es der eine von uns — MEVIUS 1927 — für Wurzeln beschrieben hat, die in stark saure Lösungen gebracht worden waren, pH 3,5 und tiefer. In diesem Falle befanden sich keine schwachen Säuren in den Lösungen. Bei den hier vorliegenden neuen Versuchen können die H-Ionen in der Azetatlösung diese schädliche Wirkung nicht hervorgebracht haben; denn in Gegenwart von H_2SO_4 werden noch erheblich größere H-Ionenkonzentrationen vertragen, bis etwa pH 3,6. Es muß, wie dieses ja auch von anderen Forschern beschrieben worden ist, das *Essigsäuremolekül* diese Wirkung verursacht haben. Nach allen bisherigen Beobachtungen dringt es schnell in die Zelle

ein und bewirkt hier, falls es nicht sofort neutralisiert wird, einen Aziditätsanstieg. Dieser hat unter anderem, wie BROOKS besonders gezeigt hat, eine starke Permeabilitätserhöhung und Exosmose im Gefolge. Das Nachlassen des Turgors in unserem Falle dürfte eine Folge des Austrittes von im Zellsaft gelösten Substanzen gewesen sein. Unsere Versuche zeigen auch einmal wieder, *wie vollständig abwegig es ist, mit Pufferlösungen zu arbeiten, die aus einer schwachen Säure und ihrem Alkalisalze bestehen, wenn man den Einfluß der H-Ionenkonzentration auf lebende Zellen bestimmen will.* Leider scheint aber dieses immer noch nicht, wie neuere Arbeiten zeigen, Allgemeingut der Pflanzenphysiologen geworden zu sein.

Welche Schlüsse lassen sich nun aber aus unseren Analysenwerten ziehen? Sprechen sie für oder gegen PRIANISCHNIKOW? *Die für den NH_4 -N und Asparagin-N erhaltenen Zahlen bieten uns auch in dem Falle, daß in den Wurzelzellen durch eingedrungene Essigsäure eine „Azidosis“ hervorgerufen worden ist, nicht die geringsten Anhaltspunkte dafür, daß die Asparaginsynthese gehemmt worden und eine Ansammlung von Ammoniak in den Zellen erfolgt ist.* Aus unserer Tabelle geht aber ferner noch folgendes hervor: Hemmung des Wurzelwachstums dürfte zu einer Stauung der ständig aus den Kotyledonen noch zuströmenden, löslichen N-Verbindungen in den Lupinenwurzeln geführt haben. Besonders charakteristisch ist in dieser Hinsicht die Steigerung des Asparagin-N bei den Azetatpflanzen. Der Charakter der Lupine als ausgesprochene „N-Pflanze“ zeigt sich besonders an dem Eiweiß-N zu löslichem N-Verhältnis. Bei Pflanzen, denen von außen kein N zugeführt worden ist, beträgt im Licht dieser Wert nur 50 : 50. Beim Mais wurden derartige Zahlen nur bei starker NH_4 -N-Aufnahme beobachtet. Der „Normalwert“ betrug hier bekanntlich etwa 70 : 30. Sehr wahrscheinlich werden sich im Licht die Lupinenwurzeln in ihrem N-Haushalt mit fortschreitendem Verbrauch der Reserve-N-Verbindungen immer mehr dem der Maispflanzen nähern; denn bei fortschreitender CO_2 -Assimilation und sistierter N-Aufnahme muß sich das Verhältnis gebundener C : gebundenem N immer mehr zugunsten des Kohlenstoffs verschieben.

Sprechen nun auch unsere Versuche vollständig gegen die Ansicht von PRIANISCHNIKOW, daß Säurewirkung zu einer Hemmung der synthetischen Vorgänge in den Pflanzenzellen führt, so wollen wir dennoch darauf hinweisen, daß man vielleicht zu etwas günstigeren Ergebnissen kommen kann, wenn man zunächst bei Beginn des Versuches bei den Dunkelpflanzen die Kotyledonen entfernt, um so zu verhindern, daß etwa aus ihnen in die Wurzeln Asparagin strömt und so eine Asparaginsynthese dort vorgetäuscht wird. Ferner dürfte es zweckmäßig sein, zu den Analysen nur die Wurzelspitzen zu benutzen und nicht ganze Wurzeln, allerdings wird die Materialbeschaffung große Schwierigkeiten bereiten. Drittens wäre auch die Frage zu prüfen, ob es nicht zweckmäßiger

ist, mit Essigsäurelösungen zu arbeiten, die schwächer als $\frac{1}{500}$ n sind, um so die Wurzelschäden zu hemmen. Man hat dann die Möglichkeit, den Versuch über eine längere Zeit zu erstrecken.

Zum Schlusse soll auch noch auf die Beobachtung hingewiesen werden, daß sich dann mit NESSLERSchem Reagenz Ammoniak in Spuren im Nährmedium nachweisen ließ, wenn die Wurzelspitzen abgestorben waren. Es dürfte sich dabei um die Ammoniumsalze gehandelt haben, die sich ursprünglich in den Wurzelspitzenzellen befanden, die dann später aber aus den toten Zellen infolge Exosmose ins Außenmedium diffundiert sind.

V. Abschnitt.

Wie die Versuche auf S. 35 und 37 gezeigt haben, kann man durch Abschwächung des Lichtes verhindern, daß in einer stark sauren NH_4 -Salzlösung — $p_{\text{H}} 4,0$ — die Azidität ansteigt. Man hat also auf diese Weise die Möglichkeit, Schäden, die an den Wurzeln durch einen zu schnellen und zu starken Aziditätsanstieg hervorgerufen werden, von solchen zu trennen, die eine Folge des basischen Anteiles der Ammoniumsalze sind. Bei den Versuchen, die in der ersten Arbeit behandelt worden sind, war dieses nicht möglich gewesen. Es mußte daher noch mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß nach Überschreitung des für das Wachstum der Maispflanzen günstigsten p_{H} -Intervalles wieder eine Steigerung der NH_4 -Aufnahme einsetzt. Wenn dagegen auch hier noch unsere Arbeitshypothese zu Recht besteht, daß bestimmend für die Aufnahme des basischen Anteiles eines NH_4 -Salzes die NH_3 -Tension der Nährlösung ist, so muß es bei $p_{\text{H}} 4,0$ möglich sein, den Wurzeln eine extrem hohe Ammoniumsalzdose darzubieten, ohne daß es zu einer Wurzelschädigung kommt und ohne daß die N-Fractionen in den Wurzeln Werte liefern, die für eine im Verhältnis zur N-Aufnahme ungenügende Versorgung mit Kohlehydraten sprechen. Bei dem p_{H} -Wert 4,0 muß in der Lösung eine sehr schwache OH-Ionkonzentration herrschen, so daß auch in Gegenwart großer Ammoniumsalzmengen die NH_3 -Tension nur einen ganz geringen Wert erreichen kann. Es wird sich auch in diesem Falle zunächst zwischen der NH_3 -Tension der Nährlösung und der im Innern der resorbierenden Wurzelzellen ein Gleichgewicht herstellen, das natürlich dauernd durch NH_3 -Verbrauch gestört wird, sei es, daß das präformierte Ammoniak weitergeleitet, sei es, daß es an Ort und Stelle verarbeitet wird. Wenn man nun die Pflanzen unter sehr ungünstigen Lichtverhältnissen leben läßt, so muß es natürlich zu einer starken Hemmung in der Weiterverarbeitung kommen. Es wird sich also in diesem Falle eine fast statisches Gleichgewicht zwischen der NH_3 -Tension außen und innen einstellen müssen. Da aber im Innern dieser Druck nicht größer sein kann als außen, da sonst Ammoniak wieder nach außen strömen müßte, so kann es natürlich dort niemals zu einer etwas größeren Am-

moniakansammlung kommen. Die Folge muß natürlich sein, daß auch die Ammoniakentgifter dort nicht in nennenswerten Mengen anzutreffen sein werden.

Zu dem ersten Versuche wurde eine vollständige Nährlösung benutzt, die als N-Quelle $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ führte und den p_{H} -Wert 4,0 besaß. Am 13. II. 29 kamen die Pflanzen in die Nährlösungen. Während des Versuches befanden sich die Kulturen in dem mit Fettpapier behangenen Glashäuschen.

a) 200 mg $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ im Liter Wasser. Der p_{H} -Wert zeigte fast gar keine Änderung. Erst am 23. II. 1929, also nach 10 Tagen, hatte er sich auf 3,9 gesenkt und blieb hier stehen. Das Wurzelwachstum war gut. Die Haupt- und Nebenwurzeln waren schneeweiß, lang und auffallend dünn. Einige Kontrollkulturen im vollen Tageslicht zeigten dieselbe Wurzelentwicklung. Die Sproßbildung war natürlich bei letzteren infolge der günstigeren Assimilationsbedingungen besser. Hier war der p_{H} -Wert innerhalb 10 Tagen auf 3,4 gefallen.

b) 2000 mg $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ im Liter Wasser. Am Ende des Versuches war der p_{H} -Wert nur bis auf 3,8 gesunken. Sproß- und Wurzelentwicklung war dieselbe wie bei a. Tabelle 20 gibt die Werte für die verschiedenen N-Fractionen in den Wurzeln wieder.

Tabelle 20.

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Gabe	Gesamt-N	Eiweiß-N	Löslicher N	Ammon-N	Doppelter Amid-N	Amino-N
Ausgangsmaterial (Hungerpflanze)	0,216	0,164	0,052	0,0019	0,027	0,023
	100	75,9	24,1	0,88	12,5	10,7
200 mg	0,184	0,131	0,053	0,0090	0,0065	0,038
	100	71,2	28,8	4,89	3,53	20,4
2000 mg	0,230	0,141	0,089	0,019	0,028	0,042
	100	61,3	38,7	8,26	12,2	18,2

Bei den Pflanzen, welche die schwache NH_4 -Gabe erhalten haben, hat in den Wurzeln der Gesamtstickstoff abgenommen. Diese Abnahme entfällt auf den Eiweißstickstoff und ist eine Folge des Wurzelwachstums. Der N-Verbrauch muß größer gewesen sein als das Eindringen von gebundenem Stickstoff, daher ist es zu einer Senkung der „N-Niveaus“ gekommen. Die auf Frischgewicht bezogenen Mengen löslichen Stickstoffes haben keine Änderung erfahren, wohl aber ist dieses innerhalb der Fraktion der Fall gewesen. Die Werte aller N-Fractionen und ihre gegenseitigen Verhältnisse lassen eindeutig erkennen, daß trotz der ungünstigen Assimilationsbedingungen die gebildeten C-Verbindungen mehr als ausreichend sind, um das eingedrungene Ammoniak zu entgiften. Ganz besonders deutlich geht dieses aus dem hohen Wert — 71 : 29 — des Verhältnisses Eiweiß-N : löslichem N hervor. Auch der große Anteil des Amino-N am löslichen Stickstoff — 20,4 von 28,8 —, der schon sehr stark an Verhältnisse erinnert, die in Wurzeln angetroffen werden, die schon

Tabelle 21.

Nährmedium	Licht	Analyse begonnen am	Gesamt-N	Eiweiß-N	Löslicher N	Ammon- N	Doppelter Amid-N	Amino-N
Leitungswasser	volles	26. XI. 1928	0,156 100	0,108 69,2	0,048 30,8	0,0031 1,99	0,013 8,33	0,032 20,5
Leitungswasser	geschwächtes	4. XII. 1928	0,179 100	0,107 59,8	0,072 40,2	0,0041 2,29	0,0082 4,58	0,060 33,3
Vollständige Nährlösung. pH 6,0 .	geschwächtes	4. XII. 1928	0,274 100	0,136 49,6	0,138 50,4	0,041 15,0	0,056 20,4	0,041 15,0

längere Zeit in einem N-freien Nährmedium gestanden haben — siehe die nächste Tabelle —, spricht für eine sehr schwache Versorgung der Pflanzen mit $\text{NH}_4\text{-N}$.

Von besonderem Interesse sind nun aber die Werte, die bei sehr großer $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Gabe für die verschiedenen N-Fractionen erhalten wurden. *Trotz einer Verzehnfachung der $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Menge hat die Menge des präformierten Ammoniaks gegenüber der schwachen $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Gabe nur eine Verdoppelung erfahren.*

Um nun einmal einen Vergleichsmaßstab für die tatsächliche Größe der einzelnen N-Fractionen zu erhalten, sollen einige Versuche mitgeteilt werden, die ebenfalls im geschwächten Licht ausgeführt worden sind. Im ersten Falle wurden 500 mg $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ in einer vollständigen Nährlösung und dem pH -Wert 5,9—6,1 den Maispflanzen dargeboten, im zweiten Falle ließen wir die Pflanzen im Leitungswasser ohne N-Quellen. Letztere befanden sich also im vollständigen N-Hunger. Die Pflanzen standen vom 15. XI. bis 4. XII. 28 in dem Glashäuschen. Vorher hatten sie vom 5. November an bei vollem Licht im Leitungswasser gestanden. Die N-Verhältnisse in den Wurzeln gibt die Tabelle 21 wieder.

