

580.7

T791



LIBRARY OF
THE NEW YORK BOTANICAL GARDEN

Special Book Fund

1912

Sept 11 1897

R. W. Gibson Inv.

UNTERSUCHUNGEN

AUS DEM

BOTANISCHEN INSTITUT ZU TÜBINGEN

HERAUSGEGEBEN

VON

PROFESSOR DR. W. PFEFFER.

ZWEITER BAND.

MIT SECHS LITHOGRAPHIRTEN TAFELN.

LIBRARY
NEW YORK
BOTANICAL
GARDEN.

LEIPZIG

VERLAG VON WILHELM ENGELMANN

1886—1888.

XU
N77
Bd. 2.

LIBRARY
CALIFORNIA
UNIVERSITY
BERKELEY

Inhaltsverzeichniss des zweiten Bandes.

Heft I. (1886.)

	Seite
I. <i>G. Schröder</i> , Über die Austrocknungsfähigkeit der Pflanzen	1
II. <i>O. Warburg</i> , Über die Bedeutung der organischen Säuren für den Lebensprocess der Pflanzen (speciell der sog. Fettpflanzen)	53
III. <i>J. Brunchorst</i> , Über Wurzelanschwellungen von <i>Alnus</i> und den <i>Elaeagnaceen</i> . (Mit Tafel I.)	151

Heft II. (1886.)

IV. <i>W. Pfeffer</i> , Über Aufnahme von Anilinfarben in lebende Zellen. (Mit Tafel II.)	179
V. <i>Georg Klebs</i> , Über die Organisation der Gallerte bei einigen Algen und Flagellaten. (Mit Tafel III und IV.)	333

Heft III. (1888.)

VI. <i>Stefan Jentys</i> , Über den Einfluss hoher Sauerstoffpressungen auf das Wachstum der Pflanzen.	419
VII. <i>Carl Hassak</i> , Über das Verhältnis von Pflanzen zu Bicarbonaten und über Kalkinerustation.	465
VIII. <i>Sándor Dietz</i> , Beiträge zur Kenntniss der Substratriichtung der Pflanzen	478
IX. <i>Georg Klebs</i> , Beiträge zur Physiologie der Pflanzenzelle. (Mit Tafel V und VI.)	489
X. <i>Douglas H. Campbell</i> , The staining of living Nuclei	569
XI. <i>W. Pfeffer</i> , Über chemotaktische Bewegungen von Bakterien, Flagellaten und Volvocineen.	582

MAY 7 1912

Druckfehler.

Seite 325 Zeile 4 von unten lies: Methylblau statt Methylenblau.

I.

Über die Austrocknungsfähigkeit der Pflanzen.

Von

G. Schröder.

Wird einer frischen lebenden Pflanze oder einem Pflanzentheil auf irgend eine Weise in hinreichendem Maße Wasser entzogen, so verlieren, wie bekannt, die die Pflanze aufbauenden Zellen ihre Turgescenz, ein Vorgang, der sich vielfach schon äußerlich durch Welkwerden zu erkennen giebt. Lässt man die Wasserentziehung noch weiter schreiten, so wird die Lebensthätigkeit der Zellen und somit das Leben der ganzen Pflanze sistirt und dieser Zustand endigt schließlich mit dem Tode der Pflanze, falls dieselbe ein Austrocknen zu ertragen nicht befähigt ist. Besitzt aber eine Pflanze diese Fähigkeit, so nimmt sie ihre Lebensfunktionen neu auf, sobald sie das für diese unentbehrliche Quantum Wasser wieder zugeführt bekommt.

Da nun in der Natur viele Pflanzen einen oft weitgehenden Wasserverlust zu erfahren haben, so finden wir dem entsprechend neben mannigfachen Anpassungserscheinungen, die dahin zielen, die Wasserverdunstung herabzusetzen oder die Wasserzufuhr zu begünstigen, auch bei vielen Pflanzen die Fähigkeit ausgebildet, vollkommene Lufttrockenheit, ja sogar eine noch weitergehende Austrocknung, wie sie z. B. durch längeren Aufenthalt im Exsikkator über Schwefelsäure erreicht wird, ohne wesentliche Schädigung überstehen zu können. Diese Eigenschaft kommt sowohl einzelnen Pflanzentheilen als auch manchen ganzen Pflanzenkörpern zu.

Naturgemäß wird man derartige Pflanzen auf trockenem Boden, auf Felsen, Mauern, in stagnirenden Gewässern, in Regenrinnen und ähnlichen Standorten, die besonders im Sommer häufig einer vollständigen Wasserverdunstung unterliegen, zu suchen haben. Von Organismen, welche wie Hefezellen und Bakterien im Staub durch die Luft sich verbreiten, wird

man ebenfalls a priori annehmen können, dass ihnen die Trockenheit nicht schadet.

