

RIJKSLANDBOUWPROEFSTATION GOES.

Entproef op gele lupinen met Nitragine-Kühn, Stikstofverzamelaars-Koning en Azotogeen-Simon,

DOOR

Dr. J. C. DE RUYTER DE WILDT EN Dr. D. MOL.

De in 1909 uitgevoerde praktische entingsproeven met de bacteriëncultuur „Farmogerm” op lucerne en witte klaver ¹⁾ hebben wij in 1910 laten volgen door proeven in cultuurpotten met de bovengenoemde entstoffen op gele lupinen.

De bedoelde cultuurpotten waren van geglazuurd aardewerk, zgn. „Keulsche potten”, waarin door middel van glazen buizen en een zinkrooster voor luchtcirculatie werd gezorgd. De inhoud van elk der potten was daardoor 15,5 K.G. grond, bestaande uit een mengsel van 2 deelen humeus heidezand ²⁾ en 1 deel rivierzand, waaraan $\frac{1}{400}$ van het totaal gewicht als gemalen turfstrooisel werd toegevoegd, rustende op een laag kiezelsteen van 1,3 K.G. De vochtigheidstoestand van den grond was normaal. Bemest werd met 3 gram thomasslakkenmeel, 1 gram 40 % kalizout en 10 gram koolzure kalk per pot, overeenkomende met eene bemesting naar 100 K.G. phosphorzuur, 75 K.G. kali en 2000 K.G. koolzure kalk per H.A. De kunstmest werd vóór de vulling met 14 K.G. van het grondmengsel gemengd en daarna nog $1\frac{1}{2}$ K.G. van den grond zonder kunstmest als bovenlaag toegevoegd.

Evenals in 1909 had ook thans geen speciale steriliseering plaats met het oog op de praktische beteekenis van het entingsvraagstuk.

14 dagen na het vullen met den bemesten grond werd de lupine gezaaid (24 Juni), waarbij zoowel grondenting als zaadenting werd toegepast.

1). Zie „Verslagen van landbouwkundige onderzoekingen der Rijkslanbouwraproefstations” No. VII, 1910.

2). Nog niet in cultuur geweest.

20095306

Omtrent de gebruikte preparaten zij het volgende medegedeeld :

1^o. „Nitragine” van de Agrikulturwerke von Dr. A. Kühn, Wesseling—Köln geleverd door de firma Kupsch & Abas te Amsterdam. Het was eene vloeibare cultuur. Het aan de bacteriologische afdeling van het Rijkslandbouwproefstation te Hoorn plaats gehad hebbend onderzoek gaf als resultaat, dat door den chef, den heer Boekhout¹⁾, het volgende werd medegedeeld :

„De cultuur bevat minstens 2 soorten, welke niet tot de „knolletjesbacteriën behooren. Beide zijn bewegelijk, terwijl „eene er van de gelatine vervloeit en dus een proteolytisch „enzyme afscheidt. Knolletjesbacteriën waren door middel van „de plaatcultuur niet aan te toonen.”

2^o. „Stikstofverzamelaars” van C. J. Koning te Bussum, eveneens bestaande uit eene vloeibare cultuur.

Het eveneens te Hoorn plaats gehad hebbend bacteriologisch onderzoek leverde het volgende rapport :

„De cultuur bevat ééne soort bacterie; de kolonies waren „dradentrekkend en waren naast staafjes onregelmatige vor- „men en de eigenaardige bacteroiden waar te nemen. Aangezien „deze eigenschappen overeenkomen met die van de knolletjes- „bacteriën is de aanwezigheid van deze laatsten aangetoond.”

3^o. „Azotogen” van de firma Humann & Teisler te Dohna bij Dresden (entstof naar Dr. Simon). Het was eene in een metalen doosje verpakte aardecultuur.

Het van Hoorn ontvangen rapport luidde :

„De cultuur in aarde bevat minstens 3 verschillende soorten „bacteriën, welke geen knolletjesbacteriën zijn en wel in zoo'n „grootte mate, dat door middel van de plaat-methode deze laatst- „genoemden niet zijn aan te toonen.”

