

Studien ueber die Einwirkung des Kupfersulfats auf einige Pflanzen.

VON

H. Hattori, *Rigakushi*.

Mit Tafel XIX.

I. Einleitung und Litteratur.

Bekanntlich sind die Einwirkungen der Kupfersalze auf den Pflanzenkörper je nach den Organen und Entwicklungsstadien weit verschieden: so können z. B. die Samen ihre Keimfähigkeit nach Einfluss ziemlich konzentrierter Kupferlösungen noch beibehalten, dagegen sind die Keimpflanzen, insbesondere ihre Wurzelchen mehr empfindlich und werden leicht beschädigt. Oefters findet sich aber Vegetation da, wo Kupfer in einer beträchtlichen Menge in der Erde vorkommt und doch bleiben die Pflanzen sammt ihrem Wurzelsysteme relativ unbeschädigt, da die Bodenerde dank ihrem grossen Absorptionsvermögen für Metallsalze als ein kräftiges entgiftendes Mittel dient.¹⁾ Zudem zeigen die Versuche von *Viala*,²⁾ welcher eine Topferde drei Monate lang

1) Pfeffer, Pflanzenphysiologie, Ed. I, Aufl. II, 1898, p. 148 und 429.

2) *Viala*, De l'action de certaines substances toxiques sur la vigne. Ref. Just, Jahresbericht, 1895.

mit einer Kupfervitriollösung begossen, und die dadurch im Boden incorporierte Menge des Kupfersulfats hoch ansteigen liess, dass trotz dieses grossen Gehalts an Kupfer, die Rebe gesund blieb.

Andererseits liegen Angaben vor, dass Kupfer in einer grösseren oder geringeren Menge ohne sichtbaren Schaden im lebenden normalen Pflanzenkörper vorkommt.¹⁾ So fand Lehmann²⁾ dass die in der Nähe ein Kupferwerkes erwachsenen Pflanzen eine nicht unwesentliche Quantität des Kupfers (83 bis 560 mg. in 1 kg Trockensubstanz) ohne besondere Beeinträchtigung des Lebensprocesses aufnehmen können. Tschirch³⁾ sagt in seinem bekannten Werk über Kupfer wörtlich dass „die lebende Pflanze Kupfer sowohl durch die Wurzeln als auch durch die Epidermis aufzunehmen im Stande ist und auch immer aufnehmen wird, wenn es ihr im Boden dargeboten wird,“ und er fand dass ein auf kupferhaltigen Boden erwachsener Weizen in einem Falle in 950 gramm der Ernte 0.2775 Cu₂S enthielt. Solche Thatsachen sind ferner durch die einschlägigen Versuche von Phillips,⁴⁾ Freytag,⁵⁾ Berlese und Sostegni,⁶⁾ bekannt geworden, nämlich, dass Kupfer in Boden mehr oder minder von der Pflanzen ohne Schaden absorbiert werden kann. Betreffs der Kupfervergiftungsversuche bei Wasserkulturmethode liefert die Arbeit Haselhoff's⁷⁾ andererseits

1) Pfeffer, l.c. p. 432. Vergl. auch Mac. Dougal, Bot. Gaz. Vol. XXVII, 1899, p. 68-69.

2) Lehmann, Hygienische Studien über Kupfer, IV. Archiv f. Hyg., Bd. XXVII, 1896.

3) Tschirch, Das Kupfer. 1893, p. 15-17.

4) Phillips, On the Absorption of Metallic Oxides by Plants. Chem. News, 1882.

5) Freytag, Die schädlichen Bestandtheile der Hüttenrauchs der Cu-, Pb-, Zn-Hütten und ihre Beseitigung. Landw. Jahrb. Bd. XI, 1882.

6) Berlese et Sostegni, Recherches sur l'action des sels de cuivre sur la végétation de la vigne et sur le sol. 1895, Sond. Abd. aus La Revue international d. viticulture et d. Oenologie, 1895.

7) Haselhoff, Ueber die schädliche Wirkung des Kupfersulfat und Kupfernitrat haltigen Wassers auf Boden und Pflanzen. Landw. Jahrb. Bd. XXI, 1893.

einen Beweis dafür, dass beim Mais die schädliche Wirkung des Kupfersulfats bereits bei 5 mg CuO pro 1 Liter Nährlösung beginnt, bei Bohnen hingegen erst bei 10 mg. Otto¹⁾ gelangte ebenfalls zu ähnlichen Ergebnissen.

Im Jahre 1893 erschien die interessante Arbeit Naegeli's²⁾ über oligodynamische Erscheinungen welche zeigt, dass eine äusserst geringe Menge Kupfers eigenthümliche Absterbenserscheinung an *Spirogyra* hervorbringt. Dieselbe Thatsache wurde von Cramer³⁾ und Rumm⁴⁾ weiter geprüft. In neuester Zeit stellten Kahlenberg und True⁵⁾ und gleichzeitig Heald⁶⁾ eine Reihe von Versuchen mit sehr verdünnten Metallsalzen und organischen sowie anorganischen Säuren bei *Lupinus*, *Zea*, *Pisum* und *Cucurbita* an und gelangten zu dem Ergebniss, dass die Ursache der Giftwirkung solcher verdünnten Lösungen auf die dissocierten Ionen derselben meistentheils auf den Cathionen beruht.

Was die Wachsthum beschleunigende Einwirkung einiger Substanzen durch chemische Reize anbetrifft, so liegen uns Untersuchungen von Pfeffer⁷⁾ vor, welche beweisen, dass die Lebensvorgänge durch kleine Mengen gewisser besonders auch giftiger Stoffe beschleunigt werden können. Die Behandlung mit Kupfer-

1) Otto, Untersuchungen über das Verhalten der Pflanzen-Wurzeln gegen Kupfersulfatlösungen. Zeit. f. Pfl. Krankh., Bd. III, 1893.

2) v. Naegeli, Oligodynamische Erscheinungen in lebenden Zellen. 1893.

3) Cramer, Nachtrag zu Naegelis Arbeit.

4) Rumm, Zur Kenntniss der Giftwirkung der Bordeaux-brühe &c. Zeit. f. wiss. Bot., Bd. I, 1895, p. 99.