Andere Pflanzen, deren Bau ein Austrocknen nicht gestattet, produciren Gebilde wie Samen, Sporen etc., welche, der Austrocknungsfähigkeit angepasst, zur Erhaltung ihrer Stammart dienen.

In der Litteratur finden wir nun zwar über die Widerstandsfähigkeit der Pflanzen gegen Austrocknen manche Beobachtungen angeführt, die bei Gelegenheit anderer Forschungen gemacht sind, doch an einer umfassenden zusammenhängenden Untersuchung über diesen Gegenstand fehlt es noch.

Daher schien es lohnend zu sein, eine unsere Erfahrungen nach dieser Richtung hin erweiternde Arbeit zu unternehmen. Ich habe versucht, eine solche zu liefern, und stelle nun die Resultate derselben in Folgendem zusammen.

Bei der Ausführung vorliegender Untersuchungen habe ich hauptsächlich zwei verschiedene Grade der Austrocknung in Betracht gezogen. Einmal ließ ich die Versuchsobjekte offen an der Luft im Zimmer bei 15 bis 20° vor direktem Sonnenlicht geschützt trocken werden, bis sie keinen wesentlichen Gewichtsverlust innerhalb einiger Tage bemerken ließen. Die Luft hatte in diesen Räumen einen relativen Feuchtigkeitsgehalt zu meist von 50 bis 65 %.

Einen höheren Grad der Austrocknung erreichte ich, indem ich bereits lufttrockne Pflanzen längere Zeit in dichtschließenden Exsikkatoren über konzentrirter Schwefelsäure aufbewahrte, ebenfalls so lange, bis das Gewicht annähernd konstant geworden war.

Wir werden den erstgenannten Grad der Austrocknung Lufttrockenheit, letzteren aber der Einfachheit halber Schwefelsäure-Trockenheit zu nennen haben. Diese ist jedoch, wie wohl zu beachten, nicht mit absoluter Trockenheit identisch, da die Pflanzen, so lange sie lebend bleiben, nie ihren gesammten Wassergehalt an Schwefelsäure abgeben.

Bei der Beschickung der Exsikkatoren ist darauf zu achten, dass die Versuchsobjekte so plazirt werden, dass keine Bröckchen davon in die Schwefelsäure fallen und darin zur Entwicklung kleiner Mengen schwefliger Säure Veranlassung geben können. Ich legte besonders kleine Pflanzen in Uhrgläser oder gefaltete Papierkästen. Durch Staub, der in die Schwefelsäure gelangt, ist, wie ich mich überzeugt habe, keine irgendwie in Betracht kommende Bildung von schwefliger Säure zu fürchten.

Eine Wasserentziehung durch Plasmolyse oder durch Kältewirkung habe ich in dieser Arbeit nicht berücksichtigt.

Phanerogamen und Gefäßkryptogamen.

Die Pflanzenkörper der Phanerogamen sowie die der Gefäßkryptogamen werden bekanntlich durch Austrocknen getödtet. Eine Ausnahme machen

nach ALEX. BRAUN ¹⁾ einige Isoëtesarten: *Isoëtes Hystrix*, *I. Duriaei*, *I. adspersa*, *I. velata* und *I. setacea*, die auf Sandhügeln Algeriens vorkommen, an Standorten, welche während des längsten Theils des Jahres der größten Dürre ausgesetzt sind und nur zur Zeit der Regenperiode feucht werden. ALEX. BRAUN führt ein Beispiel an, dass er *Isoëtes setacea* nach zweijähriger Aufbewahrung im Herbar wieder zum Leben bringen konnte, und giebt an, dass nach Durieu die trocken aufbewahrten Knollen der *Isoëtes Hystrix* und *Duriaei* noch nach fünf bis sechs Jahren lebensfähig sein sollen. Zugleich macht er darauf aufmerksam, dass genannte Isoëtesarten reichlich fettes Öl als Reservematerial führen, während in unserer stets im Wasser lebenden *Isoëtes lacustris* viel Stärke neben wenig fettem Öl sich findet. Nähere und kritische Untersuchungen hierüber fehlen noch.

Einen sehr weitgehenden Wasserverlust vermögen auch viele an trockenen Standorten wachsende Phanerogamen wie die meisten Crassulaceen, Opuntien etc. auszuhalten. Solche Pflanzen sind meist auch durch ihren Bau ausgezeichnet. Ich kann hier nicht näher auf die Eigenthümlichkeiten desselben eingehen, bemerke nur, dass diese Gewächse, wie bekannt, vor sehr raschem Welken geschützt sind durch die im Vergleich zu ihrer Körpermasse geringe Oberfläche, ferner dadurch, dass nur wenige und enge Spaltöffnungen vorhanden sind, dass die lebendigen Zellen ihren Wassergehalt besonders hartnäckig festhalten u. s. w. Dass aber der bedeutendste Widerstand gegen die Wasserverdunstung in erster Linie auf Rechnung der für diesen Zweck besonders passend entwickelten Cuticula zu schreiben ist, geht aus von NÄGELI, JUST und anderen ²⁾ angestellten Untersuchungen hervor und zeigen auch folgende von mir vorgenommene Versuche:

