

Sitzungsberichte

der

mathematisch-naturwissenschaftlichen
Abteilung

der

Bayerischen Akademie der Wissenschaften
zu München

Jahrgang 1943

München 1944

Verlag der Bayerischen Akademie der Wissenschaften

In Kommission bei der C. H. Beck'schen Verlagsbuchhandlung



Erdalgen und Arsen

Erster Teil: Welchen Einfluß erfahren Erdalgen durch Einwirkung von III-wertigem und V-wertigem Arsen?

Zweiter Teil: Vermögen Erdalgen den Arsengehalt des Bodens zu beeinflussen?

Von **Thekla Weintraut** in München

Mit 12 Abbildungen.

Aus dem Botanischen Institut der Technischen Hochschule München.

Abteilung landwirtschaftliche und alpine Botanik.

Vorgelegt von Herrn F. Boas am 14. Mai 1943.

Einleitung

Arsen und seine Verbindungen spielen schon im Altertum eine große Rolle in der Kriminalistik und der Pharmakologie. Seit dem Jahre 1740 finden Arsenverbindungen Anwendung als Schädlingsbekämpfungsmittel in der Land- und Forstwirtschaft. Auch manche unserer heute gebräuchlichen Düngemittel enthalten Arsen.

Die Wirksamkeit der arsenhaltigen Mittel hängt ab von der Art der Arsenverbindungen und damit von ihrer Löslichkeit bzw. Hydrolisierbarkeit. Darum sind die Salze der arsenigen Säure weit giftiger als die der Arsensäure. Das Kation hat nach Appel keinen Einfluß auf die Höhe der Giftwirkung, doch „bestimmt das salzbildende Metall die Stabilität der betreffenden Arsenverbindung“.

Im Gemüse-, Obst- und Weinbau und in der Forstwirtschaft werden meistens Salze der Arsensäure: Kupfer-, Kalk- und Bleiarsen in Form von Spritz- und Stäubemitteln verwendet. Diese Salze des V-wertigen Arsens schädigen die behandelten Pflanzen weniger als die wasserlöslichen der arsenigen Säure. Deshalb haben letztere kaum Anwendung als Spritzmittel gefunden. Sie werden nur dort verwendet, wo eine schonende Behandlung der Pflanzen nicht erforderlich ist. An Verbindungen der arsenigen

Säure kommen Na- und Ca-Arsenit und Arsenik (Arsentrioxyd) zur Verwendung, weiterhin Schweinfurter-Grün-Präparate.

Die Wirkung der Arsenmittel beschränkt sich aber nicht auf die zu bekämpfenden Schädlinge. Einmal können die behandelten Pflanzen selber geschädigt werden. Dann bildet der Umgang mit den Arsenspritz- und -stäubemitteln eine Gefahr für den Menschen. Weiterhin kann durch die im Wein-, Obst- und Gemüsebau verwendeten Arsenmittel eine Gefährdung der menschlichen Gesundheit gegeben sein durch den Genuß arsen behandelter Pflanzenteile, wie Gemüse und Früchte oder der aus ihnen hergestellten Genuß- und Lebensmittel (Wein enthält im Liter 0,1–1 mg Arsen). Es gelangt demnach ein gewisser Prozentsatz des durch die Vergiftungsmittel in den Boden gekommenen Arsens bis in die reife Frucht der Rebe. Auch Sorauer wirft die Frage auf, ob die behandelten Pflanzen selber das Arsen aufnehmen und damit für den Genuß unzuträglich werden können. Eine direkte Aufnahme so großer Arsenmengen, die eine letale Wirkung haben können, scheint wohl nicht in Betracht zu kommen, da bei den Untersuchungen der in Frage kommenden Nahrungs- und Genußmittel nie derartige Feststellungen gemacht wurden.

Der letzten klärenden Antwort hierauf wird man näherkommen, wenn die behandelten Pflanzen nicht für sich isoliert, sondern als Glied ihrer pflanzlichen Lebensgemeinschaft betrachtet werden. Dazu gehört vor allem die Mikrolebewelt des Standorts, die eine Voraussetzung für das höhere Pflanzenleben bildet. Von diesem Gesichtspunkt aus muß auch die Frage untersucht werden, ob durch übermäßige Anwendung von Arsenmitteln der Boden so mit Arsen angereichert und vergiftet werden kann (Trappmann und Appel), daß Wachstumsstörungen und damit Herabsetzung der Fruchtbarkeit eintreten können.

Die nachteiligen Wirkungen der Arsenmittel verschwinden nach einiger Zeit infolge „der raschen Umsetzung der Arsen-salze“ (Appel). Es tritt also eine Entgiftung ein. Als Ursachen dafür sind verschiedene Theorien aufgestellt worden. Nach Schätzlin und anderen Autoren wird „das in Form der sehr schädlichen arsenigen Säure in den Boden kommende Arsen im Verlauf der Zeit durch gewisse basische Bodenbestandteile zu

schwer löslichen, daher für die Pflanzen unschädlichen Salzen gebunden“. Weiterhin erfolgt eine „Entgiftung des Arsens durch Kalk und durch andere die arsenige Säure bindende Düngemittel“, die in Form von Handelsdünger und Stallmist in den Boden gebracht werden (Trappmann). König glaubt die Humusstoffe des Bodens an der Reduktion des Arsens zu Arsenwasserstoff beteiligt. Dabei zeigen jedoch seine eigenen Versuche, daß sich z. B. Kalk und Lehmboden, die sich im Humusgehalt nahestehen, trotzdem sehr verschieden gegen arsenige Säure verhalten.

Diese Tatsache zeigt, daß des Rätsels Lösung nicht nur in einer von der chemisch-physikalischen Bodenbeschaffenheit bedingten chemischen Gesetzmäßigkeit zu suchen ist. Wieder führt der Weg zu der aktiven Mikrolebewelt des Bodens. Die Kenntnis davon, wie sich ihre drei Stämme: Algen, Pilze und Bakterien mit dem bodenfremden Faktor Arsen auseinandersetzen, könnte ein Schlüssel werden für das Verständnis von Zusammenspiel und Wechselwirkung höherer und niederer Pflanzen überhaupt. Da den C-autotrophen Algen als wichtigen Sauerstoffversorgern des Bodens hierbei sicher große Bedeutung zukommt, habe ich bei den im folgenden beschriebenen Kulturversuchen das Schwergewicht verlegt auf die Untersuchung der zwei grundlegenden algologischen Fragen:

1. Welchen Einfluß erfahren Erdalgen durch die Einwirkung von III- und V-wertigem Arsen?
2. Vermögen Erdalgen den Arsengehalt des Bodens zu beeinflussen?

Dabei wurden aber weitgehend Bakterien und Pilze einbezogen, besonders im zweiten Teil der Arbeit, da hier die Wirkungen der einzelnen Stämme aufeinander so verflochten sind, daß sich eine isolierte Betrachtung nicht durchführen läßt, bzw. als unsinnig erweisen würde.

Im ersten Teil wird die Wirkung verschiedener Konzentrationen der arsenigen Säure auf Algen in Erdproben vom Versuchsfeld Obermenzing und für Urgebirgserde von Gastein untersucht. Weiterhin konnte der Einfluß der Natriumsalze der arsenigen Säure bzw. Arsensäure in Vergleichung mit dem Ein-

fluß der arsenigen Säure untersucht werden. Dabei zeigte sich eine größere Wirksamkeit des III-wertigen als des V-wertigen Arsens.

Im zweiten Teil wird die Bodenentgiftung als Oxydation des III-wertigen zu V-wertigem Arsen geklärt. Sie wird durch die Mikroorganismen des Bodens bewirkt. An dem Prozeß beteiligen sich Bakterien, Pilze und Algen. Bakterien und Pilze sind bedeutend aktiver als Algen. Von den hier aufgetretenen Algen vermögen sich nur einzuschalten: *Chlamydomonas variabilis*, *Chlorella vulgaris* und *Stichococcus bacillaris*. Alle anderen Algenarten traten erst nach vollendeter Oxydation, also nach erfolgter Bodenentgiftung, auf.

Erster Teil: Welchen Einfluß erfahren Erdalgen durch die Einwirkung von III-wertigem und V-wertigem Arsen?

Zur Klärung dieser Frage wurden Kulturversuche im Laboratorium angestellt. Unter Berücksichtigung aller in meiner Arbeit „Zur Kenntnis der Erdalgen“ aufgeführten Faktoren wurde Gartenerde vom Versuchsfeld Obermenzing, die zu verschiedenen Jahreszeiten entnommen worden war, und Urgebirgserde von Gastein verschieden hohen Konzentrationen zunächst von arseniger Säure ausgesetzt. Um ein Wirksamkeitsbild zu erhalten, wählte ich extrem hohe Konzentrationen, die in der Natur unter normalen Bedingungen kaum vorkommen und solche, die den im Freiland möglichen Verhältnissen entsprechen können.

Für die Versuche wurden Erlenmeyerkolben aus Jenaer Glas (Marke D 20) mit 100 ccm Inhalt verwendet.

Als Nährlösung wurden 5 g KNO_3 und 5 g NaH_2PO_4 in 2 Liter Münchener Leitungswasser gelöst. Damit wurde eine 0,5%ige Stammlösung von Arsentrionydd (1 : 200) auf die verschiedenen Konzentrationen verdünnt. Davon wurden jeweils 40 ccm in die Versuchskolben gegeben. Die Konzentrationen bleiben bei sämtlichen Kulturreihen die gleichen:

1 :	200	enthält 0,200	g Arsenik
1 :	300	enthält 0,133	g Arsenik
1 :	400	enthält 0,100	g Arsenik

1 :	500	enthält	0,080	g Arsenik
1 :	750	enthält	0,053	g Arsenik
1 :	1000	enthält	0,040	g Arsenik
1 :	2500	enthält	0,016	g Arsenik
1 :	5000	enthält	0,008	g Arsenik
1 :	7500	enthält	0,0053	g Arsenik
1 :	10000	enthält	0,004	g Arsenik
1 :	100000	enthält	0,0004	g Arsenik
1 :	1000000	enthält	0,00004	g Arsenik

Zu jeder Versuchsreihe wurden Kontrollversuche ohne Arsen angesetzt. Sämtliche Kolben wurden mit 2,5 g Ackererde beschickt, mit Wattepfropfen verschlossen und in einiger Entfernung vom Fenster aufgestellt. Da sich beim ersten Versuch zeigte, daß zwischen einigen aufeinander folgenden Konzentrationen kein nennenswerter Unterschied war, konnten diese im folgenden ausfallen, ebenso Konzentration 1:1000000, die der Kontrolle gleichkam. Jeder Versuch wurde in vier Parallelreihen angesetzt, wovon mindestens zwei vergleichend mikroskopiert und in der dritten die Wasserstoffionenkonzentration festgestellt wurde. Gleichzeitig versuchte ich durch Gießen von Würzeagarplatten wenigstens annähernd die zu den verschiedenen Untersuchungszeiten in der Erde vorhandene Keimzahl von Pilzen und Bakterien festzulegen.

Der erste Versuch dieser Art wurde im Winter 1939 angesetzt. Es folgten im Frühjahr, Sommer, Herbst und Winter 1940 und im Frühjahr 1941 weitere Versuche in gleicher Anordnung. Die Kulturen wurden in bestimmten Zeitabständen makroskopisch und mikroskopisch beobachtet.

Bei den Versuchen mit Frühlings- und Sommererde zeigten sich schon nach 10 Tagen als Zeichen beginnender Assimilations-tätigkeit am Rande der Flüssigkeit und der Erde kleine Gasbläschen, beim Versuch mit Herbsterde nach 6 und bei der Wintererde erst mit 8 Wochen. Als erstes Wachstum traten jedesmal Pilzflocken auf, stärker in den höheren als in den schwächeren Konzentrationen. Allerdings wurden sie bei den schwächeren Konzentrationen auch schneller aus dem Erscheinungsbild verdrängt durch Algen und Moose. Beim Versuch mit Wintererde beherrschten die Pilze noch nach 3 Monaten vollkommen das

Feld in den Konzentrationen 1 : 200, 1 : 300, 1 : 400. Bei der Konzentration 1 : 500 zeigte sich nur gegen die Lichtseite ein schwacher Ring. Mit abnehmender Konzentration wurde der Ring stärker, erreichte aber in den Grenzen von 1 : 1000 und 1 : 5000 bei allen Versuchsreihen die größte Stärke. Er wurde von einzelligen Grünalgen gebildet, ebenso die Haut.