5) Kahlenberg and True, On the toxic Action of dissolved Salts and their electric Dissociation. Bot. Gaz., Vol. XXII, 1896 und auch Copeland and Kahlenberg, The Influence of the Presence of pure Metals upon Plants. Trans. of Wisconsin Acad., Vol. XII, 1899.

6) Heald, On the toxic Effect of dilute Solutions of Acids and Salts upon Plants. Bot. Gaz., Vol. XII, 1896.

7) Pfeffer, Ueber Election der organischen Nährstoffe. Pringsh. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXVIII, 1895.

kalkmischung, der sogenannten Bordeauxbrühe, z. B. hat eine günstige Wirkung woraus schon einige Forscher besonders Rumm,¹⁾ Frank und Krüger²⁾ und Aderhold³⁾ aufmerksam gemacht haben. Diese Erscheinung schrieb Rumm einem chemischen Reiz zu. Es ist aber noch nicht klar gestellt, welcher Bestandtheile der Brühe solche begünstigende Einwirkung auf Pflanzen ausüben kann. Von neueren Untersuchungen über die Reizwirkung von Metallsalzen auf Schimmelpilze sind besonders die von Richards⁴⁾ und von Ono⁵⁾ zu erwähnen. Letzterer hat zuerst auch für Kupfer eine solche Reizwirkung dargethan.

Interessant und wichtig ist nun festzustellen in welchen Verhältnissen das Kupfer als Gift resp. als Reizstoff wirkt und wie seine Wirkung durch obwaltende Bedingungen beeinflusst wird. Desshalb habe ich die vorliegenden Untersuchungen von September 1898 bis zum Juni 1899 in botanischen Institut der Kaiserlichen Universität zu Tokyo, unter Leitung des Herrn Prof. Dr. Miyoshi angestellt, und kam so weit meine Versuche erlaubten zum Ergebnisse, dass die Kupfervitriollösung in weit verdünnterer Konzentration z. B. 0.00005–0.000005%, als die von Haselhoff, Otto und Anderen verwendete, eine auffallendes Gift für Wurzeln einiger höherer Pflanzen ist, und ferner, dass die Giftwirkung wie

1) Rumm, Ueber die Wirkung der Kupferpreparate bei Bekämpfung der sogenannten Blattfallkrankheit der Weinreben. B. d. D. B. G., Bd. XI, 1893.

Rumm, Zur Frage nach der Wirkung der Kupferkalk-Salze bei Bekämpfung der *Peronospora viticola*. B. d. D. B. G. Bd. XI, 1893.

2) Frank und Krüger, Ueber die Reize welchen die Bakterien &c. B. d. D. B. G., B. d. XII, 1894.

3) Aderhold, Ueber die Wirkungsweise der sogenannten Bordeaux-brühe. Centralblatt f. Bakt. &c. II. Abt. Bd. V, 1899.

4) H. M. Richards, Die Beeinflussung des Wachstums einiger Pilze durch chemische Reize. Pringsh. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXX, 1897.

5) Ono, Ueber die Wachsthumbeschleunigung einiger Algen und Pilze durch chemische Reize. Jour. Coll. Sci., Imp. Univ., Tokyo, Vol. XIII, 1900, p. 141.

bekannt durch das Absorptionsvermögen des Bodens mehr oder weniger vermindert werden kann. Betreffs der wachsthumbeschleunigenden Einwirkung von Kupfer auf einige Schimmelpilze steht mein Versuchsergebniss mit demjenigen von Ono im grossen Ganzen im Einklang, indem das Trockengewicht der mit geeigneter Dosis (z. B. bei *Aspergillus niger* 0.004%) des Kupfers kultivierten Pilzes demjenigen der Kontrollkultur gegenüber bis zum Doppelten gesteigert wurde.

II. Methodisches.

In unseren Versuchen mit Ausnahmen von denjenigen bei Topfpflanzen, in welcher das gewöhnliche chemisch reine Kupfersalz verwendet war, kam Merk's garantiert reines Kupfersulfat ($\text{CuSO}_4 + 5\text{H}_2\text{O}$) zur Anwendung.

Bei Versuchen mit Zweigen wandte ich Glassgefässe von ca. 2 Liter Inhalt mit gut schliessenden, in der Mitte durchbohrten, Korkstöpfeln an. Die Versuchsobjekte von möglichst gleichmässiger Grösse und Aussehen wurden unter Wasser abgeschnitten, und durch das Loch des Korkes in die Lösung gesteckt.

Die Versuche mit Topfpflanzen führte ich mit solchen Exemplaren aus, welche mehrere Monate lang in Töpfen gepflanzt gewesen waren und in Grösse und Gestalt von einander nicht wesentlich abwichen. Die Topfpflanzen befanden sich im Freien und wurden jedem Tag mit einer bestimmten Menge Cu-Lösung begossen.

Behufs Bestimmung der minimalen Konzentration, bei welcher die erste sichtbare Schädlichkeit zu beobachten ist, stellte ich die Versuche in Wasserkulturen in ca. 2 Liter, haltigen Glassgefässen

an. Die Samen wurden nachdem sie zum Aufquellen etwa 24 Stunden lang unter destilliertem Wasser verweilt und in Sägespänen zum Keimung gebracht waren, bis die Wurzeln etwa 1-2 cm lang geworden waren, auf über Wasser gespannten Fadennetzen zur weiteren Entwicklung gebracht. Nachdem die Keimlinge einige Centimeter erreicht hatten wurden die Pflänzchen aus dem Keimbette entfernt, und in Wasserkultur gezogen. Die Reinigung der Kulturgefäße geschah zuerst mit Salzsäure und dann mehrmals mit destilliertem Wasser.

Als Kulturflüssigkeit diente mir nur aus Glas destilliertes Wasser mit Zusatz von bestimmten Mengen des Kupfersulfats. Dass ich in allen Fällen stets das reine Wasser, nicht aber Nährlösung anwendete, hat seinem Grund darin, dass das Phosphat welches in einer Nahrung unentbehrlich ist, mit Kupfer unlösliches Kupferphosphat bildet, und je nach dem relativen Mengenverhältnisse entweder den Nährwerth des Phosphors vernichtet oder die Giftwirkung des Kupfers aufgehoben wird. Auf diese Weise konnten die Versuche selbst verständlich nur so lange andauern als die Selbsternährung der Keimlinge aus ihren eigenen Reservestoffbehältern ausreicht.