Möglichst gleichartige, 3 bis 4 cm lange, in höchster Turgescenz befindliche Sprosse von *Opuntia corrugata* wurden genau gewogen und einer derselben direkt, zwei andere, nachdem von ihnen durch vorsichtiges Schälen die Cuticula entfernt war, in einen Exsikkator gebracht. Ein vierter Spross wurde 24 Stunden lang der Einwirkung von Chloroformdämpfen ausgesetzt und dann erst nach völliger Tödtung über Schwefelsäure gestellt. Zwei andere wurden ebenso behandelt, doch wurde diesen zuvor durch zweitägiges Liegen an der Luft Zeit zur Vernarbung der ihnen durch das Abschneiden beigebrachten Wunden gegeben.

Nachdem die einzelnen Sprosse je sieben Tage im Exsikkator gestanden, zeigten sich folgende Gewichtsverluste in Prozenten, bezogen auf das Gewicht der frischen turgescenten Sprosse:

1) Betrachtungen über die Erscheinung der Verjüngung in der Natur. 1850. p. 213 Anmerkung.

2) Die Arbeiten derselben finden sich zitiert in PFEFFER, Pflanzenphysiologie. 1881. I. Bd. p. 142 und 143.

Frischer lebender Spross, Schnittfläche klein, unvernarbt:	5,0 %.
Geschälte frische Sprosse:	93,9 %.
	und 95,4 %.
Durch Chloroform getöteter Spross mit unvernarbter Schnittfläche:	76,2 %.
Mit vernarbter Schnittfläche:	51,5 %.
	und 51,5 %.

Ich bemerke hierzu, dass bei der Tödtung durch Chloroform die Sprosse zusammenschrumpfen und durch die Schnittfläche und durch die Spaltöffnungen Saft in Tropfen auspressen. Ich ließ diesen in tarirte Uhrgläschen fließen und mit den Opuntien zusammentrocknen und brachte den Rückstand bei Feststellung obiger Zahlen mit in Rechnung.

Ein derartiges Verhalten der Opuntiasprosse beschleunigt natürlich bedeutend die Wasserverdunstung, trotzdem zeigten die durch Chloroform getöteten Sprosse mit vernarbter Schnittfläche einen nur etwa halb so großen Wasserverlust in derselben Zeit wie die geschälten, die ihren gesammten Feuchtigkeitsgehalt, der in anderen Proben auf 94,9% bestimmt wurde, verloren. Selbst nach 14 Tagen hatten Erstere nur 84% ihres Frischgewichts eingebüßt.

Andere gleichalte lebende Opuntiasprosse zeigten nach länger ausge dehntem Aufenthalt im Exsikkator folgende Gewichtsverhältnisse:

Gewicht des turgescenten Sprosses.	Wasserverlust in Prozenten bei einem Aufenthalt im Exsikkator	
	von 2 Monaten,	von 4 Monaten.
1,6173 g	45,0 %	64,9 %
1,9023 »	31,8 %	54,8 %
0,7203 »	34,4 %	48,0 %.

Wenn man nun berücksichtigt, dass diese Sprosse durch einen derartigen Wasserverlust noch keineswegs getödtet werden (höchstens geschieht es durch die lange Dauer der Trockenheit) und dass ferner, wenn dieselben nicht abgeschnitten werden, sondern im Zusammenhang mit den übrigen Theilen der Pflanze bleiben, die lebensfähigeren Theile den älteren noch Wasser und andere Nährstoffe entreißen, so wird man es begreiflich finden, dass diese Pflanzen in der Natur selbst durch sehr intensive Dürre nicht vernichtet werden.

Bei manchen Crassulaceen ist diese Widerstandsfähigkeit nicht in so hohem Grade ausgebildet, sie verlieren ihre Feuchtigkeit schneller, immerhin aber doch noch weit langsamer als dünnblättrige Pflanzen. Dafür vermögen sie aber eine sehr weit gehende Wasserentziehung ohne Gefahr für ihr Leben auszuhalten.