In den Hungerpflanzen hat eine Verminderung des Verhältnisses Eiweiß-N: löslichem N stattgefunden, und zwar im vollen Licht in viel schwächerem Maße als im geschwächten. Wenn wir uns aber einmal die Fraktion anschauen, die fast den vollständigen oder wenigstens den größten Teil des löslichen N ausmacht, so ist es hier, wo von außen *kein gebundener Stickstoff zugeführt worden ist, der Amino-N. Wir haben hier also ganz andere Verhältnisse als in den Wurzeln,*

wo durch verstärkte N-Zufuhr das Verhältnis Eiweiß-N : löslichem N zugunsten des letzteren ebenfalls eine Verschiebung erfährt. Hier sind es Asparagin-N und NH_4 -N, die eine anormale Steigerung erfahren haben und deshalb den größten Teil des löslichen Stickstoffes ausmachen. In vorliegendem Falle haben wir die Erscheinung, welche der eine von uns — ENGEL — eingehender untersucht hat, daß bei fehlender N-Zufuhr es zu einer Hydrolyse der Eiweißsubstanzen kommt. Zu einer Ansammlung der dabei gebildeten Aminosäuren muß es im geschwächten Licht kommen, weil durch die ungenügende Kohlehydratversorgung das Wurzelwachstum stark gehemmt ist. Bei den Versuchen von ENGEL, die im Sommer ausgeführt worden sind, trat in den Wurzeln wegen der guten Zufuhr von Kohlehydraten nur die Eiweißmobilisierung, nicht aber die Ansammlung von Aminosäuren in Erscheinung.

Die Kulturen, die in der vollständigen Nährlösung gestanden haben, lassen ebenfalls eine Verschiebung des Verhältnisses Eiweiß-N : löslichem N erkennen — 50 : 50, hier aber machen Asparagin-N und Ammon-N zusammen mehr als $\frac{2}{3}$ des gesamten löslichen Stickstoffes aus. Eine beträchtliche Höhe hat im Vergleich zum Asparagin der NH_4 -N-Gehalt in diesem Versuche erreicht, so daß man beim Vergleich mit entsprechenden Sommersuchen auf ein sehr starkes Eindringen von Ammoniak schließen müßte. Wir glauben aber, daß es wegen der fehlenden Kohlenhydrate nur zu einer schwachen Weiterverarbeitung der in den Zellen gebildeten NH_4 -Salze gekommen ist, die erst in den Wurzeln sehr weit geleitet werden mußten, bevor sie auf genügende Kohlehydratmengen gestoßen sind. Es besteht also von den jüngsten nach den älteren Wurzelteilen zu ein nur geringes NH_4 -Salzgefälle, d. h. auch in den oberen Zonen führen die Zellen noch relativ viel NH_4 -N — siehe auch die Ausführungen auf S. 23 —. Gegen die Annahme, daß die resorbierenden Wurzelzellen unter einem sehr großen NH_3 -Druck gestanden haben, spricht direkt der Wert des Verhältnisses Eiweiß-N : löslichem N, der hier noch 50 : 50 beträgt.

Wir wollen uns aber jetzt wieder den N-Verhältnissen zuwenden, die uns Tabelle 20 von den Wurzeln der Pflanzen wiedergegeben hat, die bei p_{H} 4,0 und unter sehr ungünstigen Beleuchtungsverhältnissen die sehr großen $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Gaben erhalten haben. Das Verhältnis Eiweiß-N : löslichem N hat noch den verhältnismäßig hohen Wert von 61 : 39, und von dem löslichen Stickstoff entfällt fast die Hälfte auf den Amino-N. Wie niedrig tatsächlich die NH_4 -N-Aufnahme gewesen ist, zeigt auch weiterhin die Tatsache, daß der Gesamtstickstoff im Vergleich mit dem Ausgangsmaterial nur eine sehr schwache Steigerung erfahren hat und daß weiterhin der Asparagin-N überhaupt keine Zunahme aufzuweisen hat. Dasselbe beobachtet man auch, wenn man die Novemberversuche (Tabelle 21) zum Vergleich heranholt. Obwohl bei p_{H} 6,0 nur der vierte Teil Ammoniumsulfat dargeboten wurde, so hat der NH_4 -N doch einen mehr

als doppelt so großen Wert erreicht. Dasselbe gilt für den Asparaginstickstoff und für das Verhältnis Eiweiß-N : löslichem N.

Wird also bei tiefen p_H -Werten, die noch ohne Säureschäden von den Wurzeln der Maispflanzen vertragen werden, ein Aziditätsanstieg in der Lösung verhindert, so werden, obwohl das für das Wachstum günstigste p_H -Intervall schon längst nach der sauren Seite hin überschritten ist, dennoch anormal hohe NH_4 -Salzgaben ohne die geringsten Schäden ertragen. Im Einklang damit werden in den Wurzeln nur relativ geringe NH_4 - und Asparagin-N-Mengen angetroffen. Bei geringeren NH_4 -Salzgaben sind diese Werte und die der übrigen N-Fractionen sogar so klein, daß die N-Versorgung der Pflanzen nur sehr schwach gewesen sein kann. Ja, wir treffen hier Verhältnisse im N-Haushalt an, die sich schon sehr stark denen nähern, die man in den Wurzeln solcher Pflanzen findet, die sich schon längere Zeit im absoluten N-Hunger befunden haben. Auch alle diese Befunde werden nur erklärbar, wenn wir annehmen, daß für die N-Aufnahmen aus einer NH_4 -Salzlösung allein der in ihr herrschende NH_3 -Druck maßgebend ist.

Die vorliegenden Versuche sind auch weiterhin ganz besonders dazu geeignet, den Einwand zu entkräften, daß die häufig bei den Analysen beobachteten hohen Werte von NH_4 -N lediglich auf etwa in den Zellmembranen befindliche große Mengen von $(NH_4)_2SO_4$ -Molekülen zurückzuführen sind. Trotz zehnfacher Ammoniumsulfat-Gabe im Außenmedium (Tabelle 20) wurde nur die doppelte Menge NH_4 -N gefunden. Sollte der Einwand zu Recht bestehen, so hätten sicher erheblich größere Mengen gefunden werden müssen. Zu demselben Ergebnis kommt man, wenn der bei p_H 6,0 angetroffene NH_4 -N-Wert zum Vergleich herangezogen wird: Die NH_4SO_4 -Mengen verhalten sich wie 500 zu 2000, die NH_4 -N-Werte aber umgekehrt wie 41 zu 19. Beim zweiten Vergleich könnte man allerdings noch den weiteren Einwand machen, daß wegen des verschiedenen p_H -Wertes der Nährlösungen die Quellkräfte und damit auch das Adsorptionsvermögen der Zellwände verschieden gewesen seien. Für den ersten Fall trifft dieses aber nicht zu, da mit Lösungen von gleichem p_H -Werte gearbeitet wurde.

Leider ist es nicht möglich, die NH_3 -Tension im Innern der Wurzelzellen, besonders der resorbierenden, zu messen. Wir können nur die Menge des präformierten Ammoniaks in den ganzen Wurzeln oder bestimmten Wurzelabschnitten bestimmen. Diese Größe gibt jedoch nur einen kleinen Hinweis auf die in den Zellen herrschende NH_3 -Tension. Bei gleichbleibender Reaktion und gleichbleibender Temperatur muß natürlich mit zunehmender Menge präformierten Ammoniaks — diese setzt sich bekanntlich aus dem basischen Anteil der NH_4 -Salze und dem freien NH_3 zusammen — der NH_3 -Druck zunehmen, bis der der Außenlösung erreicht ist. Ein höherer Wert kann sich nicht einstellen, es sei denn, daß in der Pflanze Ammoniak durch Eiweißzerfall oder Asparagin-

abbau frei wird. Dieser ist aber bei normalen Ernährungsbedingungen — genügend Licht, vollständige Nährlösung, normale Reaktion — nicht der Fall. Wenn nun das Längenwachstum der Wurzeln sehr gering ist, so daß das Verhältnis der einzelnen Wurzelteile zueinander längere Zeit keine nennenswerte Veränderung erfährt, so darf die absolute Menge präformierten Ammoniaks, die nach bestimmter Zeit in den Wurzeln auftritt, im Laufe des Versuches keine nennenswerte Änderung mehr erfahren. Dabei ist natürlich vorausgesetzt, daß die Konzentration des NH_4 -Salzes in der Außenlösung ziemlich konstant bleibt. Dasselbe gilt auch für die Temperatur in der Nährlösung. Auch muß sich eine Verminderung der NH_4 -Salzmenge im Außenmedium sofort im Gehalt an präformiertem Ammoniak in der Zelle widerspiegeln. Ganz anders wird natürlich der Versuch ausfallen, wenn keine Beziehungen zwischen NH_3 -Tension außen und innen bestehen und die Pflanzen imstande sind, die Ammoniumsalze als Molekül aufzunehmen und diese wie die *Nitrate aufzuspeichern*. Es muß natürlich dann bei stark gehemmtem Wurzelwachstum und schwacher Versorgung mit Kohlehydraten mit fortschreitender Versuchsdauer zu einem ständigen Anstieg des präformierten Ammoniaks kommen. Um diese Überlegungen auf ihre Richtigkeit zu prüfen, wurde die folgende Versuchsreihe angestellt.

Zur Anwendung kam eine vollständige Nährlösung, deren p_H -Wert dauernd auf 7,0 gehalten wurde. Als Stickstoffquelle wurde Ammoniumsulfat gegeben und zwar nur 100 mg im Liter Wasser. Zur Ausführung dieser Versuchsreihe wurde der lichtarme November gewählt; denn so war es möglich, bei dem relativ hohen p_H -Werte das Wurzelwachstum in Gegenwart eines Ammoniumsalzes fast vollständig zum Stillstand zu bringen. Die schwache Ammoniumsulfatgabe kam zur Anwendung, um nicht durch eine zu starke NH_3 -Aufnahme ganze Wurzelteile zum Absterben zu bringen. Der lichtarme November sorgte auch weiterhin dafür, daß wegen Mangels an Kohlehydraten die Weiterverarbeitung des präformierten Ammoniaks nur in ganz bescheidenen Grenzen möglich war und das Verhältnis des gebundenen Stickstoffs zum gebundenen Kohlenstoff keine Verschiebung zugunsten des letzteren erfuhr. Zu den Versuchen wurden zehnmal vier Pflanzen benutzt. Für die einzelnen Analysen wurden nur die Wurzeln der Pflanzen verwendet, die sich in demselben Kulturgefäß befanden. Es diente also Gefäß 1 für die erste Analysenreihe, Gefäß 2 für die zweite usw. Die Versuchspflanzen befanden sich zunächst vom 1. bis zum 15. November in reinem Leitungswasser. Sodann wurden sie in die Versuchslösung überführt. In den ersten 14 Tagen fand kein nennenswertes Längenwachstum der Wurzeln statt. Die Wurzelspitzen ließen keine ausgesprochenen Schädigungen erkennen. Aber das Verschwinden des Schleimpfropfens deutete doch darauf hin, daß das Nährmedium nicht besonders günstig für die Maiswurzeln war. Die Sprosse wuchsen ebenfalls nur sehr langsam weiter. Die neugebildeten Blätter waren mehr oder weniger chlorotisch. Am 29. XI. ließ sich Nitrifikation in der Nährlösung feststellen, die ständig an Stärke zunahm. Am 3. XII. war nur noch etwa 30 mg $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ im Liter Nährlösung vorhanden. Am 29. I. 1929 waren alle N-Verbindungen, NH_3 , Nitrite, Nitrate, aus der Lösung verschwunden. Mit fortschreitender Abnahme des Ammonsalzes in der Lösung erfolgte eine ständige Zunahme des Wurzelwachstums.

Den Schwund aller N-Verbindungen ließen am Ende des Versuches schon die auffällig langen, zarten und schneeweißen Wurzeln erkennen. Zu den N-Analysen wurden immer nur die gesunden Wurzeln ausgewählt. Die Tabelle 22 gibt die Ergebnisse dieser Versuchsreihe wieder.