Die Algen, die sich in den einzelnen Kulturen entwickelt hatten, wurden zu den verschiedenen Beobachtungszeiten mikroskopisch bestimmt nach Art- und Gattungszugehörigkeit. Da mir aber gerade für die aufgetretenen Algen die Gattungszugehörigkeit sehr unsicher erschien, habe ich mich darauf beschränkt, sämtliche Arten in folgende fünf Gruppen einzuteilen, die in den Kurven der folgenden Abbildungen für sämtliche Versuche durch die gleichen Zeichen dargestellt sind:

I. Einzellige Grünalgen	-----
II. Fadenbildende Grünalgen	-----
III. Gelbgrüne Algen	
IV. Blaugrüne Algen	-----
V. Kieschalgen	-----

Die Ergebnisse der zwei parallel mikroskopierten Reihen waren ziemlich gleich. Deshalb wird hier nur das Ergebnis der einen Reihe gebracht. Außer der Bestimmung von Art und Zahl galt es, den Prozentsatz der einzelnen Gruppen festzulegen. Dieser wurde so ermittelt, daß vielen Stellen der Haut, des Ringes und des Bodenbewuchses Proben entnommen wurden. Bei jedem Präparat wurde der Anteil durch Zählen der Zellen festgesetzt und aus allen Ergebnissen der Gesamtprozentsatz errechnet. Artenzahl und prozentualer Anteil sind in Kurven gegeben. Im Kurvenbild ist als Grundlage für die Einteilung der Abszisse die Zahl des negativen Logarithmus der Konzentrationen gewählt. Auf der Ordinate ist der Algenbewuchs aufgetragen, einmal die Zahl der vorhandenen Arten (1 Art = 5 mm), das andere Mal der prozentuale Anteil der Arten (1% = 1 mm) am Gesamtbewuchs. Aus Raummangel können hier nicht sämtliche bei jeder Untersuchung für jede Konzentration gewonnenen Algenlisten gebracht werden. Ich verweise auf meine Dissertation: Arsenwirkungen auf Bodenmikroorganismen.

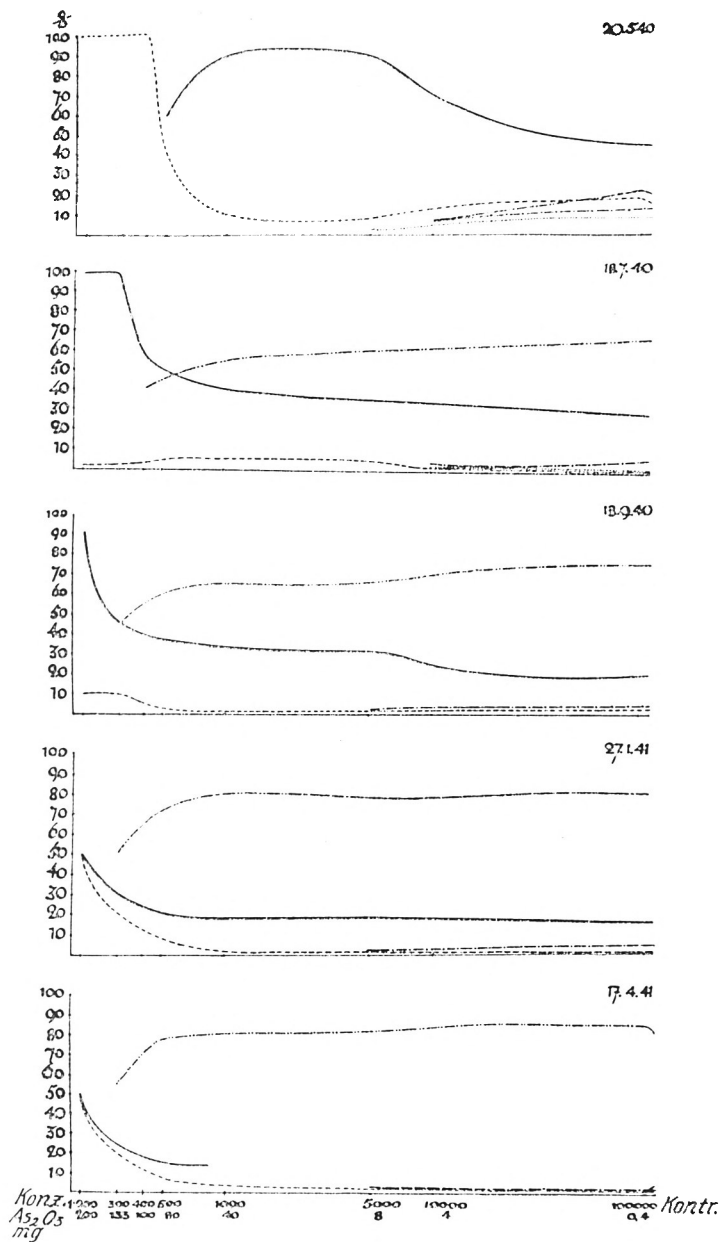


Abb. 1. Frühjahrserde vom Versuchsfeld Obermenzing (12. 4. 1940)
 Prozentualer Anteil der einzelnen Algengruppen in den verschiedenen
 Arsenikkonzentrationen

Gartenerde vom Versuchsfeld Obermenzing

Für die vier Versuchsreihen mit Erdproben vom Versuchsfeld, die zu verschiedenen Jahreszeiten entnommen wurden, sind zunächst die Listen der Algen gegeben, die während des ganzen Jahres in allen Konzentrationen zusammen gefunden wurden. Wie sich diese Arten in den einzelnen Konzentrationen jeweils auf die genannten Gruppen verteilen, wird ersichtlich aus Abb. 1, 3, 5, 7. Die Zahl der Arten in den Konzentrationen zu den verschiedenen Zeiten geben Abb. 2, 4, 6 und 8.

Frühjahrserde

- I. *Chlamydomonas variabilis* Dangeard
- Chlorella vulgaris* Beyerinck
- Chlorococcum humicolum* (Naeg.) Rabh.
- Characium acuminatum* Braun
- Scenedesmus quadricauda* (Turb.) Breb.

II. *Ulothrix tenerrima* Kütz.

Ulothrix subtilis Kütz.

Abb. 2. Frühjahrserde von Obermenzing (angesetzt am 12. 4. 1940)
Zahl der Algenarten in den verschiedenen Arsenikkonzentrationen

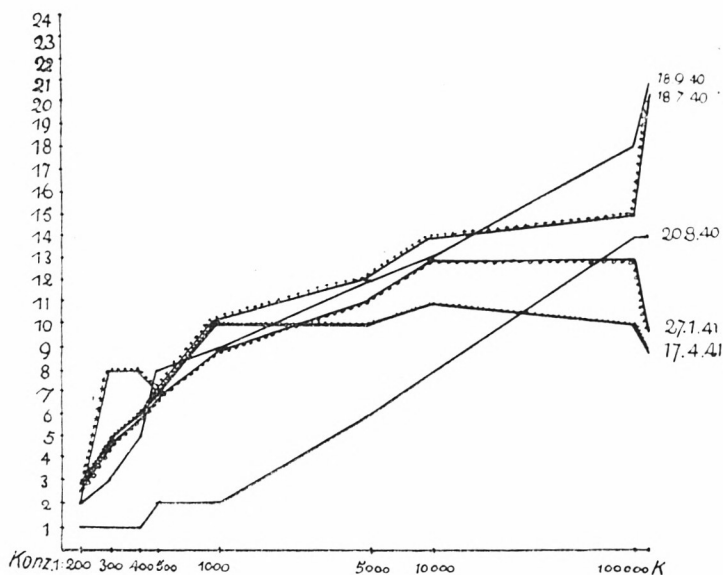


Abb. 2a. Gesamtzahl der zu den 5 Untersuchungszeiten jeweils gefundenen Algen

Ulothrix Oscillarina Kütz.

Stichococcus bacillaris Naegeli (große Form)

Stichococcus bacillaris Naegeli (kleine Form)

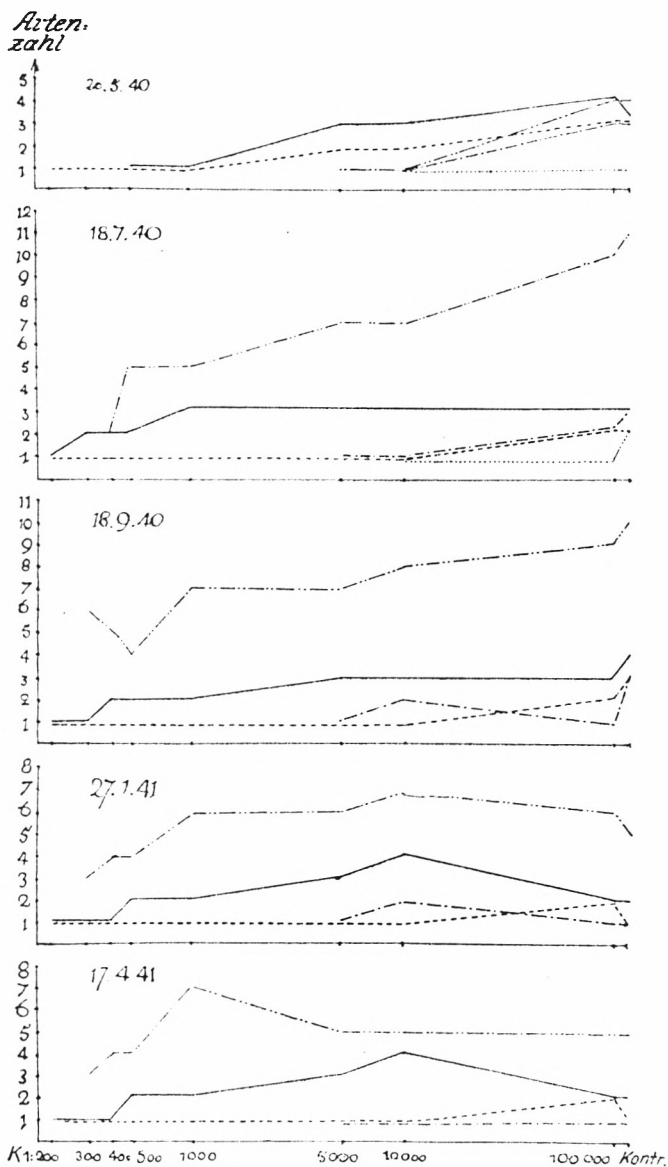


Abb. 2b. Verteilung dieser Gesamtzahl auf die 5 Algengruppen

III. *Bumilleria exilis* Klebs*Heterococcus viridis* ChodatIV. *Oscillatoria brevis* Kütz.*Oscillatoria subtilis* Kütz.*Oscillatoria subtilissima* Gomont*Oscillatoria amphibia* Agardh*Phormidium molle* (Kütz.) Gomont*Phormidium foveolarum* (Mont.) Gomont*Phormidium ambiguum* Gomont*Anabaena variabilis* Kütz.*Anabaena affinis* Lemmermann*Anabaena spiroides* Klebahn*Nostoc commune* Vaucher*Nostoc Linckia* (Roth) Bornet*Nostoc muscorum* Kütz.*Nostoc ellipsosporum* (Desmacies) Rabh.*Cylindrospermum stagnale* Kütz.*Cylindrospermum minutissimum* Collins*Dactylococcopsis* spec.*Microcystis pulverea* (Wood) MigulaV. *Navicula cryptocephala* var. *intermedia* und *veneta* Kütz.*Navicula rynchocephala* Kütz.*Hantzschia amphioxys* (Ehrl.) Grün

zusammen 34 Arten

Sommererde

I. *Chlamydomonas variabilis* Dangeard*Chlorella vulgaris* Beyerinck*Chlorococcum humicolum* (Naeg.) Rabh.*Scenedesmus quadricauda* (Turb.) Breb.II. *Ulothrix tenerrima* Kützing*Stichococcus bacillaris* Naegeli (kleine Form)*Stigeoclonium tenue* (Kütz.) HuberIII. *Bumilleria exilis* KlebsIV. *Oscillatoria brevis* Kütz.*Oscillatoria subtilis* Kütz.*Phormidium ambiguum* Gomont

Anabaena variabilis Kütz.