Von gleichartigen Exemplaren des *Sedum elegans*, die durch mehrtägigen Aufenthalt unter einer feuchten Glasglocke in höchste Turgescenz versetzt waren, wurden von mir etwa 1 cm lange Endsprosse mit acht bis

zwölf Blättchen abgeschnitten und, nachdem sie mit Sorgfalt gewogen waren, im Exsikkator verschieden lange Zeit getrocknet. Dann wurden sie wieder befeuchtet und mit dem unteren Theil in Wasser tauchend unter der Glasglocke stehen gelassen bei Vermeidung direkten Sonnenlichtes, bis sie erneutes Wachsthum erkennen ließen oder aber verfaulten. Es stellte sich heraus, dass Sprosse, die 42,4 resp. 46,9 — 53,4 — 59,4 — 63,4 — 66,2 und 74,4 % ihres Frischgewichtes durch das Trocknen verloren hatten, völlig lebend geblieben waren und nach wenigen Tagen deutlich heliotropische Krümmungen zeigten. Sprosse, die 75 resp. 75,3 % verdunstet und dabei ein ganz zusammengeschrumpftes und vertrocknetes Aussehen angenommen hatten, gebrauchten lange Zeit, um ihr Wachsthum wieder aufzunehmen, doch war nur das unterste Stückchen des Stengels abgestorben. Wurde die Feuchtigkeitsentziehung noch weiter getrieben, z. B. auf 79,6 oder 79,8 %, so wurde das *Sedum* nach dem Befeuchten braun und verschimmelte.

Der Wassergehalt der frischen Sprosse machte 83,6 % ihres Gewichtes aus. Demnach ist ein Verlust von 89,4 oder 90,0 % des Wassergehaltes unschädlich, einer von 95,2 oder 95,4 % aber tödtlich.

Bei Anstellung von solchen Versuchen darf man, um in allen Theilen eine thunlichst gleichmäßige Verdunstung zu erzielen, nur möglichst kleine, d. h. kurz abgeschnittene Sprosse verwenden. Längere würden in den jüngeren Theilen weiter wachsen, selbst Wurzel treiben, während die älteren absterben würden, besonders, wenn man die Objekte nicht im Exsikkator, sondern an der Luft liegen lässt. Beim Wiederbefeuchten ist es vortheilhaft, um die Aufnahme von Wasser zu erleichtern, die an der Schnittfläche gebildete Korkschicht durch Abschneiden zu entfernen.

Blätter von *Echeveria secunda* mit einem Wassergehalt von 94,4 %, auf dieselbe Weise getrocknet und wieder befeuchtet wie die *Sedum*sprosse, blieben bei einem Verlust von 75,7 %, = 80,0 % des Wassergehaltes, lebend; bei Verlust von 78,3 %, = 82,8 % des Wassergehaltes, aber starben sie ab.

Einige Beispiele von Lebensfähigkeit der *Crassulaceen* und *Cacteen* führt DE CANDOLLE¹⁾ an. Ein Exemplar eines *Sempervivum caespitosum* entwickelte, nachdem es 48 Monate in der Sammlung gelegen, doch noch an der äußersten Spitze seines Stengels eine kleine Knospe. Ferner giebt er an, dass SAUSSURE einen *Cactus Opuntia* Linn. 14 Monate lang in einem Schranke aufbewahrt habe, wobei die Pflanze, obgleich sie die Hälfte ihres Vegetationswassers verloren, dennoch Wurzel und Stengel getrieben habe, und dass sie nach dem Einpflanzen in Erde wieder angewachsen sei.

Krautige Pflanzen sind dem Austrocknen nicht so angepasst wie *Cras-*

1) Pflanzen-Physiologie, übersetzt und mit Anmerkungen versehen von JOHANNES RÜPER. 1835. II. Bd. p. 872.

sulaceen und Caeteen; abgeschnitten welken sie besonders in den jüngeren und zarteren Theilen außerordentlich schnell und eine geringere Abnahme des Wassergehalts macht sie absterben. Nach DUTROCHET¹⁾ nahm eine *Mercurialis annua*, die 45% Gewichtsverlust durch Welken erfahren hatte, durch Eintauchen in Wasser ihren Turgescenz-Zustand wieder an. Bei Abnahme von 36% wurde ein Exemplar nur in den unteren Theilen wieder straff; doch selbst bei 46% Verlust nahm die Pflanze ihr früheres Gewicht wieder an, wenn sie mit dem unteren Ende in Wasser tauchte und durch wassergesättigte Luft die Verdunstung eingeschränkt wurde. Ein Verlust von 61—72% wirkte tödtlich.

Nimmt man statt der ganzen Pflanzen nur kleine, in ihrer Masse möglichst gleichartige Theile derselben, so gelingt es, die Grenze, bis zu welcher die Wasserentziehung ohne Schädigung getrieben werden kann, etwas genauer zu bestimmen.

Ich schnitt zu diesem Zwecke von in höchster Turgescenz befindlichen Exemplaren der *Asperula odorata* die Endspitzen mit noch einem völlig entfaltetem Blattquirl ab. Sie wurden sofort in eine kleine gut verschlossene Glasröhre gebracht und genau gewogen, dann wieder herausgenommen und, um ein allzusehnelles und einseitiges Welken zu verhüten, unter einer passend großen Glasglocke frei aufgehängt.