Tabelle 22 zeigt uns, daß, solange die Konzentration des $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ in der Außenlösung keine nennenswerte Änderung erfährt, die Konzentration des präformierten Ammoniaks in den Wurzeln sich nicht mehr erhöht, obwohl kein Längenwachstum der Wurzeln mehr stattgefunden hat. *Diese Fraktion erreicht in ganz kurzer Zeit einen Höchstwert, der dann aber nicht mehr überschritten wird.* Einen Anstieg hingegen erfahren Eiweiß-, Asparagin- und Amino-N — letzterer aber nur in ganz geringem Maße. Der Gesamtstickstoff muß dadurch natürlich auch eine ständige Zunahme erfahren. Der Grund hierfür ist der, daß durch die bei der Assimilation gebildeten Kohlehydrate ein Teil des präformierten Ammoniaks weiterverarbeitet worden ist, der aber immer sofort wieder aus der Außenlösung ersetzt wird. Da durch die Nitrifikation das Ammoniak des $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ in HNO_2 bzw. HNO_3 verwandelt wird, so muß mit steigender Nitrifikation die NH_3 -Tension in der Lösung abnehmen. Diese Abnahme muß sich natürlich sofort im Gehalte an präformiertem Ammoniak widerspiegeln. Nicht ganz eindeutig liegen die Verhältnisse bei dem am 3. Dezember analysierten Wurzeln. Hier müssen, wie der niedrige Eiweißgehalt und die auffallend geringe Amino-N-Menge zeigen, Störungen bei der Eiweißsynthese vorgekommen sein. Dafür dürfte auch die deutliche Schädigung der Wurzelspitzen sprechen. Worauf aber alles dieses zurückzuführen ist, muß dahingestellt bleiben. Zu denken wäre an eine spezifische Wirkung der durch die Nitrifikation gebildeten Nitrite. Vielleicht kann hier auch ein Analysenfehler vorliegen. Die am 29. I. 29 analysierten Wurzeln lassen deutlich durch ihren geringen Gehalt an Gesamt-, Eiweiß-, und NH_4 -N erkennen, daß sie in der letzten Zeit an Stickstoffmangel gelitten haben. Das zeigt besonders auch ein Vergleich mit der Größe der N-Fractionen der am 26. XI. analysierten Wurzeln der Hungerpflanzen. Auf Frischgewicht bezogen haben NH_4 -N und Asparagin-N in beiden Fällen fast denselben Wert. Für den N-Mangel bei der Ernährung der am 29. I. 29 analysierten Wurzeln sprechen weiterhin auch der Wert des Verhältnisses Eiweiß-N zu löslichem N — 73:27 — und der große Anteil des Amino-N am löslichen Stickstoff. Die Analyse der jungen chlorotischen Blätter bestätigt unsere früheren Beobachtungen (Tabelle 5): Gesamt-N und Eiweiß-N erheblich mehr als in den Wurzeln, eine *sehr* starke Abnahme des Ammoniakstickstoffes und eine bedeutende Verschiebung des Verhältnisses NH_4 -N zu Asparagin-N zugunsten des letzteren.

Wird also das Wurzelwachstum fast vollständig unterbunden, so stellt sich zwischen dem NH_4 -Salzgehalt der Außenlösung und der Menge des präformierten Ammoniaks in den Wurzeln ein Gleichgewicht ein.

Tabelle 22.

Analysierter Pflanzenteil	Analyse begonnen am	Gesamt-N	Eiweiß-N	Löslicher N	Ammon-N	Doppelter Amid-N	Amino-N	Bemerkungen
Wurzel	19. XI.	0,307 100	0,166 54,1	0,141 45,9	0,039 12,7	0,060 19,5	0,042 13,7	
	24. XI.	0,330 100	0,177 53,6	0,153 46,4	0,041 12,4	0,070 21,2	0,042 12,8	
	27. XI.	0,365 100	0,184 50,4	0,181 49,6	0,040 11,0	0,090 24,7	0,051 13,9	
	29. XI.	0,371 100	0,223 60,1	0,148 39,9	0,026 7,01	0,076 20,5	0,046 12,4	Schwache Nitri- fikation
Junge chlorotische Blätter	3. XII.	0,311 100	0,178 57,2	0,133 42,8	0,026 8,36	0,092 29,6	0,015 4,80	(Stärkere Nitrifi- kation, hier Wurzeln deutl. geschädigt. Nitrit-Wirkung?)
	29. I. 1929	0,194 100	0,141 72,7	0,053 27,3	0,0033 1,70	0,015 7,73	0,035 17,9	Keine N-Salze mehr vorhanden
Wurzeln der Ausgangspflanzen	29. XI.	0,473 100	0,281 59,4	0,192 40,6	0,0093 1,97	0,126 26,6	0,057 12,0	
	26. XI.	0,156 100	0,108 69,2	0,048 30,8	0,0031 1,99	0,013 8,33	0,032 20,5	Vom 1.—26. XI. in reinem Leitungswasser

VI. Abschnitt.

Von besonderem Interesse ist bekanntlich schon seit einer Reihe von Jahrzehnten für den Pflanzenphysiologen und den Agrikulturchemiker das physiologische Verhalten des Ammoniumnitrates. Von PRIANISCHNIKOW ist 1900 und 1905 die Ansicht ausgesprochen worden, daß dieses Salz, da seine *beiden* Komponenten als Stickstoffquelle für die grüne Pflanze in Betracht kommen, physiologisch amphoterer Natur sei. Später — 1925, 1927 — hat der russische Forscher diese Ansicht stark eingeschränkt: „Wir sehen also, daß die physiologische Azidität von $\text{NH}_4\text{-NO}_3$ mit voller Klarheit hervortritt. Die Anzeichen der Amphoterität treten in unseren Versuchen weit schwächer auf; es ist möglich, daß es bestimmte Bedingungen gibt, bei denen diese Amphoterität sich besser äußert, aber diese Bedingungen sind noch nicht ausfindig gemacht. Wir müssen im allgemeinen feststellen, daß die physiologische Azidität in diesem Salze über seine Amphoterität dominiert.“ Zusammen mit DOMONTOVITCH hat 1926 der russische Forscher gezeigt, wie man die physiologische Azidität des Ammoniumnitrates durch Zusatz von Alkalinitraten hemmen und sogar aufheben kann. SCHULOW hat 1913 gezeigt, daß je nach der Entwicklung der Versuchspflanzen beim Mais NH_4NO_3 physiologisch neutral bzw. sogar physiologisch alkalisch sein kann. Diese Beobachtungen konnten in unserer ersten Arbeit bestätigt und erweitert werden. Es wurde besonders gezeigt, daß der p_{H} -Anfangswert der Nährlösung von erheblicher Bedeutung ist. Auch KAPPEN und LUKACZ (1925) fanden bei ihren Versuchen, daß Ammoniumnitrat physiologisch sauer und physiologisch alkalisch reagieren kann. Sie müssen aber vollständig die Frage offen lassen, unter welchen Bedingungen die beiden Formen in Erscheinung treten.

Unsere Auffassung ist, daß in Gegenwart eines NH_4 -Salzes in der Nährlösung in erster Linie das NH_3 - bzw. NH_4OH -Molekül und nicht das NH_4 -Salzmolekül aufgenommen wird, und daß weiterhin über die Geschwindigkeit, mit der der basische Anteil aus der Außenlösung verschwindet, das NH_3 -Gefälle zwischen dem Nährmedium und den resorbierenden Wurzelzellen entscheidet. Falls diese Überlegungen zu Recht bestehen, muß es möglich sein, bei Verwendung von NH_4NO_3 als N-Quelle und Änderung der Beleuchtungsstärken weiteres Material für die Richtigkeit unserer Arbeitshypothese beizubringen. Ferner dürfen wir aber auch erwarten, daß wir einen neuen Einblick in die physiologische Natur des Ammoniumnitrates erhalten.

Eine Reihe der vorhergehenden Versuche hat gezeigt, daß es in Gegenwart eines NH_4 -Salzes bei ungünstigen Beleuchtungsverhältnissen zu einer vollständigen Hemmung des Aziditätsanstieges kommen kann. Wegen Mangel an Kohlehydraten muß bei schlechten Tageslichtverhältnissen das dynamische Gleichgewicht zwischen der NH_3 -Tension der

Nährlösung und der NH_3 -Tension der resorbierenden Wurzelzellen sich stark einem statischen nähern, d. h. die Aufnahme des basischen Anteiles des Ammoniumnitrates, falls dieses als N-Quelle den Pflanzen dargeboten wird, muß um so kleiner werden, je ungünstiger die Assimilationsbedingungen sind. Wenn nun die Aufnahme des sauren Anteils von NH_4NO_3 ganz unabhängig vom NH_4 -Anteil erfolgt, so muß es eine Stelle geben, wo der Stickstoff als NO_3 schneller von den Wurzeln aufgenommen wird als in Form von NH_3 . Besonders deutlich muß dieses natürlich in Erscheinung treten, wenn von vornherein mit Pflanzen gearbeitet wird, die sehr reich an präformiertem Ammoniak sind. Sind schon bei Anstellung des Versuches die Zellen sehr reich an NH_4 -Salzen, so muß es sogar schon unter normalen Beleuchtungsverhältnissen, wenigstens zu Beginn des Versuches, zu einer Hemmung in der NH_3 -Aufnahme kommen. Ganz besonders stark wird dieses natürlich in Erscheinung treten, wenn der p_H -Wert der Außenlösung niedrig und damit natürlich auch der dort herrschende NH_3 -Druck sehr klein ist. Für die Richtigkeit dieser Ausführungen wollen wir zunächst einmal eine Reihe von Versuchen von PRIANISCHNIKOW (1927) und von PRIANISCHNIKOW und DOMONTOVITCH (1926) anführen. In der ersten Arbeit benutzte der russische Forscher Erbsenpflanzen, die er verschieden lange im Dunkeln gehalten hatte. Je mehr nun der Kohlehydratvorrat in den Pflanzen abgenommen hatte, je stärker also auch sehr wahrscheinlich der Vorrat an präformiertem Ammoniak zugenommen hatte, um so mehr verschob sich das Verhältnis aufgenommener NH_3 -N zu aufgenommenem NO_3 -N zu gunsten des letzteren. Dieses zeigen die folgenden Tabellen, die der Arbeit von PRIANISCHNIKOW entnommen sind.

Ammoniumnitratkonzentration		0,1 n	0,01 n	0,001 n	Bemerkungen	
Aufgenommener . . .	NH_3 -N	46,6	6,9	1,7	} Versuchsdauer 4 Stunden. 3 Woch. alte grüne Pflanzen.	
	NO_3 -N	8,0	2,2	0,8		
In Prozenten der gegebenen Menge	NH_3 -N	18,6	27,8	67,6		
	NO_3 -N	3,2	8,8	32,0		
Aufgenommener . . .	NH_3 -N	60,6	14,0	1,37		} Versuchsdauer 4 Stunden. Junge etiolierte Keimlinge.
	NO_3 -N	24,0	4,3	0,82		
In Prozenten der gegebenen Menge	NH_3 -N	22,4	52,1	51,6		
	NO_3 -N	9,0	16,0	30,8		
Aufgenommener . . .	NH_3 -N	48,2	3,7	0,62	} Versuchsdauer 4 Stunden. Ältere etiolierte Keimlinge. 15 Tage im Leitungswasser im Dunkeln gezogen.	
	NO_3 -N	82,2	15,9	1,19		
In Prozenten der gegebenen Menge	NH_3 -N	17,7	13,7	22,8		
	NO_3 -N	30,3	58,5	43,9		

Für diese Umkehrung der NH_3 -N- und NO_3 -N-Aufnahme durch die älteren, im Dunkeln gezogenen Keimlinge gibt aber PRIANISCH-

NIKOW eine sehr merkwürdige Erklärung, die vollständig von unserer abweicht. „Die Erbsenkeimlinge, die längere Zeit im Dunkeln wuchsen, den Kohlehydratvorrat stark erschöpft haben und im physiologischen Sinne ‚lupinenähnlich‘ geworden sind, mußten unter dem Einfluß des Ammoniumnitrats durch die Störung in den synthetischen Funktionen leiden und das Ammoniak in ihren Geweben anhäufen, sie konnten das *Ammoniak in das äußere Medium ausscheiden und in dieser Weise eine kleinere Aufnahmefähigkeit von NH_3 gegen HNO_3 vortäuschen.*“ Weiterhin ist PRIANISCHNIKOW der Ansicht, daß zwei Ursachen diese Ammoniakanhäufung und Ausscheidung begünstigen mußten. „1. Die Störung der Asparaginsynthese durch physiologisch saures Salz, 2. die Reduktion von HNO_3 , welche mit NH_4NO_3 ausgeführt wurde, zum Ammoniak ohne darauffolgende Synthese von Asparagin.“ Es wird also das Molekül NH_4NO_3 aufgenommen, NO_3 wird in NH_3 verwandelt. Dieser NH_3 -Stickstoff und der des Ammoniumnitrats werden in ihrer Weiterverarbeitung gehemmt, aufgespeichert und sogar ins Außenmedium ausgeschieden. Es geht also nach PRIANISCHNIKOW einer *NH_4NO_3 -Aufnahme eine NH_3 -Ausscheidung parallel.* Nach unserer Ansicht herrscht bei Verwendung von Keimlingen, die längere Zeit im Dunkeln gestanden haben, zwischen dem NH_3 -Druck der Außenlösung und dem in den Wurzelzellen wegen ihres großen Gehaltes an präformiertem Ammoniak ein so schwaches NH_3 -Diffusionsgefälle, daß jetzt die HNO_3 -Aufnahme, die ungehindert weiter gehen kann, größer ist als die NH_3 -Aufnahme. Die Ansicht von PRIANISCHNIKOW, daß durch physiologisch saure Salze die Asparaginsynthese gehemmt wird, muß, wie wir im Abschnitt IV gezeigt haben, als ganz unbewiesen gelten. Ja es spricht sogar mit großer Wahrscheinlichkeit ein Teil unserer Versuche direkt dagegen.