Voor de enting en den zaai werd als volgt te werk gegaan. Allereerst werden voor elken pot 14 zoo goed mogelijk gelijke lupinezaden uitgezocht.

Pot 1, 2 en 12 bleven *ongeënt*. De oppervlakte van den grond werd bevochtigd met 100 c.c. gedestilleerd water, vervolgens de 14 zaden in gelijk diepe kuiltjes regelmatig verdeeld en met een dun laagje aarde los bedekt On.

Bij pot 4 en 5 werd het *zaad geënt* met het Nitragine van Dr. Kühn. Daartoe werd van den inhoud van het fleschje, die ± 75 c.c. bedroeg, de helft goed gemengd met 125 c.c. afgeroomde melk. De zaden werden in dit vocht goed ondergedompeld en nog vochtig op de reeds beschreven wijze gezaaid Kü—z.

Bij pot 8 en 13 werd de *grond geënt* met hetzelfde preparaat. Van de melkachtige bovenvermelde vloeistof werden 10 c.c. met

1) Den Heer Boekhout zij hier gaarne dank gebracht voor de welwillende wijze waarop het bacteriologisch onderzoek werd uitgevoerd.

gedestilleerd water verdund tot 200 c.c. en op elk der beide potten 100 c.c. daarvan gebracht. Daarop had de zaai op de beschreven wijze plaats Kü—g.

Bij pot 6 en 11 werd het *zaad geënt* met het Azotogeenpreparaat; 3 gram van de grondcultuur, d.i. $\pm \frac{1}{10}$ van den doosinhoud, werd daarvoor met gedestilleerd water tot een papje aangeroerd. De zaden werden hierin ondergedompeld en dadelijk op de bekende wijze gezaaid Az—z.

Bij pot 14 en 17 werd de *grond geënt* met Azotogeen. Hiervoor werd het boven beschreven papje met water afgeslibd tot een volume van 250 c.c. Van deze vloeistof werden op elken pot 100 c.c. gebracht en de lupine gezaaid Az—g.

Bij pot 3 en 7 werd het *zaad geënt* met de entstof van Koning door het zaad even te dompelen in de entstof zooals deze ontvangen werd; dadelijk daarna werd uitgezaaid Ko—z.

Bij pot 9 en 10 werd de *grond geënt* door 2 c.c. der cultuurmassa, verdund tot 100 c.c., op elken pot te brengen; daarna werd gezaaid Ko—g.

Bij pot 15 en 16 werd eveneens de *grond geënt*, doch niet 2 c.c. maar 10 c.c. der cultuurmassa genomen, zoodat een 5-maal sterkere enting werd verkregen; daarna werd gezaaid Ko—5g.

Na den zaai werden de potten eenige dagen binnenshuis gehouden, waarna zij naar buiten in het glashuis werden gebracht, zoodat het zonlicht kon toetreden.

Nadat de achterblijvende of abnormaal ontwikkelde planten verwijderd waren en een gelijk aantal van 7 planten per pot was verkregen, groeide de lupine regelmatig op. Tot het begin van Augustus vielen geen merkbare verschillen te constateeren, daarna echter werd steeds duidelijker merkbaar dat de planten op de potten 6, 11, 14 en 17, waar dus Azotogeen-enting had plaats gehad, donkerder groen van kleur werden en ook in groei de overige planten voorbij schoten.

Pot 1 werd toen bemest met chilisalpeter naar 100 K.G. per H.A., om hierdoor eenigermate de Azotogeen-werking te vergelijken On—c.