Sprosse, die auf diese Weise 44,6 resp. 52,3 — 56,6 oder 64,5% ihres Frischgewichtes Wasser verdunstet hatten, konnten durch geeignetes Befechten wieder zum Leben und Wachsen gebracht werden. Ein Spross mit 65% Gewichtsabnahme zeigte zwar die innere Knospe lebend, aber die Blätter zum größten Theil abgestorben. Zwei andere Sprosse hatten mit einem Verlust von 70 resp. 77,25% ihr Leben eingebüßt.

Der Gesamtwassergehalt betrug 84,9%, von dem also nicht viel mehr als 72,4%, entsprechend 64,5% des Gesamtgewichtes des Sprosses, ohne Schaden für die Pflanze entbehrt werden kann.

Diese Wasserverluste erfuhren die *Asperulasprosse* innerhalb 12 bis 15 Stunden. Würde die Verdampfung so regulirt werden, dass eine kürzere oder eine längere Zeit als die genannte darüber hinginge, dann würden die Prozentzahlen, welche den höchsten zulässigen Wasserverlust ausdrücken, wohl etwas verschieden ausfallen.

Auch das Alter und die vorhergegangenen Kulturbedingungen sind jedenfalls von einigem Einfluss. Die angewendeten *Asperulasprosse* waren erst vor einigen Wochen aus der Erde gekommen und wurden vor dem Versuch drei Tage im dampfgesättigten Raum gehalten. Natürlich liefern Experimente mit anderen Theilen oder mit anderen Pflanzen untereinander differirende Resultate. Ganz genau lassen die Zahlen sich nicht feststellen

¹⁾ Mémoires pour servir à l'histoire anatomique et physiologique des végétaux et des animaux. Paris 1837. Tome I. p. 398—400.

wegen des ungleichmäßigen Austrocknens und des nicht plötzlichen, sondern allmählichen Absterbens der Versuchsobjekte.

Blätter von *Parietaria arborea* mit 83,7 % Wasser blieben bei Abnahme des Gewichts um 31,6 — 37,3 — 38,3 — 40,6 — 44,9 % völlig lebend, starben nur theilweise ab bei Verlust von 47,5 oder 50,0 %, gänzlich aber, wenn sie 69,3 oder 76,4 % abgegeben hatten.

Fuchsiablätter mit 88,8 % Wasser ertrugen ohne Schaden 35 und 36 %, gingen in ihrem oberen Theil bei 54 und 59 %, zur Hälfte bei 64,4 % und und völlig bei 77,5 % Wasserverlust zu Grunde.

Blätter von *Limnanthemum nymphaeoides* mit 87,3 % Wasser litten nicht durch 55,9 — 56,5 — 62,0 % Abnahme, wurden aber zur Hälfte bei 68,2, noch mehr bei 75,5 und gänzlich bei 80,6 % Gewichtsverlust getödtet.

Wurzeln von Maiskeimpflanzen wurden durch eine Wasserabnahme von 63,7 bis 70,8 theilweise, durch eine solche von 74,9 oder 76,7 % in allen Theilen vernichtet.

Samen.

Eine Feuchtigkeitsentziehung bis zur völligen Lufttrockenheit ertragen die Phanerogamen nur in Form der Samen. Diese haben sich dem Austrocknen meist vortrefflich akkommodirt, sodass die Mehrzahl sogar einen langdauernden Aufenthalt im Exsikkator über Schwefelsäure ohne bemerkbaren Nachtheil überstehen kann.

SAUSSURE¹⁾ fand, dass die Samen verschiedener kultivirter Pflanzen in ihrer Keimfähigkeit nicht geschädigt waren, wenn sie auch sechs Monate lang über Schwefelsäure trockneten. Nur bei einigen kleinen Samen, bei denen von *Campanula rapunculoides*, *Portulaca oleracea*, *Pastinaca oleracea* verspätete sich die Keimung um einige Tage, während Roggen, Weizen, Gerste, Hafer, Mais, Buchweizen, Linsen, Erbsen, Wicken, selbst kleinere Samen, wie die von *Trifolium repens*, *Sinapis nigra*, *Lactuca* keiner längeren Zeit zum Keimen bedurften als die gleichnamigen lufttrocken aufbewahrten Proben.

Andere Versuche²⁾ lieferten zwar ein weniger günstiges Resultat, indem die Prozentzahl der keimenden Körner vermindert wurde; doch wird dieses vielleicht theilweise seinen Grund darin haben, dass die Versuchsobjekte durch die bei der Austrocknung angewendete höhere Temperatur gelitten hatten.

Nach WOLLNY³⁾ sollen bei 32 bis 35° getrocknete Samen in ihrer Keim-

1) Annales des sciences naturelles. 1827. Bd. X. p. 83.