Eine starke Herabsetzung des NH_3 -Gefälles zwischen Außenmedium und resorbierenden Wurzelzellen muß natürlich auch durch Hemmung in der Weiterverarbeitung des in den Wurzeln befindlichen präformierten Ammoniaks möglich sein, wie es leicht durch starke Schwächung des Tageslichtes zu erreichen ist. Sollte nun jetzt in Gegenwart von NH_4NO_3 das Eindringen von NO_3 -N schneller erfolgen als das des Ammoniaks, so muß man dieses an einem p_H -Anstieg in der Nährlösung feststellen können, also an einer Umwandlung der physiologischen Azidität des Ammoniumnitrats in eine physiologische Alkalität. Daß dieses nun tatsächlich der Fall ist, zeigen zunächst einmal die Versuche auf S. 27, 33, 35. Außerdem wurden aber noch einige besondere Untersuchungen in dieser Hinsicht ausgeführt.

Am 19. X. 28 kamen 6×4 Pflanzen in eine vollständige Nährlösung, deren p_H -Wert auf 5,5 eingestellt war, und die 750 mg NH_4NO_3 als N-Quelle im Liter Lösung führte. Drei dieser Kulturen blieben im vollen Tageslicht, drei weitere kamen in das kleine Glashäuschen, dessen Wände

nur etwa $\frac{1}{3}$ des Tageslichtes durchließen. Im ersteren Falle trat in den Kulturen keine nennenswerte Reaktionsveränderung ein. Am 8. XI. 28 betrug in den drei Kulturgefäßen der p_H -Wert 5,5—5,6. Anders fiel der Versuch bei Schwächung des Lichtes aus. Der p_H -Wert stieg. Er betrug in diesen drei Kulturen am 8. XI. 28 6,3—6,4. Bei einer Parallelkultur in einem N-freien Nährmedium, die ebenfalls in dem Glashäuschen gestanden hatte, ließ sich am Ende des Versuches kein Ammoniak im Außenmedium nachweisen. Damit ist der Einwand entkräftet, daß der Alkalitätsanstieg in der Außenlösung in Gegenwart von NH_4NO_3 einfach dadurch zustande komme, daß bei den ungünstigen C-Assimilationsbedingungen in der Pflanze eine Veratmung von Eiweißsubstanzen erfolgt sei, und daß es dabei freiwerdendes Ammoniak sei, das, ins Außenmedium ausgetreten, dort den Alkalitätsanstieg bewirkt habe.

Zu gleicher Zeit mit allen diesen Versuchen kamen auch je vier 7 Wochen alte Maispflanzen, die schon mehr als 4 Wochen lang in einer vollständigen Nährlösung sich befunden hatten und deshalb sehr kräftige Sprosse und Wurzeln besaßen, in die Nährlösung vom p_H -Wert 5,5. Sie wurden im vollen Tageslicht weitergezogen. Bei allen diesen Kulturen kam es nicht zu einer Konstanz der Reaktion des Nährmediums, wie es bei Verwendung der kleinen Versuchspflanzen der Fall gewesen war, sondern zu einem erheblichen *Aziditätsanstieg*. Der p_H -Wert fiel in der gleichen Zeit um 0,7—0,8 Einheiten. Der kräftig entwickelte Sproß stellte die zu einer schnellen Verarbeitung des eingedrungenen Ammoniaks erforderlichen Kohlehydrate in diesem Falle in ausreichendem Maße zur Verfügung.

Eine weitere, ähnliche Versuchsreihe wurde am 15. XI. 28 angestellt, also zu einer Zeit, wo noch schlechtere Tageslichtverhältnisse herrschten. Der Anfangs- p_H -Wert betrug 5,9. Wegen der ungünstigen Assimilationsbedingungen fand jetzt auch im vollen Tageslicht ein Alkalitätsanstieg statt. Nach 11 Tagen war der p_H -Wert 6,7—6,8 erreicht. Im stark geschwächten Licht betrug er sogar zu dieser Zeit 7,0. Alle Wurzeln, die unteren Stengelteile, die älteren Blätter und die untersten Partien der jüngeren Blätter lieferten Preßsäfte, die mit Diphenylamin und Schwefelsäure stark positiv reagierten, also Nitratstickstoff gespeichert hatten.

Bei einer dritten Versuchsreihe, die am 13. II. 29 angesetzt wurde, kam ebenfalls dieselbe vollständige Nährlösung zur Anwendung. Der Anfangs- p_H -Wert betrug aber 7,1. Im vollen Licht fiel in dieser Karbonate führenden Lösung der Wasserstoffexponent in 8 Tagen auf 7,0. Im geschwächten Licht stieg er aber in derselben Zeit auf etwa 7,45. Auch ließen Parallelkulturen im Leitungswasser keine Ammoniakausscheidung in das Wasser erkennen.

Aus den Versuchen von PRIANINISCHNIKOW und unseren eigenen Untersuchungen geht hervor, daß in Gegenwart von Ammoniumnitrat als

N-Quelle die Aufnahme des basischen Anteiles dieses Salzes ganz unabhängig von der des sauren erfolgen muß. Wird dafür gesorgt, daß das NH_3 -Gefälle vom Außenmedium zu den Wurzelzellen sehr schwach ist, so nimmt die Pflanze den NO_3 -Stickstoff schneller auf als den NH_3 -N. Ein Alkalitätsanstieg ist dann die Folge. Das Ammoniumnitrat erweist sich in diesem Falle als ein physiologisch alkalisches Salz. Durch Änderung der Beleuchtungsstärken hat man es in der Hand, die „amphotere Natur“ des Ammoniumnitrats einwandfrei zu zeigen. Diese „Amphoterität“ wird auch nur an Hand unserer Arbeitshypothese verständlich.

Aber noch auf eine andere Weise gestattet gerade Ammoniumnitrat als N-Quelle die Prüfung unserer Arbeitshypothese. Wie wir zeigen konnten, nimmt mit fallendem p_{H} -Wert der Nährlösung die Aufnahme des basischen Anteiles eines Ammoniumsalzes ständig ab. Verwendet man nun NH_4NO_3 , so muß sich mit fallendem p_{H} -Wert auch im Licht die aufgenommene NO_3 -N-Menge der aufgenommenen NH_3 -N-Menge immer mehr nähern, und von einer bestimmten Stelle ab darf kein Aziditätsanstieg mehr erfolgen. Es muß sich hier die NO_3 -N-Aufnahmekurve mit der NH_3 -N-Aufnahmekurve schneiden, natürlich nur unter der Voraussetzung, daß nicht auch erstere mit fallendem p_{H} -Wert eine ständige Verminderung erfährt. Hiergegen sprechen allerdings die Angaben von WARBURG und NEGELEIN (1920), HOAGLAND (1919/1920), HOAGLAND und DAVIS (1913), THEBON (1924), KLEIN und KISSER (1925) und KUSNETZOW (1925). Diese alle beobachteten, daß bei niedrigen p_{H} -Werten größere NO_3 -Mengen aufgenommen werden als bei höheren. Auch für die Richtigkeit dieser Überlegungen lieferten uns wieder PRJANISCHNIKOW und DOMONTOVITCH (1926) und PRJANISCHNIKOW (1927) sehr gute Beispiele. Die russischen Forscher haben die Aufnahme von NO_3 -N und NH_3 -N aus einer schwach sauren und stärker sauren NH_4NO_3 -Lösung durch Hafer- und Bohnenwurzeln untersucht. In den meisten Fällen machten sie die Beobachtung, daß durch Ansäuerung die NO_3 -N-Aufnahme gefördert und die NH_3 -N-Aufnahme gehemmt wurde. PRJANISCHNIKOW berichtet 1927, daß durch Ansäuerung bei der Gerste der aufgenommene NH_3 -N von 64 mg auf 50 mg gedrückt wurde, während der NO_3 -N eine Steigerung von 26 auf 33 mg erfuhr. Aber auch hier ist er der Ansicht, daß die *Ausscheidung von Ammoniak* die Ursache dieser Verschiebung ist.

Als weiteren Beweis für die Richtigkeit unserer Überlegungen kann man auch die bekannte Erscheinung anführen, daß der p_{H} -Endwert, der sich in Gegenwart von NH_4NO_3 unter dem Einfluß der wachsenden Pflanzen in der Nährlösung einstellt, sehr viel höher liegt als in Gegenwart von NH_4Cl oder $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. War NH_4NO_3 als N-Quelle in der Lösung, so kam bei allen unseren Versuchen der Aziditätsanstieg schon bei etwa p_{H} 3,1 zum Stillstand, während in Gegenwart von $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ als N-

Quelle p_H -Werte von 2,4 gemessen wurden. Bei p_H 3,1 müssen sich also schon NH_3 -N- und NO_3 -N-Aufnahmen die Wage halten. Von ganz besonderem Interesse dürfte an dieser Stelle ein Hinweis auf Untersuchungen sein, die W. L. S. BUTKEWITSCH und W. W. BUTKEWITSCH im Jahre 1928 veröffentlicht haben. Diese beiden Forscher haben die Wechselwirkung von Ionen bei Diffusionsvorgängen durch Kollodiummembranen untersucht. „Aus einer NH_4NO_3 -Lösung diffundieren die Salzkomponenten (NH_4 und NO_3) durch Kollodiummembran in äquivalenten Mengen nur bei p_H 3,0. Geht die aktuelle Azidität herunter, so nimmt die Diffusionsgeschwindigkeit für NO_3 ab und für NH_4 zu. Bei etwa neutraler Reaktion passiert NH_4 die Kollodiummembran in überwiegender Menge, was sich auch an den lebenden Zellen beobachten läßt.“ Bei p_H 8,0 war das Äquivalentverhältnis $NH_4 : NO_3 = 1,5$! Besonders auffällig dürfte es nun sein, daß der von uns beobachtete p_H -Wert, bei dem von den Maiswurzeln der basische und der saure Anteil des Ammoniumnitrates gleich schnell aufgenommen wird, derselbe ist wie derjenige, bei dem in den Versuchen von BUTKEWITSCH das Äquivalentverhältnis $NH_4 : NO_3 = 1$ ist.

VII. Abschnitt.

Bei unseren Versuchen hatten wir die Beobachtung gemacht, daß im Winter die Wurzelschädigung bei Ammoniakvergiftung einen bei weitem nicht so schnellen Verlauf nahm wie im Sommer, obwohl die Menge präformierten Ammoniaks, die in den Wurzeln angetroffen wurde, im Winter erheblich größer war als im Sommer. Nun gibt uns natürlich die Menge des gefundenen präformierten Ammoniaks, die den basischen Anteil der NH_4 -Salze und das freie Ammoniak umfaßt, nicht an, wie groß die NH_3 -Menge in den Wurzeln ist. Wie aber schon in der ersten Arbeit auseinandergesetzt worden ist, ist es das freie Ammoniak, dem die Giftwirkung auf die Zellen zugesprochen werden muß, und nicht der NH_4 -Anteil der Ammoniumsalze. Zwei Möglichkeiten dürfte es geben, um die Beobachtung zu erklären, daß die Ammoniakschäden im Winter sehr viel langsamer verlaufen als im Sommer. Zunächst wäre damit zu rechnen, daß die Zellen der Maiswurzeln im Winter unempfindlicher sind als im Sommer und es sich etwa um eine autonome Periodizität handelt. Weiterhin muß aber auch in Erwägung gezogen werden, ob nicht diese herabgesetzte Empfindlichkeit nur eine scheinbare ist, die durch Unterschiede in der Außenlösung vorgetäuscht worden ist. Um diese Möglichkeit zu prüfen, wollen wir einmal von der Voraussetzung ausgehen, daß im Sommer und im Winter alles eingedrungene Ammoniak zunächst in das NH_4 -Salz einer organischen Säure überführt wird. Es muß dann in jeder Zelle eine bestimmte NH_3 -Tension herrschen, die bestimmt wird durch die *Konzentration* der NH_4 -Salze, durch die *Reaktion* in der Zelle und durch die