Anabaena affinis Lemmermann

Nostoc commune Vaucher

Nostoc Linckia (Roth) Bornet

Abb. 4. Sommererde (27. 5. 1940)

Zahl der Algenarten in den verschiedenen Arsenikkonzentrationen

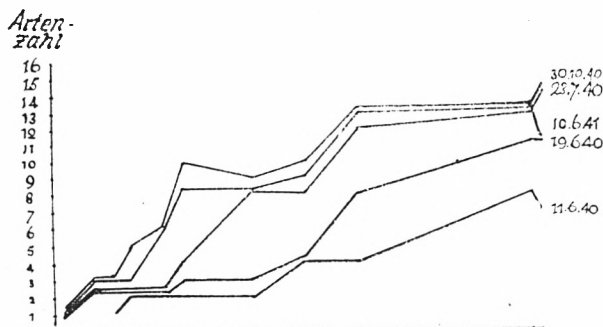


Abb. 4a. Gesamtzahl der Algen zu den 5 Untersuchungszeiten

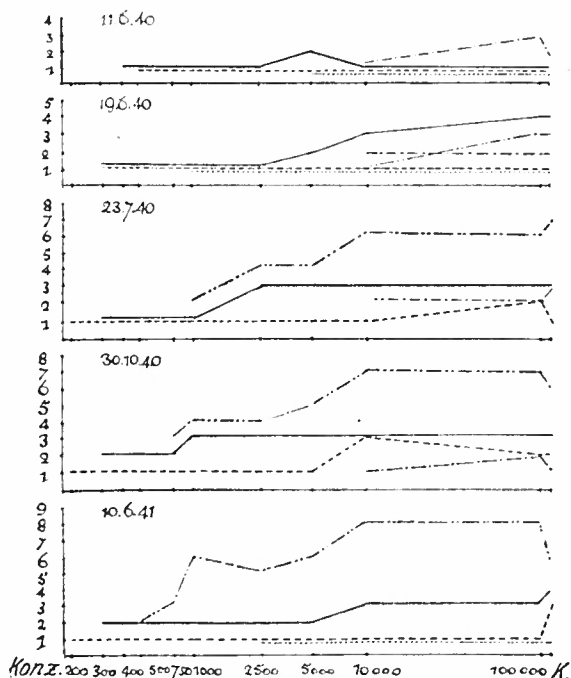


Abb. 4b. Verteilung der Gesamtzahl auf die 5 Algengruppen

Nostochopsis lobatus Wood

Cylindrospermum stagnale Kütz.

Cylindrospermum minutissimum Collins

Calothrix stellaris Bornet et Flahault

Microcystis pulvereus (Wood) Migula

V. *Navicula cryptocephala* var. *intermedia* und *veneta* Kütz.

Hantzschia amphioxys (Ehrl.) Grün

23 Arten

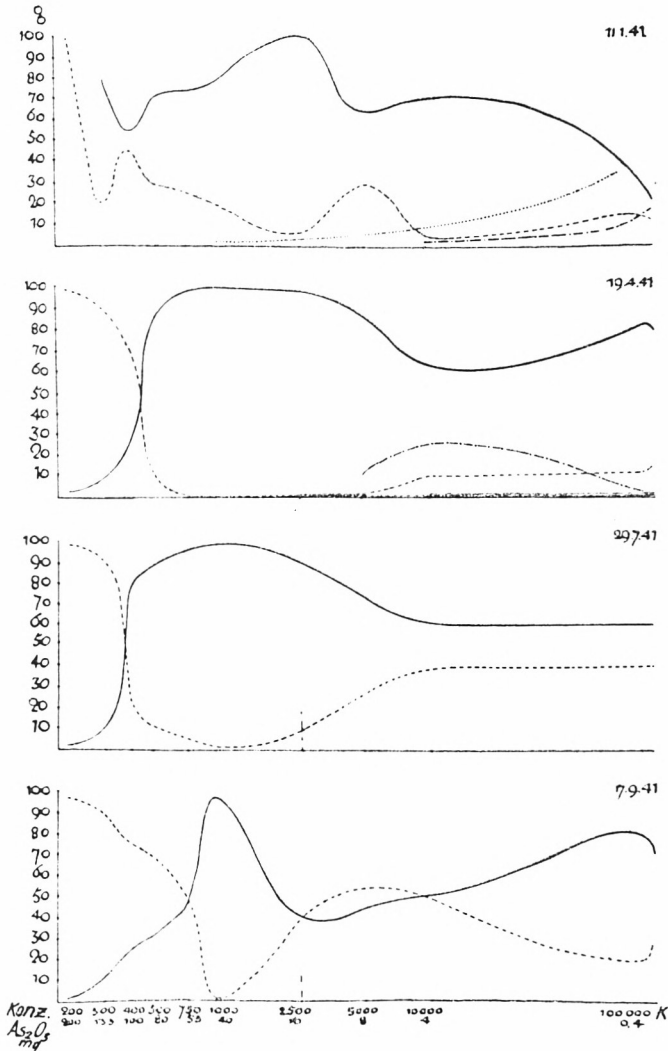


Abb. 5. Herbesteide (17. 9. 1940). Prozentualer Anteil der Algengruppen

Herbsterde

- I. *Chlamydomonas variabilis* Dangeard
- Chlorella vulgaris* Beyerinck
- Chlorococcum humicolum* (Naeg.) Rabh.
- II. *Ulothrix tenerrima* Kütz.
- Stichococcus bacillaris* Naegeli (kleine Form)
- Stichococcus bacillaris* Naegeli (große Form)
- III. *Bumilleria exilis* Klebs
- IV. *Oscillatoria subtilis* Kützing
- V. *Navicula cryptocephala* var. *intermedia* und *veneta* Kützing
- Hantzschia amphioxys* (Ehrl.) Grün
- Surirella ovalis* Brebisson var. *maxima* Grün

12 Arten

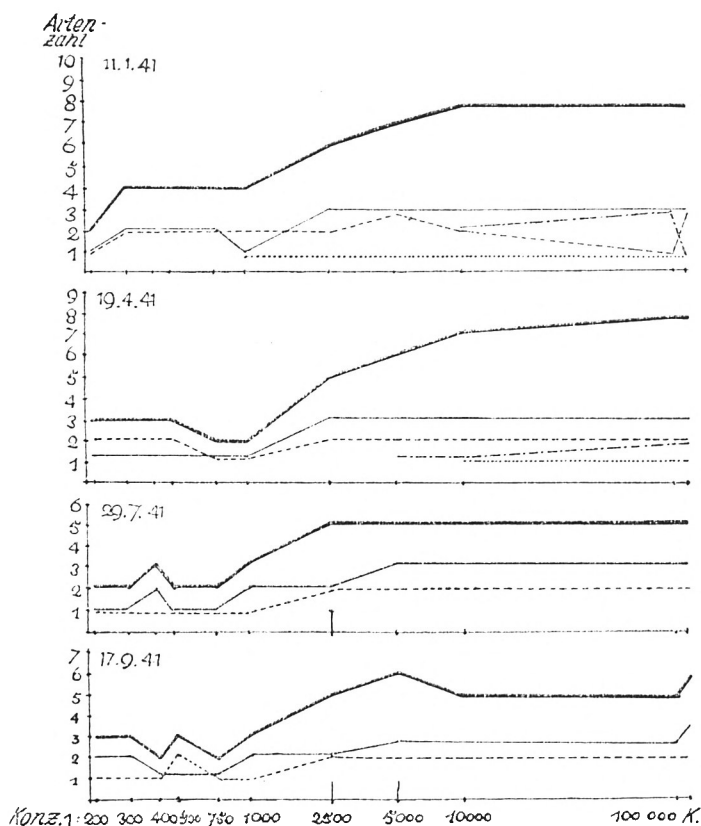


Abb. 6. Herbsterde (17. 9. 1940)

Zahl der Algenarten zu vier Untersuchungszeiten. Die dick gezeichneten Linien geben die Zahl sämtlicher in einer Kultur aufgefundenen Arten. Die dünnen Linien bezeichnen den Anteil der einzelnen Gruppen

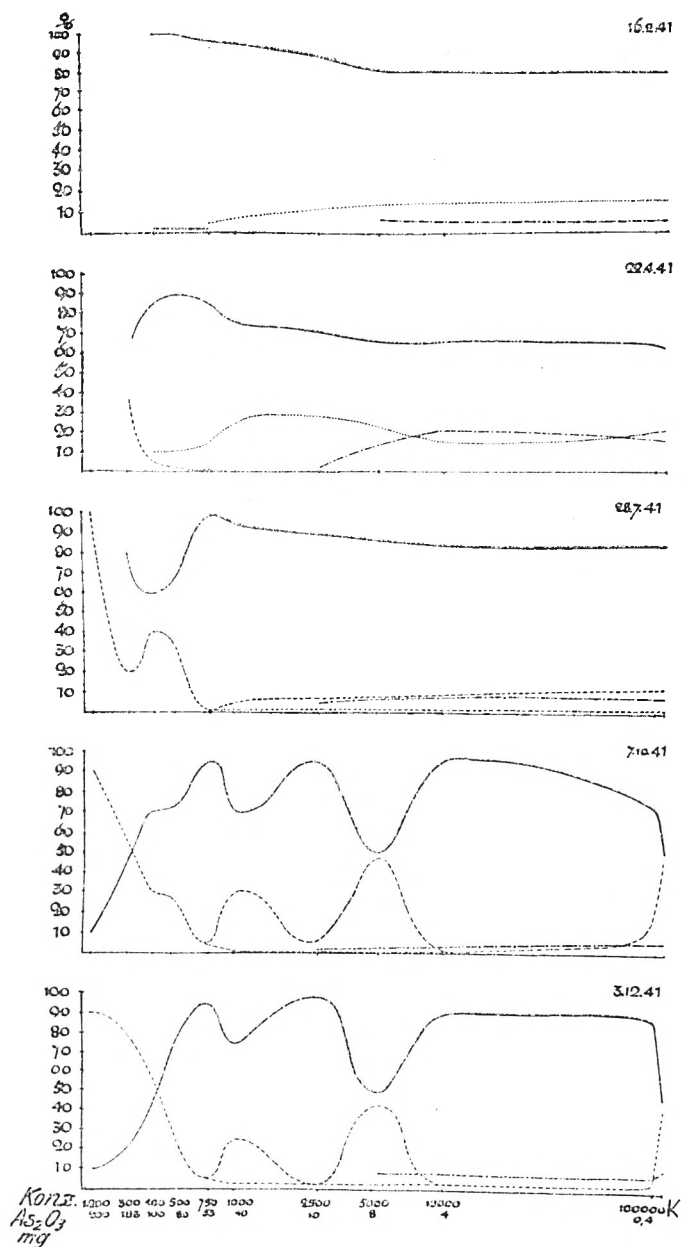


Abb. 7. Wintererde (12. 12. 1940)
Prozentualer Anteil der einzelnen Algengruppen

Wintererde

I. *Chlamydomonas variabilis* Dangeard*Chlorella vulgaris* Beyerinck*Chlorococcum humicolum* (Naeg.) Rabh.*Oocystis terrestris* WeintrautII. *Ulothrix tenerrima* Kützing*Stichococcus bacillaris* Naegeli (kleine Form)III. *Bumilleria exilis* KlebsV. *Navicula cryptocephala* var. *intermedia* und *veneta* Kütz.*Hantzschia amphioxys* (Ehrl.) Grün

10 Arten

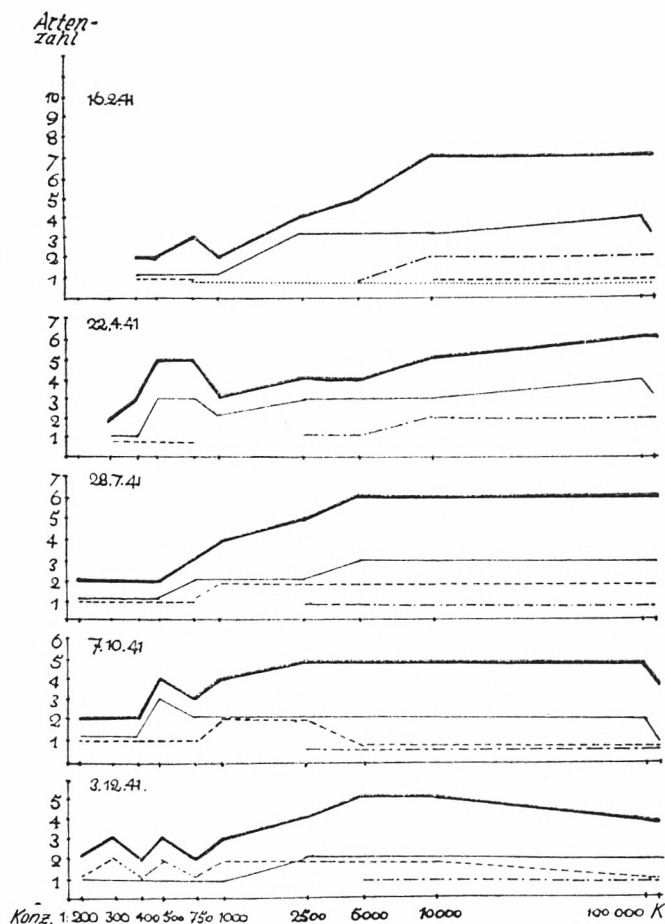


Abb. 8. Wintererde (12. 12. 1940)

Zahl der Algenarten zu vier verschiedenen Untersuchungszeiten. Die dick gezeichneten Linien geben die Zahl sämtlicher in einer Kultur gefundenen Arten. Die dünnen Linien bezeichnen den Anteil der einzelnen Gruppen

Zusammenfassung der Ergebnisse der vier Versuchsreihen.