Ich stellte die Lösungen von Kupfersalz dadurch her, dass ich eine Originallösung von 0.01% Gehalt auf den gewünschten Grad verdünnte. Mit der Versuchsflüssigkeit füllte ich Glaszylinder und befestigte eine Keimpflanze durch die Oeffnung des Korkes unter Zuhilfsnahme von Watte derartig, dass die Wurzel in die Lösung eintauchte, während das Endosperm oder Cotyledon nicht direkt benetzt wurde. Um das Licht von der Wurzel abzuhalten wurden alle Gefäße mit schwarzem Papier umgewickelt.

Um zu beurtheilen ob die Wurzelzellen todt oder noch lebend

waren, diente mir stets die Plasmolyse-Methode mit 5% Salpeterlösung.

Bei Pilzkultur wandte ich meistens Richards A Lösung¹⁾ sowie in einigen Fällen die Pfeffersche Nährlösung²⁾ mit Zusatz von 5% Rohrzucker an. Je 100 ccm dieses Gemisches wurde in Erlenmeyersche Kolben von etwa 250 ccm Inhalt gefüllt und üblicherweise sterilisiert.

Um auf Kupfer in den Pflanzen zu prüfen, wandte ich Ferrocyankalium mit schwacher Salzsäure an. Sabatier³⁾ hat eine konzentrierte Lösung von Bromwasserstoffsäure zum Nachweis des Kupfers empfohlen, welche selbst mit sehr geringen Mengen Kupfer eine hochrote Färbung liefert. Mehrere Versuche jedoch haben mich veranlasst, dieses Reagens wieder aufzugeben. Es zeigte sich dass das Holz von Coniferen auch bei Abwesenheit von Kupfer damit eine röthliche Färbung liefert. Die Grenze der Empfindlichkeit des ersteren Reagens liegt bei ca. 1/100000, in welcher Verdünnung des Kupfervitriols das Reagens eine schwach aber doch erkennbare Färbung nach einiger Zeit giebt. Die praktische Empfindlichkeitgrenze des letztgenannten Reagens scheint mir derjenigen von Ferrocyankalium etwa gleich zu sein.

III. Das Verhalten abgeschnittener Zweige gegen Kupfersulfatlösungen.

In diesem Kapitel will ich die Symptome der an Kupfervergiftung erkrankten Zweige einiger Nadelhölzer beschreiben. Die

1) Richards, l.c.

K ₂ HPO ₄0.50g.	MgSO ₄0.25g.	NH ₄ NO ₃ 1.00g.
EisenSpuren	Rohrzucker ...5.00g.	Wasser.....99.00 ccm.

2) Behren's Tabellen für mikroskopische Technik. III Aufl. 1893, p. 145.

Ca(NO ₃) ₂4 g.	MgSO ₄1 g.
KNO ₃1 g.	KH ₂ (PO ₄)1 g.

3) Sabatier, Compt rendus de l'academie de science, T. CXVIII, 1893, p. 980 und 1260.

von mir angewandten Pflanzen waren *Pinus Thunbergii*, *Cryptomeria japonica* und *Thuja japonica*, deren Zweige, wie oben erwähnt, unter Wasser abgeschnitten und dann in die Lösung gestellt wurden. Gewöhnlich ist die eintretende Erkrankung schon nach einigen Tagen zu beobachten, jedoch hängt dies natürlich von dem Konzentrationsgrade und äusseren Bedingungen ab.

Untersucht man ein solches Zweigstückchen so zeigt die untere Partie des Siebtheils des Gefässbündels eine bräunliche Färbung, welche von unten nach oben allmählich fortschreitet und endlich bis zum Siebtheil der Nadeln reicht. Zugleich zeigen die Chlorophyllkörper eine Schädigung indem sie ihre normale Gestalt ändern. Demgemäss erhält der Inhalt der Mesophyllzellen eine schwache grüne Färbung und dann degeneriert das Protoplasma zu einer dunkelbräunlichen Masse, welche die Bräunung in den Nadeln verursacht. Auf diese Weise beginnt das dunkle, bräunliche Aussehen der Nadeln von der Basis zum Scheitel fortzuschreiten und schliesslich verbreitet sich die Verfärbung auf die ganzen Zweige, und damit geht die Pflanze allmählich zu Grunde. Die Nadeln, besonders diejenigen von *Pinus*, vetrockneten unter Bräunung öfters nur an ihrer unteren Hälfte, während die Oberhälfte noch schwach grün blieb. Je jünger die Sprosse desto länger widerstehen sie dem schädlichen Einfluss.

Bei der mikroskopischen Prüfung ergiebt ich, dass die Sklerenchymzellen, die Zellwandungen der Basttheile, ferner alle Elemente der Holzkörper bis auf das Mark, je nach der Konzentration der Lösung, mit Ferrocyankalium mehr oder weniger rothbraun gefärbt werden, aber mit abnehmender Intensität gegen den Gipfel hin. In dem Holztheil stark mit dem Kupfersalze imbibierter Aeste, erfüllen oft die Ferrocyankupfer-Niederschläge die Gefässe und in einigen Fällen, sammelten sie

sich in dem Hofräumen der Tüpfel an, ähnlich wie das Eosin in den Versuchen Strasburger's¹⁾ über den Verlauf der Leitungsbahnen sich ansammelte. Die in verdünnte Lösung gestellten Zweige zeigen nur in den Markstrahlen rothe Färbung, während die Holztheile sehr schwach oder fast vollständig ungefärbt bleiben.

Auffallend ist die Erscheinung wie Strasburger²⁾ seiner Zeit constatirte, dass die Harzgänge von *Pinus* die in einer Kupfervitriollösung z. B. 0.1% oder oft in 0.05% eingestellt war, im ganzen Holzkörper bis zum Gipfel stets eine schöne grüne Farbe zeigen. Die Intensität dieser Färbung nimmt von der Basis nach den Gipfel ab und selbst bei der 0.001 % Lösung ist die Farbenreaktion, obgleich schwächer doch immer deutlich bei denjenigen Harzgängen die an den Schnittflächen sich befinden wahrzunehmen.