Temperatur. Temperatursteigerung, Aziditätsabfall und NH_4 -Salzzunahme sind alles Faktoren, die die hydrolytische Spaltung der NH_4 -Salze fördern und damit eine Erhöhung der NH_3 -Tension bewirken. Zunächst wären nun daran zu denken, daß im Winter die Reaktion des Zellsaftes und die des Protoplasmas stark nach der sauren Seite verschoben sind, und daß trotz gleicher oder vielleicht sogar größerer Salzkonzentration eine geringere NH_3 -Tension in den Wurzeln herrscht. Wurzelpreßsäfte müßten dann allerdings diesen Unterschied in ihrem p_{H} -Werte widerspiegeln. Da dieses aber nicht der Fall gewesen ist, so scheidet diese Annahme aus. Wie liegen aber die Verhältnisse, wenn wir den Temperaturfaktor ins Auge fassen? Im Winter herrschen durchschnittlich in den Nährlösungen und damit auch ungefähr in den in sie eintauchenden Wurzelteilen Temperaturen von 12—17°. Im Sommer betragen die Durchschnittswerte etwa 20—26°. In den Mittagsstunden waren sie sogar noch erheblich größer. Bei gleicher NH_4 -Salzkonzentration in der Außenlösung müssen daher in der warmen Jahreszeit im Nährmedium höhere NH_3 -Tensionen herrschen als im Winter. Dieselben Überlegungen müssen natürlich auch für die NH_3 -Drucke im Innern der Pflanzenzellen gelten. Es können also bei tieferen Temperaturen und bei gleicher Reaktion erst größere NH_4 -Salzkonzentrationen dieselbe NH_3 -Tension besitzen, wie sie schon kleinere Ammoniumsalzmengen bei höherer Temperatur aufweisen. Aus diesem Grunde wäre schon die Beobachtung verständlich, daß bei der Wahl des Frischgewichtes als Bezugsgröße im Winter größere Mengen präformierten Ammoniaks von kleineren oder gleichen Wurzelschäden begleitet sind als im Sommer kleinere Mengen. Wenn wir aber weiterhin die engen Beziehungen zwischen dem NH_3 -Druck im Außenmedium und dem in den resorbierenden Zellen in Betracht ziehen, so müssen wir schließen, daß im Winter bei gleichen Ammoniumsalzmengen in der Nährlösung die aufnehmenden Wurzelteile unter einem schwächeren NH_3 -Druck gestanden haben als in der warmen Jahreszeit. Es ist daher kaum anzunehmen, daß bei den Winterversuchen diese *Wurzelzonen* tatsächlich in den einzelnen Zellen soviel mehr präformiertes Ammoniak geführt haben als die entsprechenden Teile der Sommerpflanzen, eine Annahme, zu der man auf Grund unserer Analyseergebnisse kommen kann, wenn man die Tatsache außer acht läßt, daß die ganzen Wurzeln und nicht allein die aufnehmenden Teile zu den N-Bestimmungen benutzt wurden. Die hohen Werte für die NH_4 -Fraktion im Winter werden allein darauf zurückgeführt werden müssen, wie schon S. 57 ausgeführt worden ist, daß zu dieser Jahreszeit das Gefälle der NH_4 -Salze von den jüngsten zu den ältesten Zellen ein sehr schwaches gewesen ist, also auch die nicht resorbierenden Teile relativ stark mit präformiertem Ammoniak angefüllt gewesen sind, während im Sommer wegen des in die Wurzeln von den Blättern her sich ergießenden Kohle-

hydratstromes die NH_4 -Salze in den älteren Wurzelteilen sehr viel intensiver weiter verarbeitet werden und so eine schnelle Abnahme erfahren.

Die folgenden Untersuchungen wurden ausgeführt, um zu prüfen, ob die Empfindlichkeit der Wurzelzellen gegen Ammoniumsalze im Winter herabgesetzt ist, oder ob unsere anderen Überlegungen zu Recht bestehen. Die Versuche wurden, um schnell einwandfreie Ergebnisse zu erhalten, im Dunkeln angestellt; denn die Versuchspflanzen, denen die Samen und die Hauptwurzeln genommen sind, und die obendrein noch einige Wochen in an N-Verbindungen freiem Leitungswasser gestanden haben, können nur noch sehr geringe Eiweißreserven besessen haben. Nicht viel günstiger dürfte es aber mit ihren Vorräten an Kohlehydraten gewesen sein, da die Pflanzen in den lichtarmen Wintermonaten aufgezogen worden sind. Werden derartige Pflanzen bei den Versuchen im Dunkeln gehalten, so muß sich natürlich eine Ammoniakvergiftung sehr schnell bemerkbar machen, sei es, daß das Ammoniak von außen zugeführt wird, sei es, daß es infolge Desaminierung in den Zellen entsteht. Schon im Juli und August der Jahre 1927 und 1928 ließ sich beobachten, daß solche Hungerpflanzen bei Abschluß des Lichtes in einem N-freien Nährmedium in wenigen Tagen abstarben. Noch schneller trat der Tod ein, wenn sich die Pflanzen bei neutraler Reaktion in einer ein NH_4 -Salz führenden Nährlösung befanden. Sollten nun tatsächlich die Maispflanzen im Winter eine größere Widerstandsfähigkeit besitzen, so muß sich in dieser Jahreszeit auch dann diese geringere Empfindlichkeit zu erkennen geben, wenn sie bei etwa denselben Temperaturen gehalten werden wie im Sommer. Zu den neuen Untersuchungen wurde eine vollständige Nährlösung benutzt, die als N-Quelle 200 mg $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ im Liter Lösungsmittel führte. Der pH -Wert betrug 7,0. Ein Teil der Versuchspflanzen kam in einen im Gewächshaus stehenden Thermostaten mit elektrischer Heizung, der auf die Temperatur von 24° eingestellt war. Der zweite Teil der Kulturen befand sich in einem ganz schwach geheiztem Raume des Versuchsgewächshauses. Die Temperatur in der Nährlösung dieser Kulturen schwankte zwischen 9 und 12° . Der erste Versuch begann am 15. I. 29. Nach zweimal 24 Stunden wurde ein Teil der Wurzeln analysiert. Nach dreimal 24 Stunden zeigten die Wurzeln der im Thermostaten befindlichen Pflanzen sehr starke Schäden. Nach viermal 24 Stunden waren alle Wurzeln dort abgestorben und verschleimt. Nach fünfmal 24 Stunden waren auch fast alle Sprosse eingegangen. Bei den Wurzeln der bei den tieferen Temperaturen gehaltenen Pflanzen zeigten sich die ersten Wurzelschäden frühestens nach 8 Tagen und erst nach 14 Tagen waren alle Pflanzen zugrunde gegangen. Die Tabelle 23 gibt die für die N-Fractionen erhaltenen Werte der Wurzeln wieder, die zweimal 24 Stunden lang sich in den Versuchslösungen befunden hatten.

Der Gesamt-N hat, wie die Tabelle 23 zeigt, in beiden Fällen eine er-

Tabelle 23.

Analyse- Pflanzenteil	Temperatur	'Analyse begonnen am	Gesamt-N	Eiweiß-N	Löslicher N	Ammon-N	Doppelter Amid-N	Amino-N
Wurzeln	Ausgangs- material 9—12°	15. I. 1929	0,211	0,154	0,057	0,0056	0,022	0,029
			100	73,0	27,0	2,66	10,4	13,9
	24°	17. I. 1929	0,277	0,146	0,131	0,056	0,056	0,019
100			52,7	47,3	20,2	20,2	6,90	
		17. I. 1929	0,290	0,140	0,150	0,066	0,088	0,046
			100	48,3	51,7	23,8	13,1	15,8

hebliche Steigerung erfahren, und zwar bei der höheren Temperatur im stärksten Maße. Diese N-Zunahme kommt aber nur auf Konto des löslichen Stickstoffes. Von den drei Fraktionen des löslichen Stickstoffes hat der $\text{NH}_4\text{-N}$ bei weitem die stärkste Steigerung erfahren. Eine Asparaginsynthese hat nur in ganz bescheidenem Maße, besonders bei den im Thermostaten befindlichen Pflanzen, stattgefunden. Der Eiweißstickstoff hat sich, wie zu erwarten war, in beiden Fällen vermindert. Es hat hier offensichtlich ein Eiweißabbau stattgefunden. Vielleicht ist eine Eiweißveratmung erfolgt, die um so stärker gewesen ist, je höher die Temperatur war. Bei den geringen Kohlehydratreserven, dieses geht aus dem niedrigen Wert des Verhältnisses Eiweiß-N: löslichem N und aus dem großen Anteil des präformierten Ammoniak-N am löslichen Stickstoff hervor, hat diese Annahme wohl eine große Wahrscheinlichkeit für sich. Weiterhin muß aber auch darauf hingewiesen werden, daß die Eiweißstoffe unter Umständen nur hydrolisiert worden sind, um mit Hilfe der freiwerdenden Aminosäuren das eingedrungene Ammoniak unter Amidbildung zu entgiften.

Die an Hand dieser Versuche gemachten Beobachtungen zeigen uns, daß im Winter die Empfindlichkeit der Maiswurzeln gegen Ammoniakvergiftung dieselbe ist wie im Sommer, wenn nur die Temperatur in der Nährlösung hoch genug ist. Die Beobachtung, daß bei gleichen $\text{NH}_4\text{-Salz}$ mengen im Nährmedium die Versuchspflanzen im Winter trotz ungünstiger Lichtverhältnisse geringere Wurzelschäden zeigen als im Sommer, dürfte in erster Linie eine Folge der durch den Temperaturabfall bedingten Zurückdrängung der hydrolytischen Spaltung der Ammoniumsalze im Außenmedium und in den resorbierenden Wurzelzellen sein. Damit soll natürlich keineswegs die Möglichkeit von der Hand gewiesen werden, daß die

Empfindlichkeit des Protoplasten gegen gleiche *Ammoniakmengen* mit fallender Temperatur abnimmt. Das sehr schnelle Absterben der Wurzeln, aber auch das der Sprosse bei der höheren Temperatur ist nun aber nicht allein eine Folge der höheren NH_3 -Tension des $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ in der Nährlösung, sondern muß auch, wie der nächste Versuch zeigen wird, eine Folge der stärkeren Atmung sein. Es werden dadurch die Möglichkeiten, eingedrungenes Ammoniak zu entgiften, in immer stärkerem Maße vermindert, ja es muß sogar bei einer Eiweißveratmung, die mit einer Desaminierung verbunden ist, besonders in den Sproßteilen zu einer Vermehrung des giftigen Ammoniaks kommen.

Um noch mehr Beweismaterial für die Richtigkeit dieser Ausführungen zu gewinnen, wurden einige Wochen später diese Versuche noch einmal in stark erweiterter Form wiederholt. Ein Drittel der Versuchspflanzen kam in reines Leitungswasser, das zweite Drittel in eine vollständige Nährlösung vom Anfangs- p_H -Wert 7,0 und das letzte Drittel ebenfalls in eine vollständige Nährlösung, aber vom p_H -Wert 5,5. Als N-Quelle wurden den beiden letzten Kulturreihen 200 mg $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ im Liter Lösungsmittel gegeben. Die eine Hälfte aller Kulturen kam wieder in den Thermostaten, der auf 24° eingestellt war, die andere wurde im Dunkeln bei $8\text{--}12^\circ$ im Gewächshaus weitergezogen. Nach dreimal 24 Stunden wurde ein Teil der Wurzeln abgeschnitten und analysiert. Auch bei diesen Versuchen starben bei 24° die Pflanzen sehr viel schneller ab als bei den tiefen Temperaturen. Im ersten Falle traten schon nach dreimal 24 Stunden bei p_H 7,0 an den Wurzelspitzen deutliche Schäden auf. 24 Stunden später waren alle in die Lösung eintauchenden Wurzelteile abgestorben. Die Sprosse lebten aber noch. Die Blätter hatten allerdings eine gelbgrüne Farbe angenommen. Erst 48 Stunden später waren auch alle oberirdischen Teile zugrunde gegangen. *Schädigung und Tod beginnen also an den Wurzelspitzen und greifen dann auf die älteren Wurzelteile und zuletzt auf die Sprosse über.* Ganz anders verhielten sich die Versuchspflanzen in der sauren Nährlösung und im Leitungswasser. Nach fünfmal 24 Stunden waren die in die Nährlösung eintauchenden Wurzelteile noch vollständig ohne die geringsten Schäden und schneeweiß, die Sproßbasis war aber schon erheblich geschädigt, und es entwickelten sich an ihr Pilze. Nach weiteren 24—48 Stunden vertrockneten die meisten Sprosse. Die Wurzelspitzen waren auch jetzt noch schneeweiß, während die über der Lösung sich befindenden Wurzelteile und die Sproßbasis glasig und angefault waren. Erst nach weiteren 48 Stunden griff das Abfaulen auch auf die jüngeren Wurzelteile über. Dieselbe Erscheinung, *daß die Schäden und Absterbeerscheinungen von den nicht in die Lösung eintauchenden Wurzelteilen und der Stengelbasis ihren Ursprung nehmen und sich die jüngsten Wurzelteile als die widerstandsfähigsten erweisen*, ließ sich auch bei den Pflanzen beobachten, die sich

im reinen Leitungswasser befanden. Allerdings traten die ersten Schäden etwa 24 Stunden später ein als bei den bei p_H 5,5 gezogenen Pflanzen.

Bei 8—12° erwiesen sich alle Pflanzen als erheblich widerstandsfähiger. Am schnellsten gingen auch hier die bei p_H 7,0 gezogenen Pflanzen zugrunde. Auch hier starben zuerst die jüngsten Wurzelteile und erst später die Sprosse ab. Aber erst nach zwölfmal 24 Stunden waren alle Pflanzen tot. Die bei p_H 5,5 gezogenen Pflanzen ließen auch in dieser Versuchsreihe gerade wieder die umgekehrten Verhältnisse erkennen. Wenn schon längst Sproßbasis und die in sie einmündenden Wurzelteile Verglasung, Fäulnis und Pilzbefall zeigten, waren die jüngeren Wurzelabschnitte noch schneeweiß. Man konnte nach 16—17-tägiger Versuchsdauer beobachten, daß Wurzeln, die über der Lösung abgefaut waren und jetzt im Nährmedium lagen, an ihren jüngeren Teilen noch schneeweiß waren und auch noch nicht die geringsten Wurzelspitzenbeschäden erkennen ließen. Die in Leitungswasser gezogenen Pflanzen zeigten dieselbe Reihenfolge der Absterbeerscheinungen wie die vorhergehenden Pflanzen, allerdings waren sie von allen Pflanzen die widerstandsfähigsten. Nach 18—19 Tagen waren aber auch hier fast alle Sprosse abgestorben. Die nach 3-tägiger Versuchsdauer in den Wurzeln herrschenden N-Verhältnisse gibt Tabelle 24 wieder.