2) Z. B. HABERLANDT, Wissenschaftlich-praktische Untersuchungen auf dem Gebiete des Pflanzenbaues. 1877. Bd. II. p. 86. Versuche von HÖHNEL.

3) Das Dörren der Samen. Botanischer Jahresbericht. 1879. p. 258 u. 259.

fähigkeit geschädigt werden, das Wachsthum der daraus entstehenden Pflanzen soll verlangsamt, aber das Produktionsvermögen erhöht werden.

Einige Samenarten machen jedoch von der allgemeinen Regel eine Ausnahme: Die Samen von *Oxalis rubella* und *Oxalis lanceifolia* und deren Verwandten besitzen keine harte Schale, sondern nur eine dünne membranöse Haut; sie keimen sogleich nach dem Aufspringen der Kapsel, werden aber durch Austrocknen getödtet¹⁾.

Auch die Weidensamen keimen ungewöhnlich schnell und bleiben nur wenige Tage lang nach dem Ausfallen keimfähig. WICHURA²⁾ schreibt die Ursache der Annahme zu, dass der bereits sehr ausgebildete und mit Chlorophyll versehene Embryo, der nur durch ein dünnes Häutchen geschützt ist, durch Austrocknen getödtet werde, wenn er nicht gleich auf feuchter Erde Gelegenheit zum Keimen finde. Auch die Samen der Pappel und Ulme müssen sofort nach dem Ausfallen ins Keimbett gelangen, wenn sie nicht ihre Keimfähigkeit verlieren sollen³⁾.

Dass diese Samen zu Grunde gehen, wenn sie austrocknen, lässt sich nicht bestreiten; doch ist der Embryo derselben überhaupt nur sehr kurzlebig, wenn eine Keimung nicht eintritt. Samen von *Salix fragilis* verfaulten mir auf feuchter Erde oder zwischen nassem Fließpapier, wenn sie 25 Tage, gleichviel ob frei an der Luft oder aber in einer kleinen Glasröhre durch dichten Verschluss vor Verdunstung geschützt, im Licht oder im Dunkeln aufbewahrt waren. 13 Tage an der Luft gestandene Samen von *Populus nigra* keimten ausgesät sehr prompt nach zwei Tagen, während von einer anderen Probe, die ebenso lange im Exsikkator gelegen, kaum die Hälfte der ausgesäten Samen eine Keimung zeigte und zwar erst am dritten Tage. Wurden die Pappelsamen aber 30 Tage lufttrocken oder in der Glasröhre aufbewahrt, so hatten sie unter allen Umständen ihre Keimfähigkeit verloren. Auch der Sauerstoff der Luft scheint in diesen Fällen nicht bestimmend zu sein für die Erhaltung der Keimkraft, denn mehrere in Wasserstoff eingeschlossene Samenproben von *Salix pentandra* und von *Populus nigra* hatten zwar nach 25 resp. 40 Tagen noch ihr frisches Aussehen bewahrt; wurden sie aber auf Erde oder zwischen Fließpapier zum Keimen gelegt, so fielen sie ausnahmslos der Fäulnis anheim. Alle diese Samenproben waren, als sie frisch aus der Kapsel fielen, vorzüglich keimfähig.

Nach DE CANDOLLE⁴⁾ verlieren auch die Samen des Kaffeebaums, der meisten Rubiaceen und Myrtaceen, der Lorbeer-Arten, diejenigen des *Dictamnus Fraxinella* und der *Angelica Archangelica* ihre Keimfähigkeit

1) F. HILDEBRAND, Über die Schutzeinrichtungen der Oxaliszwiebeln, in: Berichte der deutschen botan. Gesellschaft. 2. Jahrg. 1884. Heft 3. p. 110.

2) Die Bastardbefruchtung im Pflanzenreich erläutert an den Bastarden der Weiden. 1865, p. 6.

3) NOBBE, Handbuch der Samenkunde. 1876. p. 368.

4) Pflanzen-Physiologie. Übersetzt und mit Anmerkungen versehen von JOH. RÖPER. II. Bd. 1835. p. 260.

bald, nachdem sie von der Mutterpflanze getrennt worden sind. RÖPER bemerkt dazu, dass nach DUNAMEL (des semis et de la plantation des arbres 1760 S. 93) die Diptam- und Angelicasamen in der Mehrzahl schon nach 2 — 3 Monaten nicht mehr keimten, wenn sie so lange an einem trocknen Orte aufbewahrt seien. Auch Eschen-, Hainbuchen-, Ulmen-, Birken-, Eichel-, Buchel- und Kastaniensamen sollen durch zu starke und andauernde Austrocknung geschädigt werden ¹⁾).