Innerhalb der Nadeln, ist die Farbenreaktion des Kupfers im Hypoderm und in den Gefässtheilen, oft in den Wandungen der Mesophyllgewebe wahrnehmbar. Unsere Beobachtung an *Pinus*-Nadeln stimmte hierin mit Strasburger's³⁾ analogen Befunden ganz überein. Das Mesophyllgewebe zeigte keine Kupferreaktion bei gewöhnlicher Behandlung mit Ferrocyankalium. Bei diesem Falle sollen wie Loew⁴⁾ und Tschirch⁵⁾ betonten, einige complicirte organische Verbindungen des Kupfers mit dem Chlorophyll, Lecithin und Fett der Chloroplasten gebildet werden, was die Erkennung der Reaction erschwert. Die Zweige, welche in verdünnten Lösungen vollständig gesund blieben, wurden verascht und nach Lehmann's Methode⁶⁾ auf Kupfer geprüft, wobei ich stets positive Resultate erhielt.

1) Strasburger, Bau und Verrichtung der Leitungsbahnen, 1891, p. 579.

2) ebenda, p. 619 u. 622.

3) Strasburger, l. c. p. 635.

4) Loew, Natürliche System der Giftwirkung, 1893, p. 31 und 34.

5) Tschirch, Das Kupfer, 1893, p. 25, 33 u. 35.

6) Lehmann, Hygienische Studien über Kupfer, IV. Archiv. f. Hygiene. Bd. XXVII, 1896.

Aus den erhaltenen Resultaten ist zu ersehen, dass die minimale Konzentration der Kupfervitriollösungen welche auf die Zweige der 3 Nadelholzarten noch einwirkt zwischen 0.005-0.001% liegt. Die Zweige von *Thuja* sind etwas widerstandsfähiger gegen das Kupfer als die zwei anderen Arten, denn erstere konnten bei längerer Zeitdauer in einer 0.005% Lösung fast vollständig gesund bleiben, während die beiden letzteren frühzeitig abstarben oder halb vertrockneten.

IV. Das Verhalten von Topfpflanzen gegen Kupfervitriollösungen.

Bekanntlich kann der Boden eine erhebliche entgiftende Einwirkung auf die Pflanzen bei Salzen schwerer Metalle ausüben. Hierüber habe ich eine Reihe von Versuchen mit Topfpflanzen angestellt und gelangte zu folgenden Resultaten.

Jede Topfpflanze wurde, je nach den vorhandenen Erdmengen des Topfes, mit bestimmten Quantitäten der Kupfervitriollösung und nachher mit reinem Wasser begossen und für eine Zeitlang stehen gelassen. Während der Versuchszeit wurden die Symptome der Erkrankung beobachtet.

Aus den von mir ausgeführten Versuchen ersehen wir, dass die angewandten Topfpflanzen (*Pinus Thunbergii*, *Thuja occidentalis*, *Cryptomeria japonica*¹⁾), ihre Lebensthätigkeit in solcher Erde, welche mit ziemlich starken Kupferlösungen begossen wurde, auf längere Zeitdauer behalten können, während dieselbe Konzentrationen bei Zweigen, wie unsere vorher mitgetheilten Experimente zeigen, offenbar sehr schädlich gewirkt hätten. Dieser

1) Die *Cryptomeria*-pflanzen litten leider durch einen Sturm so stark, dass die Resultate der Versuchs nicht weiter beachtet werden konnten.

Unterschied beruht auf der Verschiedenheit des Mediums, indem die Erde wie schon gesagt wegen ihrer grossen Absorptionsfähigkeit die Giftwirkung der angewandten Lösung erheblich verminderte. Ich habe die Absorptionskraft der in den Töpfen enthaltenen Erde für Kupfer durch den folgenden Versuch festgestellt:—

500 gr. luft trockene Gartenerde wurden in 1000 ccm der 5% $\text{CuSO}_4 + 5\text{H}_2\text{O}$ Lösung gebracht und nach 48 Stunden langem Contact abfiltriert. Im Filtrat wurde das Kupfer bestimmt.

200 ccm der ursprünglichen 5% Lösung enthalten

3.482g CuO.

dieselbe Menge vom Filtrat enthält 0.888g CuO.

daher absorbierte die Gartenerde 2.594% CuO.

oder 2.068% Cu.

Meine Versuch ergaben, dass 2 Topfpflanzen von *Pinus Thunbergii* nach 4 Monaten noch lebendig waren, selbst als 100 ccm der 5% Lösung auf 12 Mal (d. h. eine gesammte Menge ca. 17 gr Cu) gegeben worden waren. Das Trockengewicht der Topferde betrug ca. 700g daher müssen ca. 15 g Cu schon von der Erde absorbiert gewesen sein während die überschüssige Menge des Kupfers theils noch in den Erde blieb, theils aber durch späteres Nachgiessen entweder vom Wasser ausgewaschen wurde oder theilweise in die Pflanze eindringen konnte. Indessen war noch kein erheblicher nachtheiliger Einfluss auf den oberen Theil der Pflanze wahrzunehmen.

Bei einer der obenerwähnten Topfpflanzen, die am 2 Juni von der Erde befreit wurden, konstatierte ich, dass die Wurzeln mit Ausnahme von denjenigen welche in der Mitte der Topferde lagen fast vollständig abgestorben waren. Nachher wurde der aufgenommene Kupfergehalt sowohl der Blätter als auch des Stengels quantitativ bestimmt:—

- | | |
|--------------------------------------|-----------|
| 1. Trockengewicht der Blätter | 36.9g. |
| Cu-Gehalt derselben..... | 0.00015g. |
| 2. Trockengewicht des Stengels | 33.8g. |
| Cu-Gehalt derselben..... | 0.00055g. |

Vergleicht man diesen Gehalt an Kupfer mit demjenigen welcher in Boden bleibt, so sieht man, dass der erstere nur ein Bruchstück des letzteren ist.

Natürlich wird das Kupfer beim Uebergiessen der Erde nicht gleichmässig im Boden absorbiert, die oberflächlichen Erdsichten empfangen zuerst eine beträchtliche Menge, während die nächst tiefere Schicht noch von dem Metall frei bleibt. Bei fortdauernder Berieselung aber wird der Kupfergehalt des Bodens allmählich von oben nach unten fort schreiten. So werden die Wurzeln an der oberen Erdschicht zuerst Schädigung erfahren und abgetötet werden bis schliesslich der nachtheilige Einfluss auf das ganze Wurzelsystem verbreitet wird. So lange der oberirdische Theil der Pflanzen noch lebendig bleibt, wenn auch ihre Wurzeln schon abgestorben sind, muss der Transpirationswasserstrom durch solche leblose Wurzeln stattfinden. Auf diesem Gebiete, hatten Hansen¹⁾ und Janse²⁾ bereits festgestellt, dass die Pflanzen nach Tödtung der Wurzeln längere Zeit vollkommen frisch bleiben und eine beträchtliche Wassermenge mit Hülfe der abgestorbenen Wurzeln aufnehmen können.