Tabelle 24.

Temperatur	Nährmedium	Gesamt-N	Eiweiß-N	Löslicher N	Ammon-N	Doppelter Amid-N	Amino-N	
Ausgangspflanzen (13. II. 1929)		0,247	0,178	0,069	0,0030	0,029	0,037	
		100	72,1	27,9	1,21	11,7	15,0	
8—12° (16. II. 29)	Leitungswasser	0,232	0,157	0,075	0,0027	0,019	0,053	
		100	67,7	32,3	1,16	8,19	22,9	
	Vollständige Nährlösung	p_H 5,5	0,307	0,169	0,138	0,018	0,051	0,069
		p_H 7,0	0,385	0,175	0,210	0,062	0,092	0,056
24° (16. II. 29)	Leitungswasser	0,210	0,123	0,087	0,0045	0,037	0,045	
		100	58,6	41,4	2,14	17,6	21,7	
	Vollständige Nährlösung	p_H 5,5	0,240	0,128	0,112	0,015	0,050	0,047
		p_H 7,0	0,318	0,125	0,193	0,092	0,048	0,053
		100	39,3	60,7	28,9	15,1	16,7	

Nur bei den Hungerpflanzen hat der Gesamtstickstoff eine deutliche Abnahme erfahren, sonst hat mit einer Ausnahme eine Steigerung desselben stattgefunden, und zwar bei p_H 7,0 stärker als bei 5,5. Gegenüber

dem vorhergehenden Versuch, bei dem die Pflanzen schon 24 Stunden früher analysiert worden sind — also nach 48stündiger Versuchsdauer —, ist aber jetzt bei der niedrigen Temperatur die Gesamt-N-Menge *größer* als bei den entsprechenden, bei 24° gezogenen Pflanzen. Diese Überschneidung ist einmal die Folge eines verschieden starken Eiweißabbaues, weiterhin muß sich aber bei 24° auch erheblich früher ein Mangel an Kohlehydraten bemerkbar machen, so daß hier früher die Stoffe fehlen, um das eingedrungene Ammoniak zu binden. Der Eiweißstickstoff hat innerhalb dreimal 24 Stunden bei 24° bei allen Kulturen um etwa 30% abgenommen. Die Stickstoffzufuhr scheint bei dieser Temperatur auf die Hydrolyse der Eiweißverbindungen ohne besonderen Einfluß geblieben zu sein. Bei 8—12° hingegen erfolgte sie, wie auch erwartet werden mußte, sehr viel langsamer; auch wurde hier allem Anscheine nach der Eiweißabbau durch N-Zufuhr gehemmt. Wie ungünstig das Verhältnis gebundenen Kohlenstoffs zu gebundenem Stickstoff bei allen unseren Dunkelpflanzen wird, das geht am besten aus dem Verhältnis Eiweiß-N : löslichem N hervor. Erhöhung der Temperatur und Verminderung der Azidität sind zwei Faktoren, die neben dem Lichtmangel das C : N-Verhältnis weiter zugunsten des Stickstoffes verschieben. Am ungünstigsten stehen in dieser Hinsicht die bei 24° und bei p_H 7,0 in vollständiger Nährlösung gezogenen Pflanzenwurzeln da. Dieses zeigt uns einmal der hohe Gehalt an präformiertem Ammoniak, sodann aber auch noch das Verhältnis Asparagin-N : Ammon-N. Bei niedriger Temperatur beträgt dieses noch 24 : 16, ist also erheblich größer als 1, bei 24° aber nur noch 15 : 29, also ungefähr $\frac{1}{2}$. Die Verhältnisse haben sich also vollständig umgekehrt. Infolge des starken Verbrauches an Atmungsmaterial fehlt hier die Substanz zu einer nennenswerten Asparaginsynthese. Der große Gehalt an präformiertem Ammoniak muß, wie ein Vergleich mit dem entsprechenden Versuche in Leitungswasser zeigt, fast vollständig auf Konto von Ammoniak gesetzt werden, das von *außen* eingedrungen ist. Andererseits kann man doch schon beobachten, daß ein kleiner Teil des präformierten Ammoniaks seinen Ursprung einer bei der Eiweißveratmung erfolgenden Desaminierung verdankt. Diese Menge ist aber noch so gering, daß keine Ammoniakvergiftung der Zellen erfolgen kann. Die starke Wurzelspitzenschädigung muß eine Folge des von *außen* eingedrungenen Ammoniaks sein. Es wird schon am 3. Tage die Pflanze nicht mehr imstande gewesen sein, die für sie tödliche NH_3 -Tension in den resorbierenden Wurzelteilen herabzusetzen. Erheblich günstiger müssen zu dieser Zeit noch die Verhältnisse in den Sproßzellen liegen, denn hier treten Schädigung und Tod, wie gezeigt wurde, bedeutend später ein.

Bei den niedrigen Temperaturen treffen wir bei p_H 7,0 dieselben Erscheinungen. Allerdings erfährt alles wegen der schwächeren Atmung und des dadurch bedingten langsameren Eiweißabbaues und wegen der

niedrigeren NH_3 -Tension der Außenlösung eine starke Verzögerung. Da das Absterben aber auch hier an den Wurzelspitzen beginnt und erst später auf die oberirdischen Teile übergreift, so müssen wir in diesem Falle schließen, daß in den Wurzelzellen die kritische NH_3 -Tension sich ebenfalls früher einstellt als in den Sproßzellen.

Ganz andere Verhältnisse können wir erwarten, wenn infolge des kleinen p_{H} -Wertes nur eine schwache NH_3 -Tension in der Nährlösung herrscht, oder wenn dort überhaupt keine NH_4 -Salze vorhanden sind. Von seiten der Außenlösung kann jetzt überhaupt nicht die schädliche NH_3 -Grenze in der Pflanzenzelle hervorgerufen werden. Wenn in diesem Falle infolge der Eiweißveratmung ständig in allen Pflanzenteilen das freie Ammoniak zunimmt, so muß in einem NH_4 -Salz freien Nährmedium die Außenlösung auf das in den Wurzelzellen auftretende Ammoniak als Vakuum einwirken und dadurch in diesen Zellen die NH_3 -Tension herabsetzen. Die nicht in das Wasser eintauchenden Wurzelteile und die oberirdischen Teile müssen jetzt erheblich schlechter dastehen. Wie unsere Versuche gezeigt haben, ist dieses bei den im Leitungswasser befindlichen Pflanzen auch tatsächlich der Fall. Die jüngeren Wurzelteile haben sich als erheblich widerstandsfähiger erwiesen als die nicht in die Nährlösung eintauchenden Teile der Versuchspflanzen. Hat tatsächlich das NH_4 -salzfreie Leitungswasser als Vakuum für das in den Wurzelzellen auftretende Ammoniak gedient, so muß sich natürlich jetzt auch Ammoniak im Außenmedium nachweisen lassen. Die Probe mit NESSLERSchem Reagenz fiel bei 24° und auch bei $8-12^\circ$ positiv aus; allerdings war im zweiten Falle eine sehr viel längere Versuchsdauer notwendig. *Es kann also im Dunkeln bei neutraler Reaktion Ammoniak, das bei der Eiweißveratmung entstanden ist, aus den Wurzelzellen in das NH_4 -salzfreie Nährmedium austreten* (siehe auch BUTKÉWITSCH 1909, 1912).

Ganz ähnliche Verhältnisse treffen wir auch bei den Pflanzen, die bei p_{H} 5,5 in vollständiger Nährlösung gezogen worden sind. Hier erweisen sich ebenfalls die jüngsten Wurzelteile als sehr viel widerstandsfähiger als die Sproßbasis und die nicht ins Nährmedium eintauchenden älteren Wurzelzonen. Obwohl in diesem Falle die Außenlösung ein NH_4 -Salz führt, so muß doch wegen der sauren Reaktion des Nährmediums die in ihr herrschende NH_3 -Tension so schwach gewesen sein, daß noch ein NH_3 -Austritt aus den Wurzelzellen möglich gewesen ist. Es verläuft also hier das NH_3 -Gefälle von innen nach außen und nicht wie bei p_{H} 7,0 von außen nach innen. Der Ammoniakaustritt mußte sich in diesem Falle durch einen Aziditätsabfall zu erkennen geben. Dieses war bei unseren Versuchen auch tatsächlich der Fall. Bei $8-12^\circ$ fand in den ersten sieben Tagen eine Verschiebung der p_{H} -Werte von 5,5 auf 6,0 statt.

Die vorliegende Versuchsreihe hat also ebenfalls die Richtigkeit unserer Überlegungen im weitesten Maße bestätigt.

Zusammenfassung und Besprechung der wichtigsten Ergebnisse.

1. Werden dem Mais Ammoniumsalze starker Säuren als Stickstoffquellen dargeboten, so verschwindet der basische Anteil dieser Salze um so schneller aus der Lösung, je größer der p_H -Wert des Nährmediums ist. Diese Abhängigkeit der NH_4 -N-Aufnahme von der Reaktion der Nährlösung spiegelt sich auch sehr deutlich im N-Haushalt der Versuchspflanzen und zwar besonders in dem ihrer Wurzeln wider. Bei gleicher Ammoniaksalzmenge im Außenmedium ist der Gehalt an präformiertem Ammoniak und Asparagin um so größer, je geringer die Wasserstoffionenkonzentration der Nährlösung ist. Im Sommer ist das Verhältnis Asparagin-N zu Ammon-N erheblich größer als im Winter. Im letzteren Falle findet wegen der ungünstigen CO_2 -Assimilationsbedingungen ein bevorzugter Anstieg des NH_4 -N statt, wohingegen im Sommer stets Asparagin in größerer Menge gebildet wurde. Sind die Bedingungen für die Kohlenstoffassimilation besonders günstig, so geht auch der gesteigerten NH_3 -N-Aufnahme ein deutlicher Anstieg des Eiweißstickstoffs in den Wurzeln, besonders aber in den verschiedenen Teilen des Sprosses parallel.

Als ein besonders geeigneter Maßstab für das Eindringen von NH_3 -N aus dem Außenmedium in die Wurzeln der Versuchspflanzen hat sich das Verhältnis Eiweiß-N zu löslichem N erwiesen. Im Sommer hat dieses bei normal mit Stickstoff versorgten Pflanzen in den Maiswurzeln den Wert 70:30. Werden nun gleiche NH_4 -Salzmengen bei steigenden p_H -Werten den Pflanzen dargeboten, so wird dieses Verhältnis um so kleiner, je größer der Wasserstoffexponent gewesen ist. Dieser Vergleichsmaßstab gilt natürlich nur dann, wenn die Versuche zu derselben Zeit angestellt und alle Kulturen denselben Außenbedingungen ausgesetzt worden sind.

Die starken Wurzelschäden, die in neutral- bis alkalisch reagierenden NH_4 -Salz führenden Nährlösungen bei den Maispflanzen beobachtet werden, und der hohe Gehalt der Wurzeln an NH_4 -N und besonders Asparagin-N zeigen deutlich, daß eine starke Überschwemmung der Pflanzenwurzeln mit Ammoniak-N bei diesen p_H -Werten erfolgt. Gerade umgekehrte Verhältnisse treffen wir, wenn z. B. $(NH_4)_2SO_4$ in stark sauren Lösungen den Maispflanzen als N-Quelle dargeboten wird, vorausgesetzt, daß die H-Ionenkonzentration noch nicht die Wurzeln schädigt und deren Wachstum noch möglich ist. In diesem Falle werden von den Pflanzen Wurzeln gebildet, die dieselbe Form zeigen, wie diejenigen, welche in einem N-freien Nährmedium entstanden sind. Sie sind auffallend lang und dünn. Dieser Ähnlichkeit im Habitus der Wurzeln geht auch eine stärkere Annäherung im N-Haushalt parallel: hoher Wert des Verhältnisses Eiweiß-N: löslichem N, kleiner Gehalt an Gesamt-, NH_4 - und Asparagin-N.

Außer den Änderungen in der ein NH_4 -Salz führenden Nährlösung zeigen auch die Verhältnisse im N-Haushalte der Maispflanzen bei Er-

nährung mit Ammonstickstoff, daß die Reaktion des Nährmediums einer der wichtigsten Faktoren ist, die darüber entscheiden, in welchem Maße der Stickstoff eines Ammoniumsalzes von den Wurzeln aufgenommen wird. Weiterhin sprechen alle unsere Ergebnisse in einwandfreier Weise für die Richtigkeit unserer Annahme, daß diese Abhängigkeit der N-Aufnahme in ursächlichem Zusammenhang steht mit dem Grade der hydrolytischen Spaltung des Ammoniumsalzes in der Außenlösung.