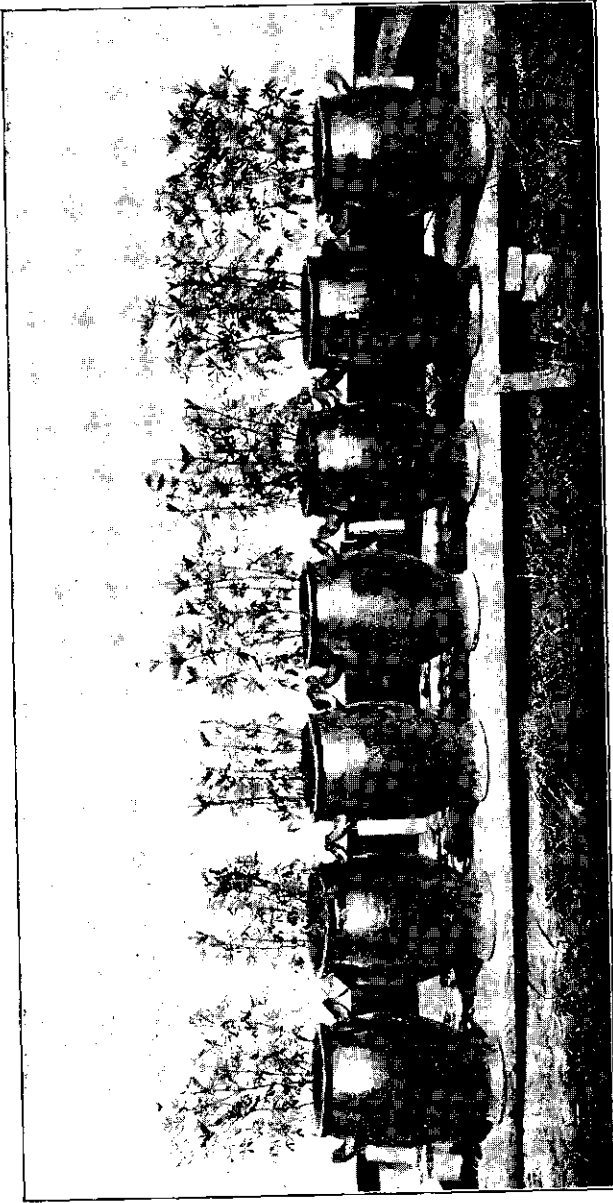
De chilibemesting toonde ook na niet langen tijd hare werking. De hier volgende afbeelding (figuur I) laat duidelijk zien, dat zoowel het Azotogeen als de chilibemesting tot werking is gekomen.

Tusschen de planten der overige potten traden weinig of geen verschillen op en was geen werking der enting te bespeuren.

Begin November werd tot oogsten overgegaan, waarbij ook de wortelmasa uit elk der potten zoo zorgvuldig mogelijk werd verzameld.

Bij nadere beschouwing der wortels bleek hetgeen in het volgende overzicht is neergelegd.

Figuur I.



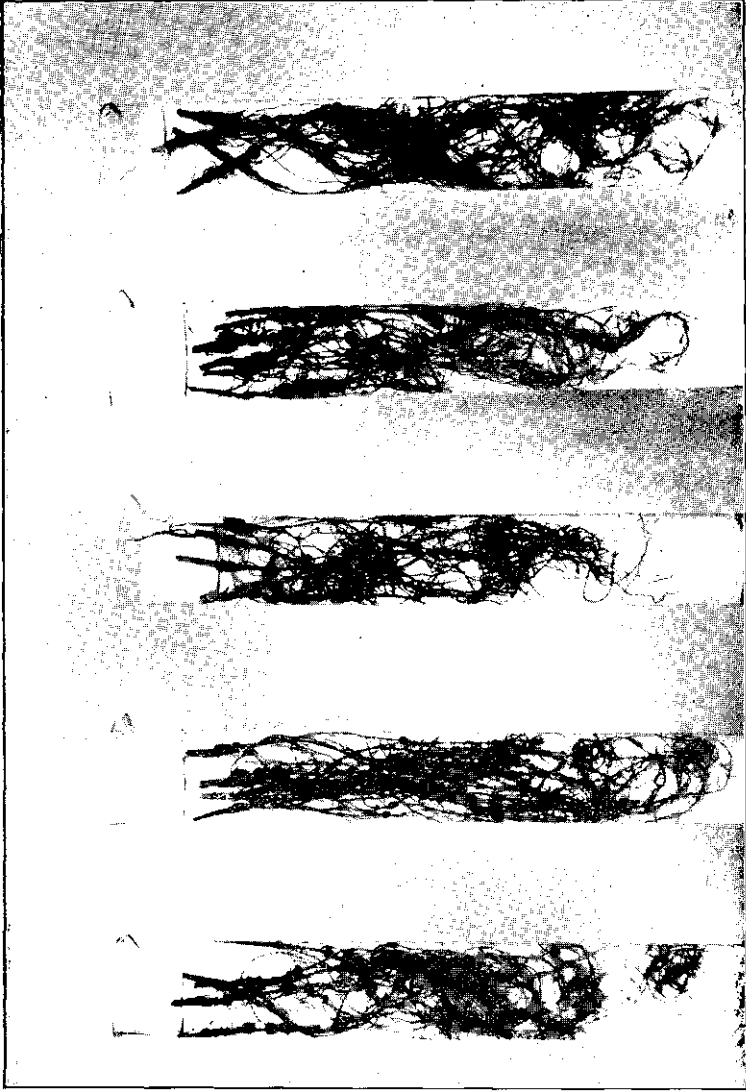
Ongeënt + Chili.