Die Zellen der lebenden Wurzeln besitzen einen erheblichen Widerstand für Permeabilität der gelösten Stoffe. Tötet man aber die Zellen durch giftige Stoffe, so können nicht nur diese Stoffe sondern auch alle gelösten Substanzen leicht durch die

1) Hansen, Ein Beitrag zur Kenntniss des Transpirationswasserstromes. Arb. d. bot. Inst. in Würzburg. Bd. III, p. 308 u. 313.

2) Janse, Die Mitwirkung der Markstrahlen bei der Wasserbewegung im Holze. Pringsh. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XVIII, p. 17.

Wurzelzellen hindurch dringen¹⁾ und werden mit dem Transpirationsstrom aufwärts steigen. Auf diese Weise nehmen die obengenannten Topfpflanzen, die mit stärkeren Kupfersulfatlösung begossen sind, doch noch eine geringe Menge des Kupfers durch die abgestorbene Wurzel ins Körperinnere auf und kann sogar eine nicht unbedeutende Anhäufung im demselben stattfinden.

V. Die Abhängigkeit der Einwirkung des Kupfersulfats von der Luftfeuchtigkeit.

Natürlich ist die Transpiration der Pflanzen von äusseren Bedingungen, besonders von Feuchtigkeit und Temperatur der Luft, abhängig²⁾ und erhebliche Verminderung derselben ist unvermeidlich wenn die umgebende Luft mit Dampf gesättigt ist. Demnach muss die Einwirkung der Giftlösung, welche mit dem Transpirationsstrom in den Pflanzenkörper eindringen kann, durch Luftfeuchtigkeit mehr oder minder beeinflusst werden.

Nobbe³⁾ bemerkte, dass die vergifteten Pflanzen längere Zeit turgescent bleiben können und die Giftwirkung nicht aufgehoben wurde, wenn die Pflanzen im feuchten Raume oder im Dunkeln gehalten worden sind, ferner zeigte sich bei Versuchen Gaunersdorfers⁴⁾ mit Lithiumsalzen eine ähnliche Thatsache.

Um die Einwirkung des Kupfervitriols unter der erwähnten

1) Strasburger, l. c. p. 852-853 und dort citierte Arbeit von Saussure, *Recherches chimique sur la végétation* 1804.

2) Pfeffer, l. c. p. 221 u. 227.

3) Nobbe, Untersuchung über die Giftwirkung der Arsens, Blei und Zink &c. *Landwirth. Vers. St. Bd. XXX, 1883.*

4) Gaunersdorfer, Die Verhalten der Pflanzen bei Vergiftungen speciell durch Lithiumsalze. *Landw. Vers. St. Bd. XXXIV, 1887, p. 193.*

Bedingung festzustellen, wurden die Halme von Gerste und die Triebe von Bohnen in 0.1% Kupfervitriollösung eingetaucht und ein Theil der Kultur in einem dampfgesättigten glasbedeckten Kasten der andere offen im Zimmer unter gleicher Temperatur gehalten.

Eine Anzahl diesbezüglicher Versuche ergab, dass der Transpirationsstrom, wie erwartet, auf die Giftwirkung der Kupferlösung einen wesentlichen Einfluss übt und die Beschädigung des oberen Theils der Pflanzenkörper durch die Luftfeuchtigkeit erheblich vermindert wird. In unseren Versuchen blieb z. B. die Bohne 7 Tage und die Gerste 4 Tage lang im sehr feuchten Räume noch gesund, während die Kontrollpflanzen in gewöhnlicher Zimmerluft schon lange abgestorben waren.

VI. Das Verhalten einiger Kulturpflanzen in Kupfervitriollösungen.

Um die minimale Grenzkonzentration für die Giftwirkung der Kupfervitriollösung zu ermitteln, kamen in unseren Versuchen in aus Glas destilliertem Wasser kultivierte *Pisum*- und *Mais*-Keimlinge in Anwendung¹⁾, und zum Vergleich führte ich auch einige Kulturen mit aus einer Kupferretorte destilliertem Wasser aus.

Die Zuwachsgrösse der Kulturen wurde vor und nach dem Versuche durch Messung der Länge der Wurzeln und der Sprossen von der Insertionsstelle der Kotyledonen aus oder der Endo-

1) Der Grund warum ich bei den Kulturen keine Nährlösung hinzugefügte, wurde schon in Kap. II erwähnt.

sperms mit einander verglichen und ferner wurde das gesammte Trockengewicht der Sprosse und Wurzeln bestimmt.

Ich beobachtete bei einigen Versuchen mit *Pisum sativum*, dass die minimale Konzentration der Kulturlösungen, welche auf die Wurzeln nicht mehr tödtlich einwirkt, zwischen 0.00005% und 0.00001% liegt, ferner konnte ich auch eine Schädigung durch aus einer Kupferretorte destilliertes Wasser bemerken, doch zeigte in einem Falle die Pflanze, welche in solchem Wasser gehalten worden war, nicht nur keine Schädigung sondern eine kräftige Entwicklung und somit keinen Unterschied zu den Kontrollpflanzen. Folgende Tabelle zeigt die Resultate :