Die Versuchsergebnisse stimmen nicht ganz miteinander überein. Die Verschiedenheit läßt sich auf eine verschiedene Ausgangsflora in den vier Erdproben zurückführen. Diese ist bedingt durch die Einbringung der Erde zu den verschiedenen Jahreszeiten. Aus den Listen und Kurven geht hervor, daß die Algenflora nach Artenzahl und Zusammensetzung etwas differiert. Die Frühjahrserde ist mit 34 Arten die algenreichste, dann folgt die Sommererde mit 23 Arten, der sich mit weitem Abstand Herbst- und Wintererde mit 12 und 10 Algenarten anschließen. Die Ausgangsflora ist auch in ihrer Zusammensetzung verschieden, was sich im Reichtum an Blaualgen in der Frühjahr- und Sommererde zeigt, während diese Familie in den zwei anderen Erdproben vollständig fehlt. Die PH-Verhältnisse sind dahin verschieden, daß sich die beiden ersten Proben mit 7,35 und 7,52 entsprechen und die beiden letzten mit den PH-Werten von 6,60 und 6,56. Im weiteren Verlauf der Kulturversuche können aber die PH-Verhältnisse in den Kulturen der einzelnen Konzentrationen nicht für die Wachstumsverschiedenheit verantwortlich gemacht werden. Das gesamte Leben in sämtlichen Konzentrationen und während des ganzen Versuchsverlaufes spielte sich innerhalb einer PH-Skala von 5 bis 8 ab. Die PH-Werte, die einige Tage nach Ansetzen einer Versuchsreihe gemessen wurden, liegen für alle Konzentrationen annähernd um den Neutralpunkt. Da die Kulturen sich selbst überlassen und die PH-Werte nicht konstant gehalten wurden, ergab sich zunächst eine Ansäuerung des Kulturmediums, die allmählich wieder zurückging. Dabei blieben aber die Konzentrationen, die stärker sind als 1 : 2500 im Bereich des Sauerens absteigend proportional den ansteigenden Konzentrationen, doch so, daß die stärkste Konzentration 1 : 200 annähernd einen PH-Wert von 5 hatte. Schwächere Konzentrationen als 1 : 2500 blieben mit geringen Differenzen untereinander alkalisch, kamen aber selten über den Phenolphthaleinpunkt hinaus ($\text{PH} = 8$). Auf Grund zahlreicher Feststellungen können innerhalb des ganzen vorliegenden PH-Intervalls fast sämtliche aufgefundenen Algenarten mit Ausnahme einiger Kieselalgen (*Hantzschia*) und weniger Blaualgen, auftreten.

Wenn man diese verschiedenen Voraussetzungen berücksichtigt, läßt sich sagen, daß der Einfluß der arsenigen Säure in allen Versuchsreihen sich übereinstimmend folgendermaßen geltend macht:

In den schwächsten Konzentrationen zeigt sich kaum eine Wirkung auf Algen. Erst von Konzentration 1 : 10000 aufwärts tritt eine deutliche Schädigung ein:

Proportional mit dem Aufsteigen der Konzentrationen zeigt sich deutliches Abnehmen der Algenvegetation bezüglich des mengenmäßigen Wachstums, Verringerung der Artenzahl, starke Verschiebung des prozentualen Anteils der Algenfamilien und der einzelnen Arten innerhalb der Gesamtbegrünung, Auslese bestimmter Arten und deren Bindung an bestimmte Konzentrationen und zuletzt veränderte Morphologie dieser Arten.

I. Einzellige Grünalgen.

Die Listen und Kurven allein geben kein klares Bild vom Verhalten dieser Gruppe, besonders was den prozentualen Anteil betrifft. Die Grünalgen sind die anpassungsfähigste und labilste Gruppe. Wo andere Algen fehlen, breiten sich die einzelligen Grünalgen stark aus, lassen sich aber auch sehr leicht verdrängen, besonders von fadenbildenden Grünalgen und Blaualgen.

Das Erscheinungsbild wird bestimmt von *Chlamydomonas variabilis* Dangeard.

Die Alge ist in allen Konzentrationen vertreten; ganz vereinzelt oder zu 100% in den stärksten Konzentrationen, je nachdem *Stichococcus bacillaris* vorhanden ist oder nicht. 100% besagen nicht ein maximales Wachstum, sondern nur das ausschließliche Vorkommen. Von Konzentration 1 : 1000 steigt die Kurve aufwärts und erreicht bei 1 : 5000 bzw. 1 : 2500 ein Maximum. Auch die Individuenzahl hat hier einen Höchststand erreicht. Es kommt in allen Versuchen die gleiche Art vor, die systematisch nicht gesichert ist. Einige Stadien würden den bei

Pächer unter *Chlamyd. variabilis* Dangeard entsprechen. Da aber die dort als Entwicklungsgang gegebene Zusammenstellung mit meinen bisherigen Beobachtungen nicht übereinstimmt, ich aber bis jetzt nicht in der Lage bin, ein vollständig geklärtes und umfassendes Bild zu geben, soll die Bezeichnung *Chlamydomonas variabilis* belassen werden. Diese *Chlamydomonas*art wurde rein in verschiedenen Arsenikkonzentrationen kultiviert. Auch hier hat sie sich am schnellsten und mengenmäßig am stärksten entwickelt in Konzentration 1 : 5000. Der mikroskopische Befund zeigte hier wie bei den Erdversuchen außergewöhnlich große, aber sonst normal entwickelte Individuen. Es traten Sporen auf von einem Durchmesser bis zu $85\ \mu$ mit einer dreifach geschichteten Galerthülle, die bis $10\ \mu$ Dicke erreichte. In der Kontrolle und in den schwachen Konzentrationen hatten die Sporen einen Durchmesser von 20 bis $27\ \mu$. Die Maximalentwicklung bei 1 : 5000, die schon makroskopisch erkenntlich ist durch eine frischgrüne Haut und einen hohen dichten Ring, muß als typische Arsenwirkung im Sinne einer Förderung angesehen werden. Nach einem halben Jahre zeigte sich in allen Konzentrationen ölige Verfettung des Blattgrünkörpers.

Chlorella vulgaris Beyerinck und *Oocystis terrestris* Weintraut sind in meiner Arbeit „Zur Kenntnis der Erdalgen“ genau beschrieben.

Chlorococcum humicolum (Naeg.) Rabh. kommt in allen Konzentrationen vor und zeigt keine Besonderheiten. Dazu kommt *Scenedesmus quadricauda*, eine periodisch auftretende Alge, und *Characium acuminatum*, das nur einzeln in Erscheinung tritt.

II. Fadenbildende Grünalgen.

Die fadenbildenden Grünalgen teile ich in zwei Untergruppen, die in den Kurven durch das gleiche Zeichen veranschaulicht sind (-----):

1. ausgesprochene Fadenalgen: *Ulothrix tenerrima*, *Ulothrix subtilis*, *Ulothrix Oscillarina*, *Stigeoclonium tenue*,
2. *Stichococcus bacillaris* in zwei Unterarten,

die ich hier nach ihrem Erscheinungsbild als große und kleine Form bezeichne. Die große Form müßte auf Grund ihrer Erscheinungsform nach den Bestimmungswerken als *Hormidium* oder *Gloeotila* angesprochen werden. Durch verschiedentliches Umimpfen und durch zweijährige Beobachtung gelang es, diese Algenfäden, die sich wieder auf ein Akinetenstadium zurückführen lassen, einwandfrei als *Stichococcus* zu identifizieren. Im Akinetenstadium haben die Zellen eine durchschnittliche Breite von 5 μ . Eine kleinere Art, die selten und dann nur kurze Fäden bildet, vor allem in höheren Konzentrationen, hat eine durchschnittliche Dicke von 2,8 bis 3,5 μ im Akinetenstadium.

Bei Zugabe größerer Mengen von CaCl_2 bildete die große Form mehrere zentimeterlange Fäden, während die kleine Form im Akinetenstadium verblieb, allerhöchstens kurze Fäden von 12 Zellen bildete. Genaue und zusammenhängende Berichte über *Stichococcus* werden später folgen. Bei der Besprechung der einzelnen Arten kann die große *Stichococcus*-form nach ihrem Auftreten in die Nähe von *Ulothrix* gestellt werden, nach ihrem Verhalten aber zur kleinen Form von *Stichococcus*. Die zwei Arten lassen sich genau auseinanderhalten.

Bei der Versuchsreihe mit Frühjahrserde war nach einem Monat *Ulothrix* bis zu der Konzentration 1 : 5000 aufgetreten. Im Juli setzte bereits fettige Zersetzung des Chromatophors und Zerfall der Fäden ein. *Stichococcus* (große Form) zeigte sich nur in der Kontrolle, wo die kleine Form eine untergeordnete Rolle spielt. Beim Versuch mit Sommererde finden sich *Ulothrix* und *Stigeoclonium* in den schwächsten Konzentrationen bis 1 : 10000. *Stichococcus* (kleine Form) ist von Anfang an in sämtlichen Konzentrationen vorhanden. Beim Versuch mit Herbsterde tritt *Ulothrix* erstmalig nach 7 Monaten in allen Konzentrationen auf, die schwächer sind als 1 : 2500. *Stichococcus* (große Form) ist in sämtlichen Konzentrationen vertreten, manchmal im Akinetenstadium, manchmal als lange Fäden. Bei Konzentration 1 : 1000 finden sich im Januar Fäden, die bis April verschwunden sind. Alle stärkeren Konzentrationen zeigen im April noch lange Fäden, bei 1 : 500 im September noch.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß *Ulothrix* und *Stigeoclonium* mit steigender Konzentration an Artenzahl,

prozentualen Anteil und absoluter Menge abnehmen, daß das Auftreten hinausgezögert wird und die Algen schnell morphologischen Veränderungen erliegen und absterben. Die Grenze des Auftretens liegt für die vier Versuchsreihen bei Konzentration 1 : 2500. Ich habe aber ausnahmsweise einmal bei 1 : 400 reichlich Ulothrix gefunden.

Die starke Fadenbildung der großen Stichococcusform fällt zusammen mit dem Vorkommen der echten Fadenalgen. Wo Ulothrix das Erscheinen einstellt, tritt bei ihr Akinetenbildung ein.

Stichococcus (kleine Form) verhält sich umgekehrt. Diese Alge ist in der Kontrolle und in den schwachen Konzentrationen nicht vorhanden. Dagegen tritt sie in den stärksten Konzentrationen am häufigsten auf. Diese Erscheinung könnte man so erklären, daß Stichococcus in den schwachen Konzentrationen von den anderen Algen verdrängt wird und erst, wo die anderen durch Arsenwirkung ausgeschaltet werden, sich ausbreiten kann. Das setzt aber voraus, daß Stichococcus bei Anwesenheit von Arsen zum mindesten keine ernsthafte Schädigung erleidet wie die übrigen Algen.

Das Erscheinungsbild für Stichococcus ist in den Kulturen verschiedener Arsenikkonzentrationen verschieden. In Konzentration 1 : 200 kommt fast ausschließlich Stichococcus vor, die mengenmäßige Entwicklung dagegen ist gering. Es finden sich oft kurze Fäden bis zu 12 Zellen. Eine Förderung von Stichococcus scheint bei den Konzentrationen 1 : 300 und 1 : 400 ersichtlich zu werden. Es zeigten sich leuchtend gelbgrüne schwimmende Rasen. Wenn dieser Zustand als Höchstentwicklung angesprochen werden soll, so fällt sie in die Zeit von April bis Mai. Jedenfalls handelt es sich dabei um ein normales Entwicklungsstadium, das durch Arsen gefördert wurde, denn ich habe die gleiche Beobachtung auch bei Reinkulturen ohne Arsenikzugabe gemacht. Hier war die Erscheinung nicht ganz so intensiv. Was Arsenikwirkung dabei ist und was natürlicher Entwicklungsgang, läßt sich erst klären, wenn ein systematisch und morphologisch gesichertes Bild dieser Alge gegeben werden kann.