Ongeënt.

Azotoegeen zand.

Azotoegeen grond.

Figur II.



- 1. Ongeënt + Chill.
- 7. Koning.
- 17. Azotgeen.
- 13. Kühn.
- 12. Ongeënt.

N ^o . v/d pot.	Behandeling.	Waarnemingen betreffende knolletjesvorming aan de wortels.
1	On — c	flink bezet met knolletjes.
2 12	On	nog al wat knolletjes; doch minder dan bij 1. eveneens knolletjes; wat grooter dan bij 2.
4	Kü — z	goed bezet met knolletjes.
5		" " " "
8	Kü — g	tamelijk wat knolletjes.
13		goed bezet met knolletjes.
6	Az — z	<i>een hoogst enkel klein knolletje</i>
11		<i>zeer weinig knolletjes.</i>
14	Az — g	<i>zeer weinig knolletjes.</i>
17		<i>geen knolletjes.</i>
3	Ko — z	goed bezet met knolletjes.
7		" " " " , enkele groote.
9	Ko — g	" " " " .
10		mooi " " " " .
15	Ko — 5g	goed " " " " .
16		" " " " .

Hierbij bleek dus het verrassende feit, dat de met Azotogeen geënte lupine *geen* of *slechts hoogst enkele* knolletjes aan de wortels vertoonde, ondanks dat het de sterkst ontwikkelde planten waren.

De hierbij weergegeven fotografie der geïsoleerde wortels (figuur II) toont dit opmerkelijke verschijnsel eveneens op zeer duidelijke wijze.

De oogstgewichten der verschillende potten aan luchtdroge massa, benevens de hoeveelheden der in de planten aanwezige stikstof zijn in de volgende tabel weergegeven. De gewichten der wortelmassa's, benevens de daarin aanwezige stikstof, hebben betrekking op de zandvrije massa, door na de destructie het gewicht van de terugblijvende zandmassa van het luchtdroge gewicht af te trekken.

De afwijkingen welke zich tusschen de totaal-opbrengsten der parallelpotten constateeren lieten, zijn hoofdzakelijk veroorzaakt door onregelmatige vruchtzetting.