Konzentration der Lösungen.	Die Länge der Sprosse in cm. Mittel aus je 5 Pflanzen.			Die Länge der Hauptwurzeln in cm. Mittel aus je 5 Pflanzen.			Trockengewicht der Sprosse und Wurzeln in g. Mittel aus je 5 Pflanzen.	Verhalten der Wurzeln nach dem Versuche.	Zimmer- temperatur.
	Vor und nach dem Versuche.	Zu- wachs.		Vor und nach dem Versuche.	Zu- wachs.				
Kontroll.	5.5	26.0	20.5	15.9	22.6	6.7	0.220	lebend	12-23°C.
Aus Kupferretorte dest. Wasser.	5.5	14.7	9.2	14.2	15.4	1.2	0.101	abgestorben	
0.000001% CuSO ₄ + 5H ₂ O.	5.7	20.4	14.7	13.4	24.0	10.6	0.143	lebend	
0.000005% CuSO ₄ + 5H ₂ O.	5.4	22.5	17.1	14.5	20.2	5.7	0.132	„	
0.00001% CuSO ₄ + 5H ₂ O.	4.5	17.4	12.9	15.5	18.5	3.0	0.103	„	
0.00005% CuSO ₄ + 5H ₂ O.	5.7	15.0	9.3	14.5	15.1	0.6	0.097	abgestorben	
0.0001% CuSO ₄ + 5H ₂ O.	5.3	14.3	9.0	13.6	13.8	0.2	0.083	„	

Aus anderen Versuchsreihen mit *Mais* folgt, dass eine 0.000001% Lösung einen nachtheiligen Einfluss auf die Versuchspflanzen nicht mehr ausübt und dass die minimale Konzentration, welche auf Wurzelzellen derselben giftig ist, in der That

zwischen 0.000001% und 0.000005% liegt; selbst 0.000001% Lösung wirkt auf die Längenzuwachs der Seiten- sowie Hauptwurzel ziemlich stark hemmend ein, und vermindert das Trockengewicht der Pflanzenkörper. Ebenfalls wirkt das aus einer Kupferretorte destillierte Wasser auf die Wurzeln meistens vergiftend. Die Einzelresultate sind in folgender Tabelle zusammengestellt :

Konzentration der Lösungen.	Die Länge der Sprosse in cm. Mittel aus je 5 Pflanzen.			Die Länge der Hauptwurzeln in cm. Mittel aus je Pflanzen.			Trockengewicht der Sprosse und Wurzeln in g. Mittel aus je 5 Pflanzen.	Verhalten der Wurzeln nach dem Versuche.	Zimmer- temperatur.
	Vor und nach dem Versuch.		Zu- wachs.	Vor und nach dem Versuch.		Zu- wachs.			
Kontroll.	7.1	19.6	12.5	13.2	25.1	11.9	0.130	lebend	15-24°C.
Aus Kupferretorte destil. Wasser.	7.2	16.3	9.1	14.4	14.5	0.1	0.106	abgestorben	
0.000001% CuSO ₄ + 5H ₂ O.	6.5	17.5	11.0	11.9	24.8	12.9	0.115	lebend	
0.000005% CuSO ₄ + 5H ₂ O.	7.0	16.7	9.7	14.0	18.8	4.8	0.109	abgestorben	
0.00001% CuSO ₄ + 5H ₂ O.	6.6	18.0	11.4	11.3	12.4	1.1	0.110	„	
0.00005% CuSO ₄ + 5H ₂ O.	5.9	12.7	6.8	12.4	13.0	0.6	0.069	„	
0.0001% CuSO ₄ + H ₂ O.	7.4	11.0	3.6	14.6	14.9	0.3	0.062	„	

Dass solche grosse Verdünnung auf Mais und Erbse noch schädlich einwirkt, ist meines Wissens noch nicht bekannt. Die Arbeiten von Haselhoff¹⁾ und Otto²⁾ geben keine Auskunft darüber; die genannten Autoren experimentierten mit viel stärkeren Lösungen. Nach den Versuchen von Heald³⁾ konnte 1/51200 Gr.

1) Haselhoff, l. c. p. 261 und folg.

2) Otto, l. c. p. 327-334.

3) Heald, l. c. p. 139.

Mol. Kupfersulfatlösung den Wurzelzuwachs von *Pisum* hemmen und eine halb so konzentrierte Lösung übe auf Erbse- und Mais-Wurzeln nicht mehr eine nachtheilige Einwirkung aus. Diese Versuche Heald's sind aber auf eine kurze Zeitdauer beschränkt und so konnte natürlich irgend ein Nachtheil, der bei längerer Einwirkung hervortreten könnte, nicht wahrgenommen werden. In unseren Versuchen wirkte eine weitaus verdünntere Lösung als 1/102400 Gr. Mol. nach 2 Tagen bei Mais und in 3-10 Tagen bei Erbse sicher schädigend ein.

Auch das aus Kupfergefässen destillierte Wasser übe bei meinen Versuchen auf beide Pflanzen mit Ausnahme von einem Falle sicher eine beeinträchtigende Einwirkung aus. Bekanntlich erklärte Naegeli¹⁾ das Vergiften der *Spirogyra* Fäden durch destilliertes Wasser durch die Annahme einer oligodynamischen Wirkung des Kupfers. Loew²⁾ beobachtete in der That einen geringen Kupfergehalt in aus Kupfergefässen destilliertem Wasser. Auch die Versuche Otto's³⁾ ergaben eine schädliche Wirkung solchen Wassers beim Weizen.

Was die Symptome an den erkrankten Wurzeln anbelangt, so ist zu bemerken, dass ihr Aussehen zuerst milchweiss wird, dann von Scheiteltheil beginnend sie ihrer ganzen Länge nach gebräunt werden, dann der Turgor verschwindet und die Wurzel abstirbt. In den selbst in sehr verdünnte Kupferlösungen eingestellten Wurzeln trat gewöhnlich eine bläuliche Färbung an

1) v. Naegeli, l.c.

2) Loew, Bemerkung über die Giftwirkung des destillierten Wassers. Landw. Jahrb. Bd. XX, 1891.

3) Otto, l.c. p. 326. Auch die Ionen-Theorie wurde verwendet um die Giftwirkung der Kupfersalze zu erklären (Copeland und Kahlenberg, The Influence of the Presence of pure Metals upon Plants. Trans. of Wisc. Acad. Vol. XII, 1899.)

der Wachstumszone oder den benachbarten Gewebetheile ein. Diese Färbung ist durch das aufgespeicherte Kupfer verursacht, was mit Ferrocyankalium leicht demonstriert werden kann.

Können die lebenden Wurzeln, ohne Schaden verdünnte Kupferlösung aufnehmen? Darüber sind die Beobachtungen nicht übereinstimmend; so war De Candolle¹⁾ der Ansicht, dass Kupfer von den Pflanzen aufgenommen werden kann, ferner gelangten Phillips²⁾, Freytag³⁾, Tschirch⁴⁾ und andere zu gleichem Ergebnisse. Andererseits scheint es nach Otto⁵⁾ nicht der Fall zu sein.