2. Unsere Versuche sind aber auch weiterhin geeignet zur Beantwortung der Frage beizutragen, in welcher Form der Stickstoff der NH_4 -Salze in erster Linie eindringt, und wie etwa eingedrungenes Ammoniak weiter verarbeitet wird. Schon seit langem, vor allen Dingen durch die Untersuchungen von PRIANISCHNIKOW und seinen Mitarbeitern wissen wir, daß Asparagin dann in größeren Mengen in den pflanzlichen Geweben auftritt, wenn das Verhältnis von gebundenem Kohlenstoff zu gebundenem Stickstoff eine starke Verschiebung zugunsten des letzteren erfährt, sei es, daß bei normaler N-Zufuhr in den Pflanzen großer Kohlehydratmangel herrscht, oder daß von den Wurzeln her eine im Verhältnis zur bestehenden normalen CO_2 -Assimilation viel zu große Zufuhr von gebundenem Stickstoff erfolgt. Weiterhin haben aber alle die älteren Untersuchungen gezeigt, daß bei diesen Vorgängen zuerst Ammoniak in übernormalem Maße auftritt, und daß dieses es ist, welches die starke Asparaginbildung direkt bedingt. Asparagin stellt also, wie wohl jetzt allgemein angenommen wird, eine Entgiftungsstufe des Ammoniaks dar — siehe die Ausführung bei MOTHEs 1929. Das starke Auftreten von Asparagin bei unseren Maispflanzen in Gegenwart von NH_4 -N im Nährmedium bei neutraler bis alkalischer Reaktion beweist nun, daß auch hier in den Wurzelzellen freies Ammoniak in anormal großer Menge aufgetreten sein muß. Es kann dieses natürlich nur dem Außenmedium entstammen, dabei soll vorläufig die Frage noch vollständig offen bleiben, ob das Ammoniak direkt als NH_3 bzw. NH_4 -OH eingedrungen ist oder durch Spaltung eines eingedrungenen anorganischen NH_4 -Salzes sekundär in der Zelle gebildet worden ist. Zunächst wollen wir uns einmal fragen, in welcher Form bei unseren Versuchen die größte Menge des präformierten Ammoniaks vorgelegen haben muß. RUHLAND und WETZEL haben bekanntlich gezeigt, daß es höhere Pflanzen gibt, die von außen zugeführtes oder im Stoffwechsel entstehendes Ammoniak durch Neutralisation unschädlich machen, indem sie es an organische Säuren binden. Diese Ammoniakentgiftung ist natürlich nur dann möglich, wenn die Zellen neben großer potentieller Azidität auch eine große aktuelle besitzen, und dadurch auch in Gegenwart großer NH_4 -Salzmengen deren NH_3 -Tension in niedrigen Grenzen halten können. *Wir nehmen nun bei unseren Maispflanzen, die im Sinne von RUHLAND als Amidpflanzen zu betrachten sind, an, daß auch von ihnen eingedrungenes Ammoniak anfänglich durch*

organische Säuren entgiftet wird wie bei den „Ammon- oder Säurepflanzen“ von RUHLAND und WETZEL. Da aber, wie Preßsaftuntersuchungen vermuten lassen, die aktuelle Azidität im Zellsaft der Wurzelzellen relativ sehr gering ist, so müßte sich schon bei der Ansammlung schwacher Mengen organischer NH_4 -Salze eine für die Zellen schädliche NH_3 -Tension einstellen, falls nicht die Maispflanzen über einen zweiten Ammoniakentgifter verfügten. Dieses sind Aminosäuren und deren Amide, besonders das Asparagin.

Welche Beweise für die Richtigkeit dieser Behauptung stehen uns nun an Hand unserer Untersuchung zur Verfügung? Das in den Wurzeln besonders der Winterpflanzen in großen Mengen angetroffene präformierte Ammoniak kann nicht als freies Ammoniak vorgelegen haben, sonst hätten wir bei den p_H -Messungen der Wurzelpreßsäfte bei NH_4 -Salzernährung sehr viele höhere Alkalitätsgrade beobachten müssen; machte doch in einigen Fällen der NH_4 -N 22—29% des Gesamtstickstoffs der Wurzeln aus. Weiterhin hätte sich auch dann der Unterschied der „Nitrat-“ und der „Ammonpflanzen“ hinsichtlich ihres Gehaltes an Ammonstickstoff in einer Verschiedenheit des p_H -Wertes der Wurzelpreßsäfte widerspiegeln müssen. Tatsächlich ließ sich aber ein Unterschied nicht feststellen. Der bei den Analysen gefundene Ammonstickstoff muß also aus Ammoniumsalzen stammen. Jetzt könnte aber sofort wieder der Einwand erhoben werden, daß der Ammonstickstoff von den Wurzeln in Form von NH_4 -Salz-Molekülen aufgenommen worden ist, die dann dort aufgespeichert worden sind. Der Ammon-N stammt dann also aus anorganischen NH_4 -Salzen. Mit der Annahme, daß aus der Lösung eines NH_4 -Salzes einer starken Säure hauptsächlich das NH_4 -Salzmolekül aufgenommen wird, stehen aber eine Reihe von Beobachtungen in schärfstem Widerspruch. Die physiologische Azidität dieser Salze wäre zunächst anzuführen — siehe die Ausführungen im ersten Teil der Arbeit. Unerklärlich wäre dann auch die von uns beobachtete starke Abhängigkeit der NH_4 -N-Aufnahme von der Reaktion der Außenlösung. Dasselbe gilt für die Beobachtung, daß Zellen, die in eine sauer reagierende NH_4 -Salzlösung gebracht sind, einen Alkalitätsanstieg in wenigen Minuten im Innern erkennen lassen. Diese Erscheinung, die ebenfalls in der ersten Arbeit schon eingehend besprochen worden ist, hat neuerdings POLJÄRVI (1928) eingehend untersucht. Auch er kommt zu der Ansicht, daß es die in einer NH_4 -Salzlösung befindlichen NH_3 - bzw. NH_4 -OH-Moleküle sind, die im Gegensatz zu den NH_4 -Ionen sehr schnell ins Zellinnere eindringen und dort den Alkalitätsanstieg bewirken. Weiterhin macht auch folgende Überlegung die Annahme, der NH_4 -N werde in erster Linie in Form von NH_4 -Salzmolekülen, z. B. als NH_4Cl oder $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ aufgenommen, sehr unwahrscheinlich. Beim Aufbau der Eiweißverbindungen benötigt die Pflanze Stickstoff und Schwefel etwa im Verhältnis 16:1. Im Ammoniumsulfat beträgt das Gewichtsverhältnis

dieser beiden Elemente etwa 1:1. Was macht die Pflanze nun, falls sie den Stickstoff hauptsächlich als $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Molekül aufgenommen hat, mit dem überschüssigen Schwefel oder in Gegenwart von Ammoniumchlorid mit dem Chlor? Die Annahme einer nachträglichen Wiederausscheidung von H_2SO_4 oder HCl scheidet, wie ebenfalls schon in der ersten Arbeit auseinandergesetzt worden ist, aus, da dann der beobachtete Alkalitätsanstieg in den Zellen eine Unmöglichkeit wäre. Es bleibt also, um alle Beobachtungen miteinander in Einklang zu bringen, nur die Annahme übrig, daß der NH_4 -Stickstoff in Form von NH_3 -Molekülen — vielleicht auch NH_4OH -Molekülen — in die Wurzelzellen eindringt und dort von organischen Säuren neutralisiert wird.

Es könnte aber noch der weitere Einwand erhoben werden, daß die Fraktion des NH_4 -N nicht allein den Stickstoff des freien Ammoniaks und der Ammoniumsalze umfasse, sondern daß auch Stickstoff, der in anderer Bindung in der Pflanze vorliegt, mit bei der zur Bestimmung des präformierten Ammoniaks benutzten Methode erfaßt wird. Dem muß aber entgegen gehalten werden, daß es unter den Bedingungen der Bestimmungsmethode — Destillation unter vermindertem Druck bei niedrigen Temperaturen in Gegenwart von MgO — keine anderen bekannten N-Verbindungen gibt, die ihren Stickstoff innerhalb 10—15 Minuten als NH_3 quantitativ abgeben.

Mit der Annahme, daß der Ammon-N aus den NH_4 -Salzen stammt, stehen weiterhin auch die Unterschiede in der Widerstandsfähigkeit der Sommer- und Winterpflanzen in bester Übereinstimmung. Obwohl letztere, auf Frischgewicht bezogen, sehr viel mehr NH_4 -N aufweisen als erstere und sich bei ihnen das Verhältnis Amid-N: Ammon-N stark zugunsten des NH_4 -Stickstoffs verschoben hat, so verlaufen in der dunklen Jahreszeit die Wurzelschäden sehr viel langsamer als im Sommer. Wie eingehender in der Arbeit auseinandergesetzt worden ist, steht dieser Unterschied mit der Tatsache in bester Übereinstimmung, daß die NH_3 -Tension eines NH_4 -Salzes um so kleiner ist, je niedriger die Temperatur. Unerklärlich wäre dieses verschiedene Verhalten unter der Annahme, daß der NH_4 -N bei den Wurzelanalysen aus freiem Ammoniak stammt.

Wie unsere Versuche weiterhin zeigen, nehmen die in den resorbierenden Wurzelzellen gebildeten Ammoniumsalze schwacher Säuren um so mehr ab, je mehr wir uns den Blättern nähern, und zwar zugunsten des Asparagins und des Eiweißes. Dieses starke Gefälle zeigt besonders Tabelle 10. In der Stengelbasis macht der NH_4 -N nur noch 5—6% des Gesamtstickstoffes aus, während in den Wurzeln derselben Pflanzen dieser Anteil noch 20—21% beträgt. Ein Vergleich zwischen den Sommer- und Winterversuchen zeigt weiterhin, daß für das NH_4 -N-Gefälle in den Wurzeln und Sprossen die Versorgung mit Kohlehydraten maßgebend ist. Sind die C-Assimilationsbedingungen ungünstig, die

Temperatur in den Versuchslösungen niedrig, also die NH_3 -Tension der organischen Ammonsalze in den Wurzelzellen stark zurückgedrängt, so kommt es zu einer starken Ansammlung von $\text{NH}_4\text{-N}$ in den Wurzeln, und der Amid-N zeigt eine Abnahme. *Es muß also für die Maispflanzen eine Entgiftung des eingedrungenen Ammoniaks durch Neutralisation mittels organischer Säuren mit einem geringeren Verbrauch an gebundenem Kohlenstoff verbunden sein als durch Amidbildung; allerdings ist der Entgiftung durch Salzbildung wegen der hydrolytischen Spaltung der gebildeten NH_4 -Salze eine Grenze gesetzt, die um so tiefer liegt, je größer der p_{H} -Wert der Zelle und je höher die Temperatur ist.* Wir haben also bei unseren Versuchen den Fall, daß durch eingedrungenes Ammoniak die Produktion von organischen Säuren angeregt wird, Säuren, die nur im C-Stoffwechsel entstanden sein können.

Die Beobachtung, daß gerade der Mangel an C-Assimilaten im Winter eine Steigerung des $\text{NH}_4\text{-N}$ im Gefolge hat, scheint uns auch weiterhin gegen die Annahme zu sprechen, daß eingedrungenes Ammoniak sofort an Zucker, etwa durch Bildung von Amino-Zuckern, festgelegt und entgiftet wird, diese also das erste Produkt der Ammoniak-Assimilation darstellen.

Wir möchten an Hand unserer Beobachtung für das Eindringen und für die Weiterverarbeitung des eingedrungenen Ammon-N folgende Arbeitshypothese aufstellen. Werden anorganische NH_4 -Salze den Wurzeln dargeboten, so dringt das durch hydrolytische Spaltung gebildete Ammoniak in die resorbierenden Wurzelzellen ein und zwar bei gleicher Temperatur und gleicher NH_4 -Salzmenge in um so stärkerem Maße, je größer der p_{H} -Wert der Außenlösung ist. Dieses eingedrungene Ammoniak wird dort zunächst durch organische Säuren neutralisiert. Steht genügend gebundener Kohlenstoff zur Weiterverarbeitung des Stickstoffs zur Verfügung, so findet eine Aminosäure- und Amidbildung statt, unter Umständen auch Eiweißsynthese. Unter normalen C-Assimilationsbedingungen muß nun das Verhältnis von gebundenem Kohlenstoff zu gebundenem Stickstoff immer günstiger für die Pflanze werden, je mehr wir uns von den resorbierenden Zonen entfernen, da nach dem Gegenstromprinzip der Strom der aufsteigenden ersten N-Assimilate auf den der absteigenden C-Assimilate trifft.

Es spricht, wie schon im experimentellen Teil der Arbeit auseinandergesetzt worden ist, das starke Auftreten von Asparagin bei Ernährung mit Alkalinitraten als Stickstoffquelle dafür, daß auch die Assimilation des oxydisch gebundenen Stickstoffs über das Ammoniak erfolgt, wie das ja WARBURG und andere Forscher für eine Reihe von Pflanzen sichergestellt haben.