III. Gelbgrüne Algen.

In den vier Versuchen war in der Hauptsache *Bumilleria exilis* aufgetreten, nur im Versuch mit Frühjahrserde fand sich außerdem wenig *Heterococcus viridis*. Das Vorkommen von *Bumilleria exilis* ist in Prozent gegeben. Dabei ist *Heterococcus* miteinbezogen, sein Vorkommen macht nur etwa 1 % aus.

Konz.	Kontrolle	1:100 000	1:10 000	1:5 000	1:2 500	1:1 000	1:750	1:500	1:400
Frühjahrserde:									
Mai	10%	10%	5%	—	—	—	—	—	—
Anfang Juli	1%	1%	3%	—	—	—	—	—	—
Ende Juli	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Sommererde:									
Anfang Juni	6%	6%	3%	2%	—	—	—	—	—
Ende Juni	5%	4%	3%	5%	3%	1%	—	—	—
Ende Juli	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Herbsterde:									
Januar	48%	42%	10%	5%	5%	2%	—	—	—
April	1%	2%	—	—	—	—	—	—	—
Juli	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Wintererde:									
Februar	20%	20%	15%	24%	12%	6%	4%	—	—
April	20%	20%	15%	22%	28%	25%	15%	10%	10%
Juli	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Die vier Versuche stimmen im zeitlichen Auftreten überein. Das Erscheinen der blaugrünen Algen ist stark zeitgebunden. Sie treten auf von Januar bis Juni. Der Höhepunkt scheint im Januar zu liegen. Mit ansteigender Konzentration nimmt der Prozentsatz ab. Die Tatsache, daß *Bumilleria* in den vier Versuchen nicht die gleich hohen Konzentrationen erreicht, sondern genau nach aufeinanderfolgenden Jahreszeiten gestuft vordringt, kann ich nur so erklären, daß die Algen nicht zu jeder Jahreszeit, das heißt also nicht in jedem Entwicklungsstadium gleich widerstandsfähig sind gegen Arsenik. Einwandfrei als Arsenwirkung läßt sich nur das Abnehmen der Individuenzahl hinstellen.

IV. Blaugrüne Algen.

Frühjahrserde:

Zahlenmäßige Verteilung der Blaualgenarten auf die einzelnen Gattungen zu den verschiedenen Beobachtungszeiten und höchst erreichte Artenzahl der gleichen Gattungen.

Konz.	nach 1 Monat Mai	nach 3 Monaten Juli	nach 5 Monaten Sept.	nach 9 Monaten Januar	nach 1 Jahr Mai	höchst erreichte Artenzahl während des Jahres	Gesamt- arten- zahl
Kontrolle							12
Nostocaceen	1	4	4	3	3	4	
Oscillatoriac.	2	5	6	2	2	6	
Chroococc.	1	1	—	—	—	1	
Rivulariac.	—	1	—	—	—	1	
1 : 100000							11
Nostocaceen	1	4	5	4	3	5	
Oscillatoriac.	2	4	4	2	2	4	
Chroococc.	1	1	—	—	—	1	
Rivulariac.	—	1	—	—	—	—	
1 : 10000							9
Nostocaceen	—	4	4	4	3	4	
Oscillatoriac.	—	3	4	3	2	4	
Chroococc.	1	—	—	—	—	1	
1 : 5000							9
Nostocaceen	—	4	4	5	4	5	
Oscillatoriac.	—	3	3	1	1	3	
Chroococc.	1	—	—	—	—	—	
1 : 1000							7
Nostocaceen	—	4	5	5	5	5	
Oscillatoriac.	—	1	2	2	1	2	
1 : 500							6
Nostocaceen	—	2	4	4	4	4	
Chroococcae.	—	2	—	—	—	2	
1 : 400							6
Nostocaceen	—	1	5	4	4	5	
Oscillatoriac.	—	1	—	—	—	1	
1 : 300							6
Nostocaceen	—	—	6	3	3	6	

Sommererde:

Konz.	nach 14 Tagen Anf. Juni	nach 19 Tagen Mitte Juni	nach 2 Monaten Ende Juli	nach 5 Monaten Ende Okt.	nach 1 Jahr Juni	höchst erreichte Arten- zahl	Gesamt- arten- zahl
Kontrolle							9
Nostocaceen	1	1	3	4	4	5	
Oscillatoriac.	1	1	3	2	2	3	
Chroococc.	—	1	1	—	—	1	
1 : 100000							9
Nostocaceen	—	—	3	4	4	4	
Oscillatoriac.	2	2	3	2	2	3	
Chroococc.	1	1	—	—	—	1	
Rivulariac.	—	—	—	1	1	1	
1 : 10000							9
Nostocaceen	—	1	3	5	2	5	
Oscillatoriac.	—	1	3	2	3	3	
Rivulariac.	—	—	—	—	1	1	
1 : 5000							6
Nostocaceen	—	—	3	4	4	4	
Oscillatoriac.	—	—	—	1	1	1	
Chroococc.	—	—	1	—	—	1	
1 : 2500							6
Nostocaceen	—	—	3	3	4	4	
Oscillatoriac.	—	—	—	—	1	1	
Chroococc.	—	—	1	—	—	1	
1 : 1000							5
Nostocaceen	—	—	2	4	4	4	
Oscillatoriac.	—	—	—	—	1	1	
1 : 750							4
Nostocaceen	—	—	—	2	3	3	
Oscillatoriac.	—	—	—	1	—	1	
1 : 500							1
Nostocaceen	—	—	—	—	1	1	

Aus den Tabellen wird deutlich eine Auslese der Arten und Gattungen ersichtlich. Mit steigender Konzentration nimmt die Zahl der Arten und Gattungen ab.

Am empfindlichsten gegenüber arseniger Säure zeigt sich die Familie der Rivulariaceen, die in ihren Vertretern Calothrix

stellaris und *Dactylococcopsis* nur bis zur Konzentration 1 : 10000 auftrat; diese Algen zeigten aber dort keine abwegigen Erscheinungen. An nächste Stelle ist zu setzen *Microcystis pulverea* (Familie *Chroococcaceen*). Diese Blaualge dringt noch bis zur Konzentration 1 : 2500 vor und erscheint darin als erste Blaualge überhaupt. Die zu den *Oscillatoriaceen* zusammengefaßten Arten zeigen verschiedene Widerstandsfähigkeit. Sowohl unter den *Oscillatoria*- als unter den *Phormidium*-arten gibt es sehr resistente und sehr empfindliche. *Oscillatoria brevis* und *Ocsillatoria subtilis* verhalten sich gleichartig und vermögen in einer Höchstkonzentration von 1 : 400 zu leben. *Oscillatoria subtilis* wird dabei fast farblos und die Trichome sind spiralig gewunden, so, daß sie leicht mit Pilzmycel verwechselt werden können. Die anderen *Oscillatoria*-arten sind mehr zufällig und nur in schwachen Konzentrationen vorhanden. Von den drei *Phormidium*-arten war *Phormidium foveolarum* in Konzentration 1 : 500 noch lebensfähig, aber farblos. Hingegen sind *Phormidium molle* und *Phormidium ambiguum* nur bis 1 : 10000 zu finden. Die *Oscillatoriaceen* schreiten unter dem Einfluß des Arsens schneller zur Hormogonienbildung als in den Kontrollkulturen.

Von den *Anabaenaceen* und *Nostocales* zeigen speziell *Anabaena variabilis* und *Nostoc commune* eine große Widerstandsfähigkeit. In den schwachen Konzentrationen bis 1 : 10000 halten sich die vorhandenen Blaualgenarten das Gleichgewicht und zeigen auch morphologisch nichts besonderes. In den stärkeren Konzentrationen treten *Anabaena* und *Nostoc* gleich mit Übermacht auf und verdrängen allmählich die anderen Blaualgenarten. In den höchsten Konzentrationen behaupten sie von vornherein und ausschließlich das Feld. Trotzdem könnte man von einer Schädigung dieser Arten sprechen, wenn man die physiologischen und morphologischen Verhältnisse in den höheren Konzentrationen betrachtet und mit denen in den schwächeren Konzentrationen vergleicht. Bis zur Konzentration 1 : 1000 war der Entwicklungsgang der gleiche wie in den Kontrollversuchen. Nach fünf Monaten setzte Bildung brauner Dauerzellen ein. Gleichzeitig traten in der Konzentration 1 : 750 die ersten jungen *Nostoc*- und *Anabaena*-formen auf, die sich im Laufe von

nur vier Monaten zu Dauerzellen umbildeten. Bei Konzentration 1 : 400 war die Umwandlung schon nach drei Monaten vor sich gegangen. Demnach wird die Dauerzellenbildung durch die Einwirkung von arseniger Säure beschleunigt.

Die gleichen Beobachtungen wurden für *Cylindrospermum stagnale* gemacht.

V. Kieselalgen.

Es zeigt sich auch hier eine Abnahme der Artenzahl mit steigender Konzentration. *Hantzschia amphioxys* tritt nur bis zur Konzentration 1 : 10000 auf, erreicht damit die Grenzkonzentration, die sich auch für die anderen empfindlicheren Algen ergeben hat. Die *Navicula*-arten dagegen vermögen noch in Konzentration 1 : 1000 zu leben. Man muß bei diesen Beobachtungen auch die Periodizität berücksichtigen.

Zusammenstellung der in den vier Versuchen aufgetretenen Arten während der ganzen Versuchsdauer.

Konz.	Kontrolle	1:100000	1:10000	1:5000	1:2500	1:1000
Zahl d. Arten	4	3	2	1	1	selten
vorhandene Arten	<i>Hantzschia amphioxys</i> , <i>Navicula</i> c. var. <i>veneta</i> <i>intermedia</i> <i>Navicula rynchocephala</i> od. <i>Surirella</i> od. <i>Pinnularia</i>	<i>Hantzschia amphioxys</i> , <i>Navicula</i> c. var. <i>veneta</i> <i>intermedia</i>	<i>Hantzschia amphioxys</i> , <i>Navicula</i> c. var. <i>veneta</i> <i>intermedia</i>	— — <i>Navicula</i> c. var. <i>veneta</i> <i>intermedia</i>	— — <i>Navicula</i> c. var. <i>veneta</i> <i>intermedia</i>	— — <i>Navicula</i> far. <i>veneta</i> o. <i>intermed.</i>

Moose.

Übereinstimmend wurden bei den vier Versuchsreihen schon einige Tage nach Versuchsbeginn Moose gefunden, zunächst in den schwächeren Konzentrationen. Im Verlauf der ganzen Versuchsdauer traten auch in höheren Konzentrationen Moose auf. Die Höchstkonzentration schwankt zwischen 1 : 2500 und 1 : 750. Der Mengenanteil ist besonders in schwachen Konzentrationen verhältnismäßig groß. Als morphologische Veränderung unter dem Einfluß der arsenigen Säure konnte plattenförmige Umbildung der Chlorophyllkörner und blasige Auftreibung der Protonemaenden beobachtet werden.

Urgebirgserde von Gastein.

Die Erde ist mit den neun Arten, die bei der verwendeten Nährlösung herauskultiviert werden konnten, verhältnismäßig artenarm. Bei Anwendung anderer Nährmedien konnten noch andere Arten, auch Blaualgen herausgezüchtet werden. Im folgenden können nur die in den Kulturreihen mit Arsenik aufgetretenen berücksichtigt werden.

Die Versuchsreihen wurden in der gleichen Anordnung angesetzt wie die mit Gartenerde von Obermenzing.