No. v/d pot.	Behandeling.	STROO.					PEULEN.				
		Opbrengst in grammen.		Opgenomen stikstof.		Gemiddelde hoeveelheid opgenomen stikstof in grammen.	Opbrengst in grammen.		Opgenomen stikstof.		Gemiddeld hoeveelheid opgenomen stikstof in grammen
		per pot.	gemidd.	in %.	in gr.		per pot.	gemidd.	in %.	in gr.	
1	O n — c	9,83	9,83	2,56	0,25	0,25	4,58	4,58	3,07	0,14	0,14
2	O n	7,62	6,94	2,52	0,19	0,17	3,58	3,63	3,50	0,12	0,12
12		6,26		2,25	0,14		3,68		3,27	0,12	
4	Kü — z	7,98	7,68	2,31	0,18	0,19	4,00	3,33	3,48	0,14	0,11
5		7,38		2,58	0,19		2,66		3,23	0,09	
8	Kü — g	8,33	8,45	2,59	0,22	0,21	2,24	3,15	3,19	0,07	0,10
13		8,56		2,41	0,20		4,06		3,24	0,13	
6	Az — z	10,03	9,91	2,09	0,21	0,23	8,18	6,71	3,78	0,31	0,25
11		9,30		2,61	0,25		5,23		3,70	0,20	
14	Az — g	10,07	10,15	2,92	0,30	0,28	5,14	6,39	3,75	0,20	0,24
17		10,22		2,56	0,26		7,63		3,68	0,28	
3	Ko — z	7,42	7,41	2,46	0,18	0,18	3,07	3,21	3,33	0,10	0,11
7		7,40		2,37	0,18		3,35		3,10	0,11	
9	Ko — g	6,90	7,53	2,54	0,17	0,18	2,00	3,04	3,33	0,07	0,10
10		8,15		2,37	0,19		4,08		3,28	0,13	
15	Ko — 5g	8,25	8,28	2,56	0,21	0,21	3,35	3,08	3,40	0,11	0,11
16		8,31		2,48	0,21		2,80		3,63	0,10	

Deze tabel bevestigt op duidelijke wijze, dat van eene werkelijke oogstvermeerdering alleen sprake is bij de potten waarop enting met Azotogeen heeft plaats gehad. Eveneens is de chilbemesting tot werking gekomen, hetgeen reeds gedurende den groei merkbaar was, terwijl vóór de chilisalpetergift de drie ongeënte potten gelijk opgroeiende planten droegen.

Waaraan deze gunstige werking van het Azotogeen is toe te schrijven, valt niet te zeggen. Vooreerst toonde het bacteriologisch onderzoek van het preparaat niet de aanwezigheid van knolletjesbacteriën, voorts bevatten de wortels der daarmede behandelde

WORTELS.					GEHEELE PLANT.				No. v/d pot.
Opbrengst in grammen.		Opgenomen stikstof.		Gemiddelde hoeveelheid opgenomen stikstof in grammen.	Opbrengst in grammen.		Opgenomen stikstof in grammen.		
per pot.	gemidd.	in %.	in gr.		per pot.	gemidd.	per pot.	gemidd.	
2,12	2,12	2,22	0,05	0,05	16,53	16,53	0,44	0,44	1
1,81	1,34	1,98	0,03	0,03	12,51	11,91	0,34	0,32	2
1,36		2,07	0,03		11,30		0,29		12
2,37	2,00	2,16	0,05	0,04	14,35	13,01	0,37	0,34	4
1,62		2,19	0,03		11,66		0,31		5
1,63	1,96	2,06	0,03	0,04	12,20	13,55	0,32	0,35	8
2,28		2,15	0,05		14,90		0,38		13
2,18	2,01	1,97	0,04	0,04	20,39	18,62	0,56	0,52	6
1,83		1,86	0,04		16,84		0,49		11
1,67	1,86	2,05	0,04	0,04	16,88	18,39	0,54	0,56	14
2,05		2,06	0,04		19,90		0,58		17
1,69	1,84	2,13	0,04	0,04	12,18	12,46	0,32	0,33	3
1,98		2,04	0,04		12,72		0,33		7
1,72	1,92	2,17	0,04	0,04	10,59	12,49	0,28	0,32	9
2,12		2,31	0,05		14,38		0,37		10
1,61	1,89	2,31	0,04	0,04	13,21	13,24	0,36	0,36	15
2,16		2,26	0,05		13,27		0,36		16

lupinen geen of bijna geen wortelknolletjes en vervolgens droegen de ongeënte lupineplanten wel knolletjes. Hoewel de geringe hoeveelheid, welke van het Azotogeen-preparaat werd gebruikt, reeds uitsluit dat van eene stikstoftoevoeging in een of anderen vorm sprake kon zijn, hebben wij ten overvloede het preparaat op stikstofgehalte onderzocht. De uitgevoerde analyse toonde dat het preparaat dan ook maar 0,18 % stikstof bevatte.

Wat het preparaat van Koning betreft, waarin bacteriologisch de aanwezigheid van knolletjesbacteriën was aangetoond, zoo heeft dit practisch geene werking getoond.