In neuerer Zeit, äusserte Overton⁶⁾ die Ansicht, dass „alle Verbindungen, welche schon in mässig verdünnter Lösung zum grössten Theil in die Ionen zerfallen sind, nicht merklich in das Protoplasma eindringen, so lange die Grenzschichten des Protoplasts unbeschädigt sind,“ und ferner „durch eine aktive Resorption können noch diese Substanzen unter gewissen von der Lebensthätigkeit der Zelle abhängigen Umständen, von den Zellen aufgenommen werden.“ Unzweifelhaft ist aber wie Pfeffer⁷⁾ betonte, dass „die Pflanze sehr erhebliche Mengen von sehr giftigen Körpern sogar in gelöster Form speichern kann, wenn nur durch Darbietung einer genügend verdünnten Lösung dafür gesorgt ist, dass in dem lebendigen Protoplasmaleib nie eine schädigende Konzentration erreicht wird.“ So ist es höchst wahrscheinlich dass in unseren Versuchen, eine so verdünnte Kupfervitriollösung wie von

1) De Candolle, *Physiologie végétale*. Bd. I, 1832, p. 289.

2) Phillips, l.c.

3) Freytag, l.c.

4) Tschirch, l.c. p. 17.

5) Otto, l.c. p. 334.

6) Overton, Ueber die osmotische Eigenschaft der Zelle in ihrer Bedeutung für die Toxicologie und Pharmakologie. *Sond. Abd.*, 1896, p. 10.

7) Pfeffer, l.c. p. 429.

0.000001% in die lebenden Wurzeln von Mais und Erbse ohne Schaden eindringen kann, während eine konzentriertere Lösung ihren Weg ins Zellinnere erst finden kann wenn die Lebensthätigkeit des Zelleibes beeinträchtigt worden ist.

Um eigene Erfahrung über die relative Schnelligkeit des Eindringens der Cu-Lösung in lebende resp. abgestorbene Wurzeln zu gewinnen, hatte ich einerseits die mit warmem Wasser getödteten Wurzeln von *Pisum* und anderseits lebende Wurzeln in 1% Kupfervitriol-Lösung gestellt. Schon nach einer Minute, zeigten die todtten Wurzeln der ganzen Länge nach, besonders an der Wachstumszone, starke Kupferreaktion, während die lebenden Wurzeln noch ungefärbt blieben. Erst nach drei Stunden, trat bei den gesunden Wurzeln in den um den Scheitel liegenden Theilen und in den Seitenwurzeln eine ebenso intensive Kupferreaktion ein, wie bei den getödteten Wurzeln schon nach einigen Minuten. Die Versuche zeigen genügend wie schwer eine mässig konzentrierte Giftlösung in lebende Zellen eindringt, da sie einen gewissen Widerstand seitens des Zelleibes zu überwinden hat; ganz anders ist es aber bei todtten Zellen wo das Eindringen nur auf mechanische Weise stattfindet.

EINE BEMERKUNG UEBER DIE DESORGANISATIONERSCHEINUNGEN DER WURZELZELLE.

Die Desorganisationserscheinungen der *Spyrogyra*-Zellen in Kupferlösungen wurden von Naegeli¹⁾ eingehend studiert, welcher

1) v. Naegeli, l.c. p. 33.

zeigte, dass die löslichen Stoffe nach ihrer Konzentration drei Arten tödlicher Erkrankung hervorbringen; nämlich in grösster Menge des Kupfers die physikalische, in mässiger Menge die chemische, in geringster Menge die oligodynamische Todesart.¹⁾ Diesbezügliche Versuche wurden auch in neuerer Zeit durch Cramer²⁾ und Rumm³⁾ angestellt. Nach den letztgenannten zwei Autoren sollen die oligodynamische Erkrankungen der *Spirogyra*-Zellen erst von 0.001% Verdünnung des Kupfersulfats an auf dem Objectträger auftreten. Es wurde aber in unseren Versuchen mit den Wurzelzellen von Mais und Erbse nicht festgestellt, dass in einer gleich starken solchen Lösung eine eben solches Todessymptom wie Naegeli angab stets zu Stande kommt. Auch in einer stark konzentrierten Lösung (z. B. 10%) findet nach der Untersuchung von Klemm⁴⁾ das Absterben der *Momordica*-Zelle ohne jede Configurationsänderungen statt und die Kontraktion des Pasma ist nach demselben Autor nicht ein spezifisches Todessymptom, sondern nur die Folge der Einwirkung des schädigenden Mittels in geringeren Grade.

Obgleich die in unseren Versuchen verwendeten Kupferlösungen (0.00001%, 0.0001%, 0.001%, 0.01%, 0.1% und 1%) sowie das aus einer Kupferretorte destillierte Wasser besonderes charakteristische Desorganisationserscheinungen an den Wurzelzellen nicht zeigten, so sind doch folgende Aenderungen wahrzunehmen: das

1) Nach Loew's Ansicht beruht die charakteristische Wirkung hochverdünnter Kupferlösungen auf *Spirogyra* darauf, dass die Chlorophyllspirale Kupfer speichert daher lange vor dem Nucleus und Cytoplasma abstirbt und sich allein contrahiert. (Die chemische Energie der lebenden Zellen, 1899.)

2) Cramer, Nachtrag zu Naegeli's Untersuchungen über oligodynamische Erscheinungen &c., 1893, p. 43.

3) Rumm, Zur Kenntniss der Wirkung der Bordeaux-Brühe und ihrer Bestandtheile auf *Spirogyra longata* und der Uredosporen von *Peronospora coronata*. Fünftück, Zeit. f. wiss. Bot. Bd. I, 1895, p. 97.

4) Klemm, Desorganisationserscheinung der Zelle. Pringsh. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXVIII, 1895, p. 670.

Plasma zieht sich mehr oder minder von der Membran in unregelmässigen Umrissen zurück und wird schwach dunkel gefärbt, der Zellsaft wird trüb, und der Kern schrumpft einseitig zusammen.