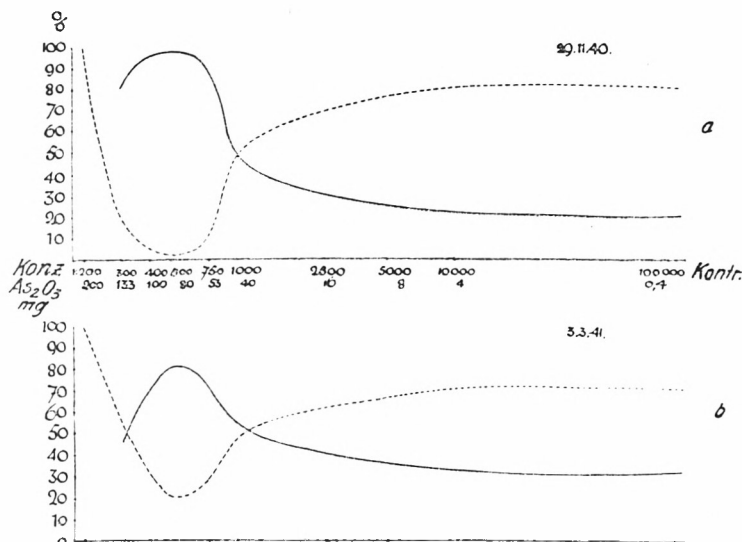


Abb. 9. Urgebirgserde von Gastein
Erklärung im Text

Der mengenmäßige Bewuchs in den Kulturen der verschiedenen Arsenkonzentrationen war der gleiche wie bei den vorhin besprochenen Versuchen. Es waren dabei nur einzellige und fadenbildende Grünalgen aufgetreten.

Während der ganzen Versuchsdauer fanden sich in sämtlichen Kulturen folgende Arten:

- I. *Chlamydomonas gloeogama* Korschikoff
- Chlamydomonas variabilis* Dangeard
- Chlorococcum humicolum* (Naeg.) Rabenh.

Chlorella vulgaris Beyerinck

Chlorella conglomerata (Artari) Oltm.

Coccomya dispar Schmidle.

II. *Ulothrix tenerrima* Kützing.

Stichococcus bacillaris (Naeg.) Große Form

Stichococcus bacillaris (Naeg.) Kleine Form.

Zu Versuchsbeginn findet sich in der stärksten Konzentration 100% *Stichococcus*, d. h. *Stichococcus* kommt ausschließlich vor. Dann tritt er mengenmäßig zurück, um erst bei Konzentration 1 : 1000 wieder 50% zu erreichen. Von da an steigt sein Anteil am Bewuchs, wie es in Abbildung 9 gegeben ist, bis zur Konzentration 1 : 5000. Von dieser Konzentration ab ist sein Anteil gleich jenem in der Kontrolle. Die einzelligen Grünalgen dagegen treten zum erstenmal bei Konzentration 1 : 300 auf und erreichen mit 98% bei Konzentration 1 : 500 den höchsten Prozentsatz. Dann nehmen sie prozentual und mengenmäßig ab. Nach vier Monaten ist im Bewuchs ein Gleichgewichtszustand eingetreten (Abb. 9b). Es erfolgt ähnlich wie bei den Versuchen mit Herbst- und Wintererde vom Versuchsfeld innerhalb dieser beiden Gruppen eine Artenauslese. *Stichococcus bacillaris*, kleine Form, kommt in der stärksten Konzentration vor, *Chlamydomonas* in der Hauptsache in den folgenden vier Konzentrationen. Von Konzentration 1 : 1000 an bis zur Kontrolle treten die anderen erwähnten Algen auf. In besonderer Weise fällt *Stichococcus bacillaris*, große Form, auf. Er bildet lange Fäden von mehreren hundert Zellen, die oft einige Zentimeter erreichen und leicht mit *Ulothrix* verwechselt werden können. Diese Erscheinung wird in einer späteren Arbeit geklärt werden.

Dreiwertiges und fünfwertiges Arsen in Erdkulturen
bei gleichen Arsenmengen.

Infolge ihrer schwereren Löslichkeit sind Salze des fünfwertigen Arsens weniger wirksam als die des dreiwertigen. Eindeutige Belege dafür, daß dies auch für Algen zutrifft, finden sich in der Literatur kaum. Nobbe hat durch Wasserkulturversuche nachgewiesen, daß „arsenige Säure höhere und niedere Pflanzen sehr schädigt“, „dagegen Arsensäure von den Pflanzen

in größeren Mengen vertragen wird“. Diese Versuche wurden aber nicht mit äquivalenten Arsenmengen durchgeführt. Reine Arsensäure als Parallele zu der von mir verwendeten arsenigen Säure ist nicht verwendbar. Darum habe ich, um eine objektive Vergleichsbasis zu finden, das Natriumsalz der arsenigen bzw. der Arsensäure verwendet. Die Parallelreihen mit Arsenik, Natriumarsenikosum und Natriumarseniat enthalten in den entsprechenden Konzentrationen gleiche Mengen von Arsen. Die eingewogenen Mengen sind aus Abb. 10 zu entnehmen. Natriumarsenit zeigte eine weit größere Wirksamkeit wie arsenige Säure für sich, obwohl es sich bei beiden um das dreiwertige Arsen handelt. Auch in der Natriumarseniatreihe dürfte das Natriumion eine hemmende Wirkung haben. Es können also nicht alle nachteiligen Erscheinungen als Giftwirkung des Arsens aufgefaßt werden.

Eine ausgesprochene Schädigung bzw. Hemmung des Algenwachstums zeigt sich nur in den drei stärksten Konzentrationen der Arseniatreihe (Abb. 10 a, b, c, d). Bei der Versuchsreihe mit arseniger Säure tritt wie bei den vorhin besprochenen Versuchen die Wirkung des Arsens schon bei Konzentration 1 : 5000 deutlich in Erscheinung (Abb. 10 a und b). Nur ganz allmählich zeigt sich auch in den stärkeren Konzentrationen (bis 1 : 200) eine Begrünung (Abb. 10 b, c). Nach 10 Wochen zeigte sich für Konzentration 1 : 5000 sogar ein Wachstumsgipfel, was auf die schon erwähnte Förderung von Chlamydomonas zurückzuführen ist (Abb. 10 c, d). In der Natrium-Arsenitreihe liegt die absolute Wachstumsgrenze bei Konzentration 1:1000, wo nur ganz kurzfristig einige einzellige Grünalgen auftreten (Abb. 10 e), sonst hört bei Konzentration 1 : 5000 das Wachstum auf (Abb. 10 b u. d).

Die beste Übersicht über die Wirkungsverhältnisse läßt sich geben durch die Darstellung des Mengenwachstums in den einzelnen Kulturen (Abb. 10 a, b, c, d).

Das Verhältnis der Mengen ist so gefunden: Es wurden gesetzt für:

schwaches Wachstum am Boden	++
Ring $\frac{1}{2}$ cm hoch rund um den Kolben	+++
dünne Haut, die Oberfläche deckend	++++

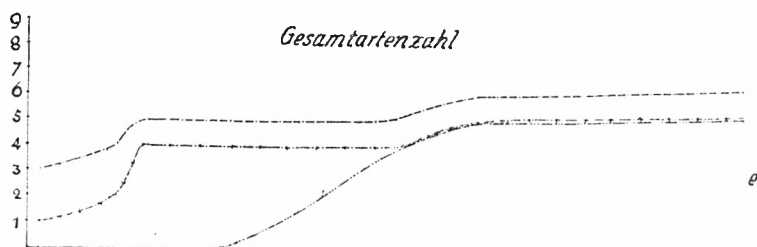
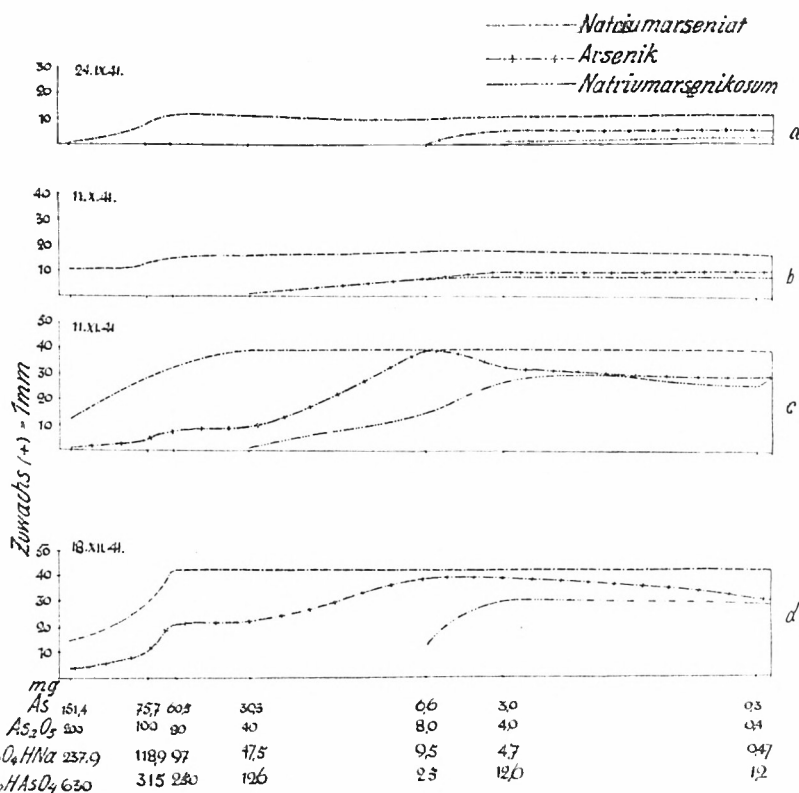


Abb. 10. Algenwachstum in Kulturen mit Na-arseniat, Na-arsenikosum und arseniger Säure bei gleichem Arsengehalt

- a) Nach 21 Tagen
- b) Nach 38 Tagen
- c) Nach 68 Tagen
- d) Nach 105 Tagen
- e) Zahl der Algenarten zur jeweiligen Untersuchungszeit

Danach wurde abgestuft und verglichen. Bei der graphischen Darstellung ist für $\pm = 1$ mm in der Ordinate eingezeichnet. Auf der Abszisse sind die Konzentrationen durch die Zahl ihres negativen Logarithmus gegeben. Die gleichen Konzentrationen der drei Versuchsreihen enthalten die gleichen Arsenmengen, die in mg angegeben sind.

Die auftretenden Arten sind die gleichen für die drei Versuchsreihen. Die Versuchserde entstammt dem Versuchsfeld von Obermenzing, wurde aber einer anderen Stelle entnommen wie die Erdproben der vorhergehenden Kulturversuche.

An Algen fanden sich:

- Chlamydomonas variabilis* Agardh
- Chlamydomonas gloeogama* Korschikoff
- Chlamydomonas caudata* Wille
- Chlamydomonas incurva* Pascher
- Chlorococcum humicolum* (Naeg.) Rabenh.
- Chlorella vulgaris* Beyerinck
- Cosmarium Botrytis* Menegh.
- Stichococcus bacillaris* Naeg. (kleine Form)
- Ulothrix tenerrima* Kützing (nur in arseniger Säure,
Konz. 1 : 400)
- Navicula cryptocephala* var. *intermedia* Kützing.

Abb. 10 e gibt einen Überblick über die Zahl sämtlicher während der ganzen Beobachtungszeit in den drei Versuchen aufgetretenen Arten. Die Natrium-Arseniatreihe zeigt durchweg eine Art mehr als die beiden anderen Reihen mit Natriumarsenit und arseniger Säure, welche gleiche Artenzahl aufweisen. In den stärksten Konzentrationen unterbleibt ein Algenwachstum für die Natriumarsenitreihe.

Die Versuchsergebnisse zeigen somit eindeutig, daß das fünfwertige Arsen auch auf Algen weniger wirksam ist als das dreiwertige. Die Giftwirkung des dreiwertigen Arsens wird verstärkt durch die des Na-Ions in der Natriumarsenikosumreihe.

Zweiter Teil: Vermögen Erdalgen den Arsengehalt des Bodens zu beeinflussen?

Betrachten wir noch einmal die im 1. Teil gegebenen Kurven und vergleichen damit folgende statistische Feststellung erstmalig gefundenen Algenwachstums in den zwei stärksten Arsenkonzentrationen bei den Versuchsreihen mit Gartenerde von Obermenzing:

Konzentr.	Frühjahrserde	Sommererde	Herbsterde	Winterede
	nach	nach	nach	nach
1 : 200	4 Wochen	8 Wochen	16 Wochen	28 Wochen
1 : 300	3 Wochen	4 Wochen	16 Wochen	16 Wochen

so zeigt sich, daß die Giftwirkung allmählich nachläßt. Auffallend ist dabei, daß die Entgiftung der organismenreichsten Frühjahrserde am schnellsten erfolgt. Die Entgiftungsgeschwindigkeit für die drei anderen Kulturen ist abnehmend geringer, entspricht der sich verringernden Artenzahl der Erdproben. Dieses Verhältnis bleibt für beide Konzentrationen gewahrt. Jedoch ist für die Konzentration 1 : 300 die Zeit kürzer. Daraus geht hervor, daß die Entgiftungsgeschwindigkeit abhängig ist von der Konzentration der arsenigen Säure, d. h. von der Menge der eingewogenen Substanz und von der Zahl der vorhandenen Mikroorganismen. Welche Rolle die Zusammensetzung der Bodenflora hierbei spielt, wird sich im Folgenden zeigen.