Deze proefneming liet dus alleen eene duidelijke werking van het Azotogeenpreparaat zien, welke echter onopgeklaard bleef en zeker niet op eene gunstige werking van knolletjesbacterië-enting is terug te brengen.

Ook v. Feilitzen ¹⁾ verkreeg goede resultaten bij enting met Azotogeen op sojaboonen, gele en blauwe lupinen, geen resultaat daarentegen bij het gebruik van het Nitragine-Kühn. De Azotogeenplanten droegen echter wel degelijk wortelknolletjes.

Wij moeten ons voorloopig dus bepalen tot het vermelden van het eigenaardige feit.

**Impfversuche zu gelben Lupinen mit Nitragin-Kühn,
Stickstoffsammler-König und Azotogen-
Simon auf Sandboden.**

(Kurze Zusammenfassung obiger Ausführungen).

Im Jahre 1910 wurden Topfversuche ausgeführt mit den oben genannten Preparaten. Die Kulturtöpfe waren von Steingut. Der Boden bestand aus 2 Tl. humosen Sandboden (noch nicht kultivierten), 1 Tl. Flusssand und $\frac{1}{400}$ vom Gesamtgewicht an feinem Torf. Boden und Saat wurden nicht sterilisiert. Die Preparate von Dr. Kühn und König (Bussum—Holland) waren flüssig, das Azotogen war eine Erdkultur in einer Blechsachtel verpackt.

Es wurde teils der Boden, teils die Saat geimpft. Beim Nitragin-Kühn wurde die Impflüssigkeit mit Magermilch hergestellt. Die Impflüssigkeit von König wurde an und für sich gebraucht, und bei der Bodenimpfung in zwei Quantitätsmengen. Das Azotogen wurde mit Wasser angerührt und für die Saatimpfung gebraucht; bei der Bodenimpfung wurde das Azotogen mit Wasser abgeschlammt und die Flüssigkeit gebraucht.

Die bacteriologische Untersuchung der drei Preparate wurde vom Herrn Boekhout in liebenswürdiger Weise an der bacteriologischen Abtheilung der landwirtschaftlichen Versuchsstation in Hoorn ausgeführt. Nur im Preparat des Herrn König in Bussum (Holland) konnte die Anwesenheit der Knöllchenbacteriën gezeigt werden.

Gedüngt wurde 11 Juni, geimpft und gesät am 24 Juni.

Bis Anfang August zeigten sich keine Unterschiede; dann aber wurde deutlich ersichtlich wie die Azotogenpflanzen dunkler grün wurden und auch die Grösse der Pflanzen mehr wie auf den anderen Töpfen zunahm. Dieser Unterschied ist geblieben, wie die Fotografie und auch die Tabelle zeigen.

Auch der Chilialpeter, welcher anfangs August auf Topf 1 gebracht wurde zum Vergleich der Azotogenwirkung, zeigte eine

¹⁾ Zentralblatt. f. Bact. IIe Abth. Bnd. 29, blz. 198, 1911.

deutliche Wirkung. Zwischen den anderen Pflanzen waren keine merkbaren Unterschiede zu verzeichnen.

Bei der Ernte wurden auch die Wurzeln sorgfältig gesammelt und die Knöllchenbildung verglichen. Merkwürdigerweise stellte sich heraus, dass die *Azotogenpflanzen keine oder nur ganz einzelne Knöllchen trugen*, wie auf der Fotografie deutlich zu sehen ist. Wo weiter alle Töpfe Pflanzen mit Knöllchen trugen, muss man annehmen dass durch die Azotogenimpfung die Knöllchenbildung unterdrückt ist; dennoch waren die Pflanzen am besten entwickelt und auch die Stickstoffaufnahme am grössten.

Für das merkwürdige Resultat können wir keine Erklärung geben. Die ungeimpften Pflanzen zeigten auch Knöllchen und das einzige Preparat worin die Anwesenheit von Knöllchenbakterien nachgewiesen wurde (König—Bussum) war praktisch wirkungslos.