VII. Kupfervitriol als Wachstum beschleunigendes Reizmittel auf Pilze.

Es erschien mir interessant die Reizwirkung des Kupfers bei 2 Pilzarten (*Aspergillus niger* und *Penicillium glaucum*) zu untersuchen und obgleich meine diesbezüglichen Versuche nicht zahlreich sind beweisen sie doch, dass das Kupfer, wie viele andere Metalle, auch eine beschleunigende Einwirkung auf das Wachstum genannter Pilze ausüben, und die Ernte der Pflanze bedeutend vergrössern kann; so betrug z. B. bei *Aspergillus* welcher in einer 0.004% Kupfervitriol haltigen Nährlösung kultiviert wurde, in einem Falle das Erntegewicht 0.983 g. während bei Normalkultur nur 0.489 g. Bei *Penicillium* wurde in 0.008% Kupfer enthaltenden Kulturflüssigkeit 0.969 g. Ernte erhalten, während in der nicht kupferhaltigen Lösung nur 0.740 g.

In fast allen Kulturen in Pfeffers Lösung erreichte das Mycelium beider Pilzarten eine sehr beträchtliche Entwicklung und war mit einer reichlichen Menge von Calciumoxalat-Krystallen, welche durch die Verbindung der von Pilze ausgeschiedene Oxalsäure mit Ca-Salz der Nährlösung gebildet war, dicht bedeckt.

Die Conidienbildung von *Aspergillus* trat bei allen Kulturen fast gleichzeitig ein, während bei *Penicillium* mit steigenden Konzentrationen sie immer langsamer stattfand.

Abgesehen von kleinen Schwankungen ist die optimale Konzentration bei dem ersteren Pilz ca. 0.004% und beim letzteren ca. 0.008%¹⁾.

VIII. Resumé der Resultate.

1. Die Erkrankungssymptome eines Nadelholzweiges, der in einer sehr verdünnten Kupfervitriollösung verweilte, sind folgende: der Siebtheil erhält zuerst eine gelb bräunliche Verfärbung, die Chlorophyllkörper sind misgestaltet und schliesslich tritt Bräunung der Nadeln ein. Die Verfärbung schreitet nun von unten nach oben fort und zuletzt verbreitet sie sich auf alle Theile des Zweiges.

2. Die minimale Konzentration des Kupfervitriols, welche auf Zweige von *Cryptomeria*, *Pinus* und *Thuja* schon schädlich einwirken kann, liegt zwischen 0.001–0.005%. *Thuja* ist etwas widerstandfähiger als die zwei anderen Arten.

3. Die Gartenerde besitzt eine merkliche Absorptionskraft für Kupfersalze und demgemäss dient sie in ihm erwachsenen Pflanzen als ein entgiftendes Mittel, so dass stark gekupferte Topfpflanzen auf längere Zeitdauer ihre Lebensthätigkeit fortsetzen können.

4. Die Giftwirkung des Kupfersalzes ist von der Luftfeuchtigkeit abhängig, insofern diese die Grösse des Transpirationsstromes beeinflusst.

5. Die Wurzeln von Erbe und von Mais sind gegen das Kupfer so empfindlich, dass sie schon in stark verdünnten Kupfer-

1) Vergl. Ono, Ueber die Wachsthumbeschleunigung einiger Algen und Pilze durch chemische Reize. Journ. Coll. Science, Imp. Univ., Tokyo. Vol. XIII, 1900, p. 162, 179 u. 180.

vitriollösungen absterben. Am empfindlichsten ist gewöhnlich die Wachstumszone. Die erkrankte Wurzel wird zuerst milchweiss dann schwach gelblich braun, und schliesslich dunkelbraun.

6. Die minimale Konzentration der Kupfervitriollösung, in welcher die Erbsenwurzeln lebendig bleiben können, liegt zwischen 0.00005%–0.00001% und bei Maiswurzeln zwischen 0.000005%,–0.000001%. Obschon eine 0.00001% Lösung auf die Wurzeln von Erbse und eine 0.000001% auf diejenigen von Mais nicht mehr tödtlich einwirken, führen sie doch noch einen schädlichen Einfluss auf den Zuwachs derselben herbei.

7. In Uebereinstimmung mit früheren Angaben kann das aus Kupfergefässen destillierte Wasser auch eine tödtliche Einwirkung auf die Wurzeln hervorrufen.

8. Das Kupfer kann als Reizmittel das Wachsthum einiger Pilze beschleunigen; die günstige Konzentration liegt bei *Penicillium* bei ca. 0.008% und die bei *Aspergillus* bei ca. 0.004%.

Zum Schluss sei es mir erlaubt, Herrn Prof. Dr. Miyoshi auf dessen Vorschlag ich die vorliegenden Studien unternahm, für seine vielfache Anregung und Unterstützung den verbindlichsten Dank aussprechen und auch Herrn Prof. Dr. Matsumura sage ich an dieser Stelle für das wohlwollende Interesse welches er meiner Arbeit entgegengebracht hat, meinen herzlichen Dank.

Juni, 1900.

Botanisches Institut,
Kaiserl. Universität
zu Tokyo.



Inhalt.

- I. Einleitung und Litteratur.
 - II. Methodisches.
 - III. Das Verhalten abgeschnittener Zweige gegen Kupfersulfatlösungen.
 - IV. Das Verhalten von Topfpflanzen gegen Kupfersulfatlösungen.
 - V. Die Abhängigkeit der Einwirkung des Kupfersulfats von der Luftfeuchtigkeit.
 - VI. Das Verhalten einiger Kulturpflanzen in Kupfersulfatlösungen.
 - VII. Kupfervitriol als Wachstum beschleunigendes Reizmittel auf Pilze.
 - VIII. Resumé der Resultate.
-

TAFEL XIX.

Wasserkulturen von *Pisum sativum* (photographiert am Ende des Versuches).

1. Ohne Zusatz von Kupfervitriol. Kultur in aus Glasgefäßen destilliertem Wasser.
2. Ohne Zusatz von Kupfervitriol. Kultur in aus einem Kupfergefäß destil. Wasser.
3. Mit Zusatz von 0.000001% $\text{CuSO}_4 + 5\text{H}_2\text{O}$.
4. Mit Zusatz von 0.000005% „
5. Mit Zusatz von 0.00001% „
6. Mit Zusatz von 0.00005% „
7. Mit Zusatz von 0.0001% „

(vergl. S. 385.)