Das Nachlassen der Giftwirkung muß als Umwandlung der sehr wirksamen arsenigen Säure gedeutet werden. Durch die in der Chemie übliche jodtitrimetrische Bestimmung des III-wertigen Arsens konnte der Nachweis erbracht werden, daß das III-wertige Arsen der arsenigen Säure allmählich zu V-wertigem oxydiert wird. Dabei mußten die mit den besonderen Verhältnissen der Erdkultur zusammenhängenden Fehlerquellen berücksichtigt werden. Jene Kulturen, in denen III-wertiges Arsen nicht mehr nachgewiesen werden konnte, ergaben mit der Kaliumjodid-, der Schwefelwasserstoffprobe und dem Silbernitratnachweis positive Reaktion auf V-wertiges Arsen. Oft

konnten auch III-wertiges und V-wertiges Arsen nebeneinander bestimmt werden.

Im Februar 1941 wurde für die vier Versuchsreihen mit Erdproben von Obermenzing dieser Nachweis geführt:

Frühjahrserde (nach 10 Monaten Versuchsdauer):

Sämtliche Konzentrationen waren frei von III-wertigem Arsen.

Sommererde (nach 8 Monaten Versuchsdauer):

Sämtliche Konzentrationen waren frei von III-wertigem Arsen.

Herbsterde (nach 5 Monaten Versuchsdauer):

Nur in den drei stärksten Konzentrationen konnte noch Arsenik nachgewiesen werden:

1 : 200 0,098 g Arsenik

1 : 300 0,005 g Arsenik

1 : 400 0,003 g Arsenik.

Für die nächsten Konzentrationen ergeben sich Werte, die sich mit den für Blindversuche ermittelten deckten. Praktisch war kein Arsenik mehr vorhanden.

Wintererde (nach 2 Monaten Versuchsdauer):

1 : 200 0,194 g Arsenik

1 : 300 0,045 g Arsenik

1 : 400 0,021 g Arsenik.

Die übrigen Konzentrationen waren ebenfalls frei von Arsenik.

Einfluß des Tageslichtes auf die Oxydation.

Im Mai 1941 wurden Kulturen mit frischer Erde vom Versuchsfeld in den üblichen Konzentrationen angesetzt neben einer Parallelreihe, die nicht mit Erde beschickt wurde. Versuchskolben, Wattepfropfen und Nährlösung wurden vorher gut sterilisiert. Die Versuchsreihen mit und ohne Erde wurden je $8\times$ angesetzt und dem normalen Tageslicht im Laboratorium ausgesetzt.

Am Tage nach der Impfung wurde eine Kulturreihe mit und eine ohne Erde titriert. Diese Untersuchung wurde für die

stärksten Konzentrationen in Zeitabständen von 10 bis 14 Tagen wiederholt, die schwächeren Konzentrationen mußten öfter titriert werden, da der Arsenabfall zu schnell erfolgte.

Ergebnis: Während bei den Versuchsreihen mit Erde ein stetiger Abfall und nach 4 Monaten vollständiges Verschwinden des III-wertigen Arsens in sämtlichen Konzentrationen konstatiert wurde (Abb. 11 a), blieben in den Parallelreihen ohne Erde

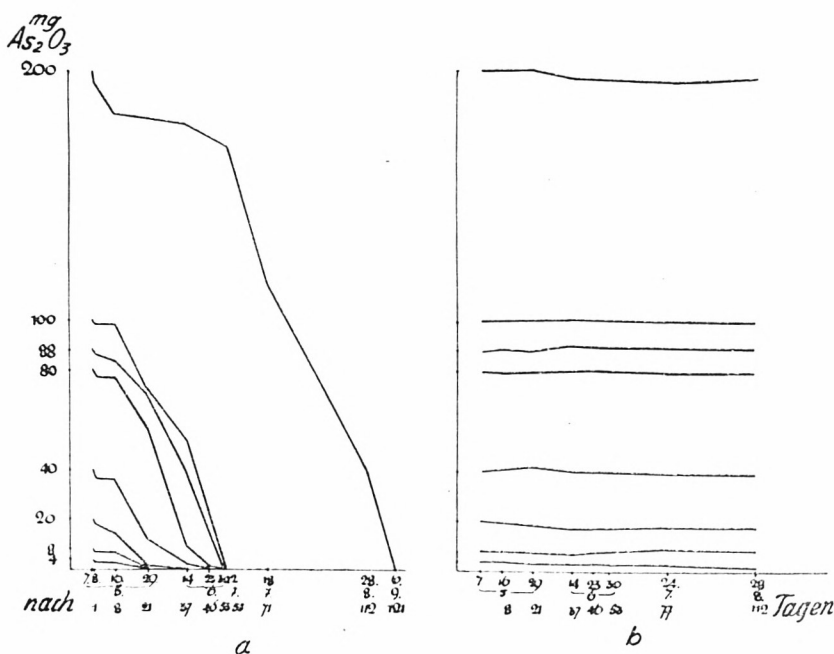


Abb. 11. Jodtitrimetrische Bestimmung des dreiwertigen Arsens in Kulturreihen mit verschiedenen Arsenikkonzentrationen

- a) mit Erde
b) ohne Erde

die Werte für das III-wertige Arsen annähernd konstant = gleich der Einwaage (Abb. 11 b). Bei den Kurven in Abb. 11 bedeutet 1 mm auf der Ordinate = 1 Tag, auf der Abzisse 1 mm = 1 mg Arsenik. Es geht daraus hervor, daß das Tageslicht keinen Einfluß auf die Oxydation ausübt, sondern daß die wirksamen Faktoren mit der Erdprobe in Zusammenhang stehen müssen.

Einfluß der chemisch-physikalischen Bodenbeschaffenheit auf die Oxydation.

Wie schon oben bemerkt, zeigen Vergleichsversuche ohne Arsen beim Titrieren einen minimalen Jodverbrauch, der auf oxydierende Elemente im Boden hinweist. Durch diese geringen Werte wurde aber das Versuchsergebnis in keiner Weise beeinträchtigt. Zudem bleibt der Wert konstant.

Um nun festzustellen, ob die Erde als solche an der Oxydation mitbeteiligt ist, wurden je 2,5 g der Proben durch Trockensterilisation entkeimt. Dabei wurden Zeit und Temperatur variiert: 2×1 Stunde auf 140°C , 2×2 Stunden auf 180°C , 3×3 Stunden auf 150°C . Dazu wurden jeweils 50 cm der arsenigen Säurestammlösung 1 : 200 steril in die Kolben pipettiert. Parallel wurden Blindversuche ohne Arsen mit sterilem Leitungswasser angesetzt.

Die Ergebnisse der drei Versuche sind annähernd gleich. Durch Titration nach 3, 10, 16, 24, 36, 41, 46 und 53 Tagen wurde jedesmal ungefähr 0,180 g Arsenik festgestellt. Da die Differenz zwischen Einwage und gefundenen Werten die gleiche bleibt, muß der Ausfall an Arsen als durch den Sterilisationsvorgang bewirkt angesehen werden. Da nun dieser für die freie Natur fortfällt, kann gesagt werden, daß der Boden selber keinen bedeutsamen Einfluß auf die Oxydation ausübt.

Einfluß der Mikroorganismen.

Sämtliche Versuche zeigen, daß als Urheber der Oxydation die Mikroorganismen des Bodens angesprochen werden müssen. Unter diesem Gesichtspunkt wurde am 11. 3. 1941 in der herkömmlichen Anordnung Gartenerde vom Versuchsfeld in mehreren Parallelreihen angesetzt. Davon wurde in bestimmten Zeitabständen je eine Reihe mikroskopiert und die bei jeder Untersuchung aufgetretenen Algengruppen in Kurven festgelegt (s. Abb. 12). Für die untersuchten Kulturreihen wurde dann durch Titrieren der Gehalt an III-wertigem Arsen bestimmt. Von einer anderen Parallelreihe wurde jedesmal gleichzeitig durch Gießen von Würzeagarplatten die Keimzahl der vorhandenen Bakterien und Pilze festgestellt. Die jeweiligen Versuchsergebnisse werden im folgenden gegeben.

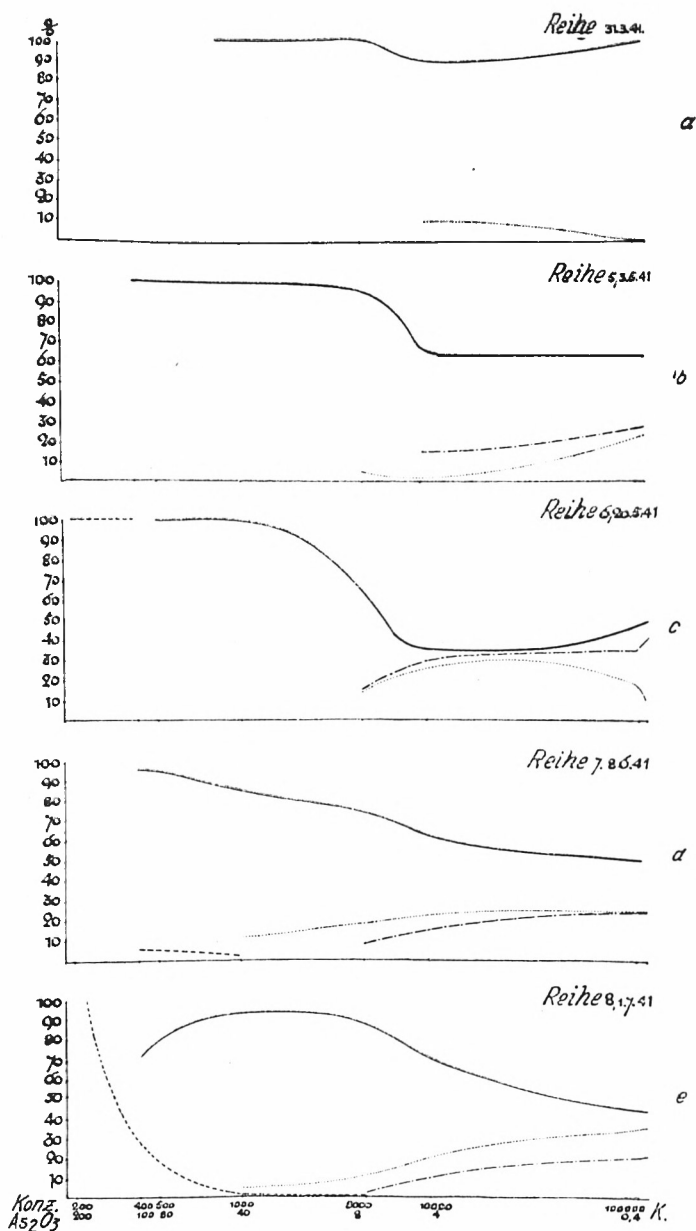


Abb. 12. Erklärung im Text

Die erste Versuchsreihe wurde am 31. 3. 1941, also nach 20 Tagen, untersucht auf den Arsengehalt und den Bestand an Mikroorganismen. Der Befund war folgender:

Die Titration ergab, daß in den Konzentrationen 1 : 100000, 1 : 10000, 1 : 5000, 1 : 1000 kein III-wertiges Arsen mehr vorhanden war.

Rein makroskopisch war bei der Kontrolle und in den Kulturen, die frei von arseniger Säure waren, ein schwachgrüner Algenring zu beobachten. Die mikroskopische Untersuchung zeigte, daß es sich dabei um folgende Algen handelte (vgl. dazu Abb. 12 a):

Kontrolle:

I. *Chlamydomonas variabilis*,

Chlorococcum humicolum,

V. *Navicula cryptocephala* var. *intermedia*

1 : 100 000:

I. *Chlamydomonas variabilis*,

Chlorococcum humicolum.

V. *Navicula cryptocephala* var. *intermedia*.

1 : 10 000:

I. *Chlamydomonas variabilis*,

Chlorococcum humicolum.