Einigen anderen Samen, wie denen von Pedicularis-, Rhinanthus-, Corydalis-Arten und von Eranthis hiemalis, wird die Trockenheit vielleicht nur dadurch schädlich, dass sie eine Nachreife des zur Zeit des Ausfallens noch sehr unentwickelten Embryo verhindert, die, wie Irmisch ²⁾ gefunden hat, bei den meisten unserer perennirenden Corydalis-Arten erst gegen den Herbst hin vollendet wird und zwar auch nur dann, wenn der Samen im Verband mit der Mutterpflanze oder durch leichtes Eindringen in die Erde feucht erhalten bleibt.

Bei Sumpf- und Wasserpflanzen mag es auch vorkommen, dass ihre Samen die Fähigkeit, eine tiefergreifende Austrocknung zu ertragen, verloren haben, wenigstens keimten mir nach der Reife 11 resp. 20 Wochen lang über Schwefelsäure oder 20 Wochen an der Luft aufbewahrte Samen von *Caltha palustris* nicht mehr, während frische oder nur 11 Wochen lufttrocken gehaltene fast sämtlich keimfähig waren.

Die allermeisten Samen aber behalten in trockenem Zustande ihre Keimfähigkeit jahrelang und werden jedenfalls durch Austrocknen nicht geschädigt. Besonders zeichnen sich hierin Papilionaceen, Cucurbitaceen, *Mimosa pudica*, von welcher über 60 Jahre alter Samen entwicklungsfähig sein kann, Cichorie, Spörgel, Liebesapfel, Raps, Roggen u. a. aus ³⁾. RÖPER fügt seiner Übersetzung der DE CANDOLLE'schen Physiologie noch hinzu, dass DUNAMEL angebe, Weizen keime, wenn auf gewöhnliche Weise auf einem Kornboden aufbewahrt, schon nach vier Jahren nicht mehr; ihm sei aber Weizen, der mehrfach mit Papier umwickelt, in der Schublade eines Schreibtisches zehn Jahre lang liegen geblieben war, doch noch gekeimt.

Es ist hier nicht meine Aufgabe, die Lebensdauer der Samen zu behandeln; ich muss mich begnügen, darauf hinzuweisen, dass im letztge-

1) NOBBE, Handbuch der Samenkunde. 1876. p. 368, und HOFMEISTER, Allgemeine Morphologie der Gewächse. 1868. p. 535.

2) Über einige Fumariaceen, Verhandlungen der naturforschenden Gesellschaft zu Halle. Bd. VI. 1862, citirt bei WINKLER, Bemerkungen über die Keimfähigkeit des Samens der Phanerogamen. 1879. p. 156. Vergl. auch TREVIRANUS, Physiologie der Gewächse. II. Bd. 1838. p. 577, und TITTMANN, Botanisch-karpologische Bemerkungen, in Flora No. 42. 1849. p. 660.

3) Angaben darüber finden sich bei NOBBE, Handbuch der Samenkunde. 1876. p. 369 u. 370. TREVIRANUS, Physiologie der Gewächse. II. Bd. 1838. p. 577. DE CANDOLLE, Pflanzen-Physiologie, übersetzt und mit Anmerkungen versehen von JOH. RÖPER. II. Bd. 1835. p. 258.

nannten Falle wie auch in manchem anderen die Austrocknung wahrscheinlich nicht den Grund bildet, weshalb die betreffenden Samen ihre Keimfähigkeit nur eine gewisse Zeit hindurch konserviren. Vielleicht ist es im Gegentheil nicht unmöglich, dass eine gänzliche Trockenheit das Leben vieler Gebilde sogar nicht unbeträchtlich verlängern kann.

Nicht allein die meisten reifen Samenarten zeigen sich sehr resistent gegen eine starke Austrocknung, auch unreife Samen sogar in noch sehr unentwickelten Stadien verlieren ihre Entwicklungsfähigkeit nicht, wenn sie längere Zeit über Schwefelsäure austrocknen. Immerhin scheint bisweilen die Keimdauer etwas verlängert zu werden. So keimten mir noch sehr unreife, derselben Kapsel entnommene Mohnsamen in der einen Hälfte, die acht Wochen lufttrocken gelegen, nach zwei Tagen, während der andere Theil, welcher dieselbe Zeit über Schwefelsäure aufbewahrt war, fünf Tage gebrauchte, um die erste Keimung erkennen zu lassen.