Der von uns angegebene Weg, den die Pflanzen bei der Verarbeitung des NH_3 - und HNO_3 -Stickstoffs sehr wahrscheinlich einschlagen, steht in

vollständiger Übereinstimmung mit den Ansichten, die der eine von uns — ENGEL 1929 — auf Grund ganz anderer Untersuchungen über die N-Umsetzungen in der grünen Pflanze geäußert hat. Wir können direkt unsere Versuche dazu benutzen, um weiteres Material für die Richtigkeit des von ihm aufgestellten Schemas über diese Umsetzungen beizubringen.

Ernährungsphysiologisch dürfte also zwischen „Ammon-“ und „Amidpflanzen“ bei der Entgiftung von außen eingedrungenen Ammoniak *kein prinzipieller* Unterschied bestehen, sondern nur ein *gradueller*. Bei ersteren macht die NH_3 -Entgiftung fast ganz auf der ersten Stufe halt, im zweiten Falle muß die Pflanze, um die Zellen vor Vergiftung zu schützen, zur Amidbildung schreiten. Sorgen wir dafür, daß durch Temperatursenkung die hydrolytische Spaltung der organischen Ammoniumsalze in den Wurzelzellen stark zurückgedrängt wird und gleichzeitig das Verhältnis von gebundenem Kohlenstoff zu gebundenem Stickstoff sehr stark zugunsten des letzteren verschoben ist, so kann man, wie unsere Winterversuche gezeigt haben, die Amidpflanze Mais hinsichtlich ihres N-Haushaltes in den Wurzeln in eine Ammonpflanze umwandeln.

3. Werden Maispflanzen in ausreichendem Maße mit anorganisch gebundenem Stickstoff versorgt, so erfährt der Eiweißgehalt der ältesten Blätter eine Steigerung, wenn diesen *reichlich* Kohlehydrate zur Verfügung stehen. Kommen sie aber selbst als Hauptversorgungsstellen der übrigen Pflanzenteile mit gebundenem Kohlenstoff in Frage, so läßt sich eine Eiweißanreicherung nicht feststellen.

4. Die früher beobachtete Verstärkung der ungünstigen Wirkung einer kritischen H-Ionenkonzentration durch NH_4 -Salze ist nur eine scheinbare. Weil sich im Licht in Gegenwart eines Ammoniumsalzes einer starken Säure unter dem Einfluß der wachsenden Pflanzen ein Aziditätsanstieg nicht vermeiden läßt, so muß dadurch die schon ungünstige Wasserstoffionenkonzentration noch eine Steigerung erfahren.

5. Für das Wurzelwachstum der Maispflanzen gibt es auch bei gleicher Zusammensetzung der Nährlösung keine *feststehende* untere p_H -Wertgrenze. Wird dafür gesorgt, daß im Nährmedium ein ganz langsamer Aziditätsanstieg erfolgt, so können sich die Wurzelteile, die *in* der Lösung den p_H -Abfall mitgemacht haben, an Säuregrade anpassen, die sonst die Wurzeln in wenigen Stunden abtöten würden. Diese Gewöhnung gilt nicht für nachträglich *über* dem Lösungsmittel *in der Luft* angelegte Adventivwurzeln.

6. Die Ansicht von PRIANISCHNIKOW, daß durch große Aziditätsgrade in der Nährlösung oder durch die Einwirkung von physiologisch-sauren Salzen es in den Pflanzenzellen zu einer Hemmung der Asparaginsynthese und zu einer Ansammlung von NH_4 -N kommt, ist *nicht*

stichhaltig. Nur dann läßt sich ein ganz schwacher Anstieg des Ammonstickstoffs in den Wurzeln nachweisen, wenn unter dem Einfluß der großen H-Ionenkonzentration ein Teil der Wurzelspitzen bereits *abgestorben* ist. Versuche mit Hilfe von CO₂ oder von Essigsäure, im Innern von Lupinenzellen eine „Azidosis“ hervorzurufen und zu prüfen, ob sich in diesem Falle die von PRJANISCHNIKOW angenommene Hemmung der Asparaginsynthese auffinden läßt, blieben ebenfalls erfolglos. Andererseits wurde bei den in mit CO₂ gesättigtem Medium gezogenen Wurzeln die Beobachtung gemacht, daß die Zufuhr von Kohlendioxyd höchst wahrscheinlich zu einer Verstärkung des Karbonat-Bikarbonatpuffersystems der Wurzelzellen führt.

7. Das Ammoniumnitrat ist physiologisch amphoter. Die unter günstigen C-Assimilationsbedingungen in Erscheinung tretende physiologische Azidität kann durch starke Schwächung der Beleuchtung in eine physiologische Alkalität umgewandelt werden. Weiterhin ist gezeigt worden, daß in Gegenwart von Ammoniumnitrat als Stickstoffquelle die NH₄-N-Aufnahme durch die Pflanze zum größten Teil unabhängig von der NO₃-N-Aufnahme erfolgen muß.

Die für die Untersuchungen benötigten Apparaturen wurden von der Notgemeinschaft der deutschen Wissenschaft zur Verfügung gestellt. Wir sprechen ihr dafür unseren verbindlichsten Dank aus. Auch unserem Institutsdirektor, Herrn Prof. Dr. BENECKE, danken wir herzlichst für das große Entgegenkommen, das er uns immer gezeigt hat, und für die mancherlei Anregung, durch die er uns unterstützte.

Nachtrag.

Daß in der Tat, wie schon SACHS und PFEFFER mit rein qualitativen Methoden gezeigt haben, verschiedene Teile einer Wurzel sich hinsichtlich ihres N-Haushaltes wesentlich voneinander unterscheiden, dafür mögen folgende Analysen angeführt sein. Von Maispflanzen, die in Leitungswasser wuchsen, und denen also keinerlei N-Quellen zur Verfügung standen, wurden die Wurzeln entfernt und zwischen Filtrierpapier getrocknet. Darauf wurden die äußersten Spitzen (3 mm) abgeschnitten und die Menge ihres Gesamt-N ermittelt. Das Gleiche geschah mit 3 mm langen Wurzelstückchen dicht unter der Stengelbasis. Die jugendlichen Spitzen enthielten 0,765% Gesamt-N, während die ältesten Teile dicht am Stengel nur 0,153% aufzuweisen hatten. Um ein Bild von der Mengenverteilung auch der verschiedenen N-Fractionen in den verschiedenen Wurzelzonen zu bekommen, wurde die Analyse wiederholt. Die Werte sind in folgender Tabelle 25 zusammengestellt.

Besonders bemerkenswert ist die große Menge Eiweiß-N in den Spitzen. Sowohl auf Frischgewicht als auch auf Gesamt-N bezogen erreicht sie dort ein Maximum. Asparagin-N und Amino-N nehmen mit fortschreitender Entfernung von der Spitze, auf Frischgewicht bezogen,

Tabelle 25.

	Gesamt-N	Eiweiß-N	Lösl. N	Ammon-N	Dopp. Amid-N	Amino-N
Ganze Wurzeln (15—20 cm lang)	0,252	0,185	0,067	0,0046	0,028	0,034
	100	73,4	26,6	1,83	11,1	13,7
Wurzelspitzen (5 mm)	0,647	0,512	0,135	0,0032	0,060	0,072
	100	79,1	20,9	0,49	9,27	11,1
Die darauf folgenden 5 mm	0,362	0,250	0,112	0,0049	0,056	0,051
	100	69,1	30,9	1,35	15,5	14,0
5 mm-Stückchen etwa 10 cm hinter der Spitze	0,196	0,145	0,051	0,0028	0,020	0,028
	100	74,0	26,0	1,43	10,2	14,4
25 mm-Stückchen dicht unter der Stengelbasis	0,156	0,111	0,045	0,0018	0,020	0,023
	100	71,2	28,8	1,16	12,8	14,8

ab, während auf Gesamt-N bezogen die Menge des Amino-N mit zunehmendem Alter der Wurzelteile ansteigt. Der Ammon-N ist gering und nur kleinen Schwankungen unterworfen.

Besonders hervorheben möchten wir, daß die in der obigen Tabelle aufgeführten Werte für die ganzen Wurzeln sich als Mittelwerte zwischen den jugendlichen Spitzen und den alten Teilen herausstellen. Sämtliche in dieser Arbeit aufgeführten Analysenergebnisse sind somit, wie auch schon verschiedentlich betont wurde, als Mittelwerte zu betrachten. Viele der erhaltenen Ergebnisse wären zweifellos noch leichter zu deuten gewesen, wenn bei jedem einzelnen Versuch eine Analyse der verschiedenen Wurzelzonen vorgenommen worden wäre. Dieses stößt aber auf große Schwierigkeiten; denn bei jedem einzelnen Versuch sind Hunderte von Wurzeln nötig, um einigermaßen sichere Werte für die löslichen N-Fractionen zu erhalten, und es ist sehr schwer, bei Verwendung von vollständigen Nährlösungen dafür zu sorgen, daß die erforderliche große Zahl von Versuchspflanzen tatsächlich unter annähernd denselben Bedingungen aufwächst, z. B. bei gleichem Wasserstoffexponenten. Ferner ist die Isolierung der verschiedenen Wurzelstückchen, besonders der Spitzen, so zeitraubend, daß derartige Untersuchungen, wenn sie in dem von uns angestellten Umfange ausgeführt werden sollten, sich über eine Reihe von Jahren erstrecken würden. Wegen dieser außerordentlich großen Schwierigkeiten haben wir vorläufig von einer an sich notwendigen Analyse der verschiedenen Wurzelzonen bei den einzelnen Versuchen absehen müssen.

Literaturzusammenstellung.

Brooks, M. M.: Publ. Health Rep. (U. S. A.) 38, 1449, 1470, 2074 (1923). — Butkewitsch, W.: Biochem. Z. 16, 411 (1909); 41, 431 (1912). — Butkewitsch, Wl. S. u. Butkewitsch, W. W.: Ebenda 204, 303 (1929). — Engel, H.: Planta 7, 133

(1929). — **Hammarsten, O.**: Lehrbuch der physiologischen Chemie. Berlin 1926.
 — **Hoagland, D. R.**: J. agricult. Res. **18**, 73 (1919/20). — **Hoagland, D. R.** and **Davis, A. R.**: J. of gen. Physiol. **5**, 629 (1923); **6**, 47 (1924). — **Kappen, H.** und **Lukacs, M.**: Z. Pflanzenernährg, Abt. A, **5**, 249 (1925). — **Kinoshita, J.**: Bull. Coll. agricult. Univ. Tokyo **2**, 200 (1895). — **Kusnetzow, S. J.**: Biochem. Z. **157**, 339 (1925). — **Klein, G.** und **Kisser, J.**: Sitzgsber. Akad. Wiss. Wien, Math.-naturwiss. Kl. **134**, Abt. 1, 101 (1925). — **Mevius, W.**: Jb. f. wiss. Bot. **66**, 183 (1927); **69**, 119 (1928); — **Planta** **6**, 379 (1928). — **Moes, K.**: Ebenda **1**, 317, 472 (1926); **7**, 585 (1929). — **Overton, E.**: Vjschr. naturforsch. Ges. Zürich **40**, 159 (1895). — Z. physik. Chem. **22**, 189 (1897). — **Port, J.**: Biochem. Z. **166**, 105 (1925). — **Prianischnikow, D. N.**: Landw. Versuchsstat. **45**, 247 (1895); **46**, 459 (1896); **52**, 137, 347 (1899); **99**, 267 (1922). — Ber. dtsh. bot. Ges. **17**, 151 (1899); **18**, 285 (1900); **22**, 35 (1904); **26a**, 716 (1908); **40**, 242 (1922). — Biochem. Z. **150**, 407 (1924); **182**, 204 (1927); **193**, 211 (1928). — Rev. gén. Bot. **25**, 5 (1913); **36**, 5 (1924). — Z. Pflanzenernährg, Abt. A, **4**, 242 (1925). — Erg. Biol. **1**, 407 (1926). — **Prianischnikow, D. N.** and **Domontovitsh, M. K.**: Soil Sci. **21**, 327 (1926). — **Prianischnikow, D. N.** und **Schulow, J.**: Ber. dtsh. bot. Ges. **28**, 253 (1910). — **Pojjärvi, L. A. P.**: Acta bot. fenn. **4**, 1 (1928). — **Ruhland, W.** und **Wetzel, K.**: **Planta** **1**, 558 (1926); **3**, 765 (1927); **7**, 503 (1929). — **Schulow, J.**: Russ. J. exper. Landw. **12**, 777 (1911); **13**, 200, 207 (1912). — Ber. dtsh. bot. Ges. **31**, 97 (1913). — **Suzuki, U.**: Bull. Coll. agricult. Univ. Tokyo **2**, 409 (1896/97); **3**, 241 (1897/98); **4**, 351 (1900/02). — **Takabayashi, S.**: Ebenda **3**, 265 (1897/98). — **Theron, J.**: Univ. California Publ. Agricult. Sci. **4**, 413 (1924). — **Warburg, O.** und **Negelein, E.**: Biochem. Z. **110**, 166 (1920). — **Wetzel, K.**: **Planta** **4**, 476 (1927).