III. *Bumilleria exilis*.

1 : 5000:

I. *Chlamydomonas variabilis*.

1 : 1000:

I. *Chlamydomonas variabilis*.

In den stärkeren Konzentrationen wurden noch keine Algen gefunden. Gleichzeitig wurden an Keimen gezählt:

Konzentration	Bakterien	Pilze
Kontrolle	120000	7800
1 : 100000	69000	3000
1 : 10000	69000	3000
1 : 5000	68000	3000
1 : 1000	38000	2800
1 : 500	36000	2000
1 : 200	280000	9400

Befund am 3. 5. 1941 (nach 54 Tagen):

Die Titration ergab, daß nur noch die zwei stärksten Konzentrationen Arsenik enthielten:

Konzentration 1 : 400 enthielt 0,012 g Arsenik,
1 : 200 enthielt 0,111 g Arsenik.

An Algen waren vorhanden (vgl. Abb. 12 b):

Kontrolle:

- I. *Chlamydomonas variabilis*,
Chlorella vulgaris,
Chlorococcum humicolum.
- III. *Bumilleria exilis*.
- V. *Navicula cryptocephala* var. *intermedia*,
Moos, *Paramaecien*.

1 : 100 000:

- I. Die gleichen einzelligen Grünalgen.
- III. *Bumilleria exilis*.
- V. *Navicula cryptocephala* var. *intermedia*,
Moosprotonemen, viel *Paramaecien*.

1 : 10 000:

- I. Die gleichen einzelligen Grünalgen
(wachsen als Haut, Ring und Bodensatz, aber nicht an der
Kolbenwand innerhalb der Kulturflüssigkeit).
- III. *Bumilleria exilis* (in Haut und Ring).
- V. *Navicula cryptocephala* var. *veneta* und *intermedia*
(in Haut, Ring und Bodensatz),
Moosprotonemen, *Paramaecien*.

1 : 5 000:

- I. *Chlamydomonas variabilis*,
Chlorococcum humicolum
(krustenartiger Bewuchs am Boden, wächst dann am Kol-
ben hoch und bildet einen 2½ cm hohen, dünnen, landkarten-
ähnlichen Belag oberhalb des Flüssigkeitsspiegels, der als
Haut auf die Flüssigkeitsoberfläche übergreift).
- III. *Bumilleria exilis*,
Moosprotonemen, *Paramaecien*.

1 : 1000:

- I. *Chlamydomonas variabilis*,
Chlorella vulgaris

(die gleiche Wuchsform wie bei Konzentration 1 : 5000, doch ist der Ring nicht so hoch. *Chlamydomonas* bildet sehr viele Zoosporen aus).

1 : 500:

- I. *Chlamydomonas variabilis*

(wächst vom Boden herauf die Kolbenwand entlang bis zum Flüssigkeitsspiegel und bildet einen schwachen Ring, keine Haut. Es wurden einzelne Koppulationsstadien beobachtet)

1 : 400:

- I. *Chlamydomonas variabilis*

(wächst am Boden und vermehrt sich stark durch vegetative Teilung).

1 : 200:

- II. *Stichococcus bacillaris* (kleine Form)

(makroskopisch ist kein Wachstum sichtbar. *Stichococcus* tritt auf in Akinetenform und in kurzen Fäden mit höchstens 4 Zellen).

Gleichzeitig waren an Keimen vorhanden:

Konzentration	Bakterien	Pilze
Kontrolle	22 000	3000
1 : 100 000	2800	7600
1 : 5000	30000	2200
1 : 1000	50000	2400
1 : 500	60000	2000
1 : 200	80000	1600

Befund am 20. 5. 1941 (nach 70 Tagen):

Die Titration ergab:

Konzentration 1 : 400 enthielt 0,0007 g Arsenik,
 1 : 200 enthielt 0,0680 g Arsenik.

Die mikroskopische Untersuchung ergab (vgl. Abb. 12 c):

Kontrolle:

- I. *Chlamydomonas variabilis*,
Chlorella vulgaris,
Chlorococcum humicolum.

III. *Bumilleria exilis*.

- V. *Navicula cryptocephala* var. *intermedia* (teils mit Öltropfen),
Moosprotonemen, Amöben, Paramaecien.

1 : 100 000:

der gleiche Befund.

1 : 10 000:

der gleiche Befund.

1 : 5 000:

der gleiche Befund.

1 : 1 000:

- I. *Chlamydomonas variabilis*

(am Rande des Bodensatzes, als geschlossene Haut über dem Flüssigkeitsspiegel und als frischgrüner Ring).

1 : 500:

- I. *Chlamydomonas variabilis*,

Chlorella vulgaris

(als Haut über dem ganzen Flüssigkeitsspiegel und als starker Ring und Bodensatz).

1 : 400:

- II. *Stichococcus bacillaris* (kleine Form).

1 : 200:

- II. *Stichococcus bacillaris* (kleine Form).

An Keimen waren vorhanden:

Konzentration	Bakterien	Pilze
Kontrolle	5 000	14 000
1 : 100 000	8 800	72 000
1 : 5 000	40 000	2 800
1 : 1 000	56 000	Mucor
1 : 500	60 000	2 000
1 : 200	70 000	1 600

Befund am 1. 7. 1941:

Alle Konzentrationen waren frei von III-wertigem Arsen.

Die mikroskopische Untersuchung zeigte, daß die in den einzelnen Konzentrationen vorhandenen Algen die gleichen waren wie vorher. Die prozentuale Verteilung wird ersichtlich aus Abb. 12 e. Es waren aber bereits Abbauerscheinungen in Form öligler Verfettung der Blattgrünkörper bei sämtlichen Algen aufgetreten. Im Vergleich zu den im 1. Teil besprochenen Kulturreihen tritt diese Degeneration viel früher auf, weil bei diesen Kulturen das verdunstete Wasser nicht mehr ersetzt wurde, um eine eventuell damit verbundene Veränderung des Arsengehaltes auszuschließen.

Bei der ersten Untersuchung nach 20 Tagen waren in den Kulturen, die III-wertiges Arsen enthielten (1 : 500, 1 : 400 und 1 : 200) sehr viele Bakterien und Pilze, aber noch keine Algen aufgetreten. Nach 54 Tagen dagegen enthielten die Konzentrationen 1 : 400 und 1 : 200 bei Anwesenheit von arseniger Säure außer vielen Bakterien und Pilzen auch Algen. In der Konzentration 1 : 400 traten *Chlamydomonas variabilis* und *Chlorella vulgaris*, in Konzentration 1 : 200 *Stichococcus bacillaris* auf. Bei der nächsten Untersuchung nach 70 Tagen fand sich nur *Stichococcus* in diesen beiden Konzentrationen einer anderen Parallelreihe. Diese drei aufgetretenen Algenarten verhalten sich also gleichartig dem III-wertigen Arsen gegenüber. Ob *Chlamydomonas* oder *Stichococcus* auftritt, scheint nur von der Aussaat abzuhängen. Am 1. 7. 1941, nach 121 Tagen, waren alle Konzentrationen frei von III-wertigem Arsen.

Es waren demnach bei Anwesenheit des III-wertigen Arsens neben zahlreichen Pilz- und Bakterienkeimen an Algen nur *Chlamydomonas variabilis*, *Chlorella vulgaris* und *Stichococcus bacillaris* aufgetreten. Daher muß angenommen werden, daß diese Mikroorganismen die Oxydation des III-wertigen zu V-wertigem Arsen bewirken. Wie nun die einzelnen Stämme an der Gesamtreaktion beteiligt sind, läßt sich schwer feststellen, da sicherlich eine Wechselbeziehung zwischen ihnen besteht.

Um aber wenigstens zu klären, ob Erdalgen von sich aus die Oxydation bewirken können und in welchem Verhältnis

ihre Aktivität zu jener der Bakterien und Pilze steht, habe ich von den Algen *Stichococcus*, von den Pilzen ein *Verticillium*, und ein Bakterium aus der Erdprobe isoliert und unter sterilen Bedingungen in Kulturlösung mit einer Arsenikkonzentration von 1 : 200, also 0,200 g, gegeben. Als Ausgangsnährlösung wurde die von mir bisher verwendete Algennährlösung benützt. Um die Algennährlösung für Pilze geeignet zu machen, wurde 5 % Rohrzucker zugegeben, als Bakteriennährlösung 5 % Rohrzucker und 1 % Pepton (Witte).

Nach 10 Tagen wurden die drei Kulturen filtriert und nach Abzug der entsprechenden Werte für die zugehörigen Blindproben folgendes Resultat erzielt:

	Bakterium	Verticillium	Stichococcus
noch vorhand. Arsenikmenge	0,009 g	0,089 g	0,138 g
das entspricht einem Verhältnis	1 :	10 :	15

Der Versuch zeigt, daß die drei Vertreter der einzelnen Stämme voneinander unabhängig die Oxydation einzuleiten und selbstständig durchzuführen vermögen. Das eingewogene Arsenik war innerhalb von 10 Tagen von dem Bakterium 10mal so schnell als von dem Pilz und 15mal so schnell als von *Stichococcus* aufoxydiert worden.

Diese für Reinkulturen erzielten Ergebnisse werden sich wahrscheinlich für Mischkulturen, bestehend aus Vertretern der drei Stämme, ändern. Es wird wohl so sein, daß Bakterien und Pilze infolge ihrer größeren Aktivität mehr leisten und die größeren Mengen des III-wertigen Arsens in sehr starken Konzentrationen aufoxydieren, während *Stichococcus*, *Chlamydomonas* und *Chlorella* sich mit geringerem Erfolg in den Prozeß einschalten.

Mit der Feststellung, daß die Mikrolebewelt des Bodens eine Oxydation des III-wertigen zu V-wertigem Arsen bewirkt, ist die Frage von König geklärt, warum arsenige Säure auf verschiedene Bodenarten verschieden wirkt. Der Boden wird je nach der Zusammensetzung und Zahl seiner Mikroorganismen verschieden schnell entgiftet.

Wenn aus diesem experimentellen Befund praktische Schlüsse gezogen werden sollen, so kann man sagen, daß die Böden durch das Aufnehmen von Arsen aus arsenhaltigen Pflanzenschutzmitteln auf die Dauer nicht vergiftet werden, denn jeweils vorhandene Mikroorganismen wirken dem entgegen.

Die Arbeit wurde mit Unterstützung des Reichsernährungsministeriums durchgeführt. Hierfür sei Herrn Ministerialdirektor Riecke, Staatsminister a. D., ganz besonders gedankt.

Literaturverzeichnis

- Boas, Fr.: Dynamische Botanik. J. F. Lehmann, München 1937 und 1942.
- Chodat, R.: Beiträge zur Kryptogamenflora der Schweiz. Bern 1913.
- Chodkowski, C.: Die karioklastischen Gifte . . . Protoplasma 28, 597 (1937).
- Dankwort und Pfau: Zeitschrift für angewandte Chemie 39, 14, 86 (1926).
- Fühner, H.: Zeitschrift für experimentelle Pathologie und Pharmakologie.
- Gistl, R.: Zur Kenntnis der Erdalgen. Archiv für Mikrobiologie 3 (1932).
- Ders.: Erdalgen und Düngung. Erdalgen und Anionen. Archiv für Mikrobiologie 4 (1932).
- Haselhoff: Landwirtschaftliche Versuchstheorien 110, 287 (1930).
- Kützing: Phycologia germanica. Nordhausen 1845. Species Algarum. Lipsiae 1849.
- Joachimoglu, G.: Vergleichende Untersuchungen über die Giftigkeit der arsenigen Säure und Arsensäure. Biochem. Ztschr. 70, 144-157 (1915).
- Müller, K.: Arsenvergiftungen bei Winzern. Freiburg (Breisgau).
- Muenschner, W. C.: Leadarsenate Experiments on the Germination of Weed-Seeds.
- Pascher, A.: Die Süßwasserflora Deutschlands, Österreichs und der Schweiz. Bestimmungswerk, Jena.
- Schöndorf: Chronische Arsenvergiftungen durch Rebschädlingsbekämpfungsmittel.
- Schmitt, L.: Fortschritte der Landwirtschaft. 633 (1930).
- Sorauer: Handbuch der Pflanzenkrankheiten. Appel, Bd. 6. Berlin 1939.
- Trappmann: Schädlingsbekämpfung. Leipzig 1927.
- Wolf, Fr.: Beiträge zur Physiologie und Morphologie der Erdalgen. Diss. T. H. München 1941.
- Weintraut, Th.: Arsenwirkungen auf Bodenmikroorganismen. Diss. T. H. München 1942.