Mit einigen Getreidearten: *Hordeum vulgare*, *Triticum durum* und *Triticum Spelta* machte ich einige Versuche, über die ich folgendes mittheile. Ich sammelte von diesen Getreiden von je einem und demselben Kulturfelde möglichst gleich weit entwickelte noch sehr unreife Ähren und ließ sie völlig lufttrocken werden. Dann nahm ich die Körner heraus und erhielt, indem ich die in gleichem Grade entwickelten und keine Fehler zeigenden auslas, ein vorzüglich gleichmäßiges Material. In frischem Zustande waren diese Samen noch so weich, dass sie sich nur schwierig unverletzt aus den Spelzen herausnehmen ließen. Um den Grad der Entwicklung näher zu präzisiren und um einen Vergleich mit reifen Samen derselben Kulturen zu ermöglichen, gebe ich einige die Gewichts- und Wassergehaltsverhältnisse betreffende Zahlen:

	Gewicht ¹⁾ von 100 luft- trocknen Samen. Gramm.	Wasserge- halt ²⁾ der lufttrocknen Samen. ‰.	Gewichtsverlust im Exsikkator. ‰.
<i>Hordeum vulgare</i> , reif.	3,0715	14,65	10 Wochen: 40,41
„ „ unreif.	1,3035	12,35	
„ „ „ 2. Probe.	1,298		42 „ : 41,42
„ „ „ 3. „	1,332		42 „ : 41,35
„ „ „ ganz junges Stadium.	0,4945		42 „ : 40,96
<i>Triticum durum</i> , reif.	3,7145	14,63	40 „ : 40,32
„ „ unreif.	1,375	11,25	
„ „ „ 2. Probe.	1,331		12 „ : 40,74
„ „ „ 3. „	1,32		12 „ : 40,70
„ „ „ ganz junges Stadium.	0,654		42 „ : 40,20
<i>Triticum Spelta</i> , reif.	4,764	14,40	40 „ : 10,64
„ „ unreif.	2,376	11,73	
„ „ „ 2. Probe.	2,374		41 „ : 9,67
„ „ „ 3. „	2,377		41 „ : 9,84.

1) Berechnet aus dem Gewicht mehrerer Hundert Körner.

2) Bestimmt durch schnelles Zerreiben der lufttrockenen Körner und fünf Wochen langes Trocknen des erhaltenen Pulvers im Exsikkator.

Man sieht aus dieser Tabelle, dass die unreifen Samen noch in keinem Falle die Hälfte des Trockengewichts, welches die reifen Samen derselben Arten und derselben Kulturen aufzuweisen haben, erreicht hatten. Dennoch keimten die von jeder Spezies ausgesäten hundert lufttrocknen Körner sämtlich, wenn auch die Keimdauer der einzelnen eine sehr verschiedene war.

Die 11 resp. 12 Wochen im Exsikkator getrockneten Körner hatten ebenfalls ihre Keimfähigkeit bewahrt, obgleich *Hordeum vulgare* nur noch etwa 4%, *Triticum Spelta* 2% und *Triticum durum* sogar nur etwa 0,5% Wasser behalten hatten. Die Gerstenkörner keimten fast alle, 178 von 200 ausgesäten, 2 Tage nach dem Befeuchten zwischen Fließpapier, die übrigen einige Tage später; von 200 ausgesäten Speltkörnern 45 nach drei, 48 nach vier, 100 nach fünf, die übrigen nach sechs Tagen. *Triticum durum*, welches im Exsikkator den größten Verlust erlitten hatte, keimte langsam und zu verschiedenen Zeiten, erst nach 27 Tagen war die Keimung bei allen Körnern eingetreten. Bei den ganz jungen Stadien von *Hordeum vulgare* und *Triticum durum* verzögerte sich die Keimung noch mehr, auch waren hier nicht alle Körner entwicklungsfähig geblieben.

Einen Übergang zwischen den sehr resistenten Samen und den durch Austrocknen zu Grunde gehenden erwachsenen Pflanzen bildet das Verhalten der Keimlinge, die mit der fortschreitenden Entwicklung immer empfindlicher gegen die Wasserentziehung werden.

SAUSSURE¹⁾ stellte Versuche darüber an mit Getreidekörnern, die sich in drei verschiedenen Keimungsstadien befanden. Im ersten Stadium ist die Wurzel eben hervorgekommen und nicht über halb so lang als der Samen, während im zweiten Stadium die Wurzel so lang oder etwas länger ist als der Samen, aber die Plumula noch nicht frei geworden ist. Im dritten Stadium ist die Knospe soeben außerhalb der Schale erschienen.

In diesen drei Entwicklungsgraden befindliche Samen ließ SAUSSURE nun sowohl frei an der Luft wie auch über Schwefelsäure trocknen. An der Luft liegend, zeigten sie gewöhnlich nach einem Monate keinen Gewichtsverlust mehr. Nach dem Befeuchten erwiesen sich alle drei Stadien von *Phaseolus vulgaris*, *Vicia faba*, *Aster chinensis*, *Portulaca oleracea*, *Pastinaca sativa*, *Papaver somniferum*, *Campanula rapunculus*, die Stadien II und III von *Avena sativa*, *Zea Mais*, *Trifolium repens*, *Cannabis sativa* und *Lactuca sativa* und das dritte Stadium von *Hordeum vulgare*, *Ervum lens*, *Pisum sativum*, *Brassica oleracea* und *Sinapis nigra* als abgestorben. Die jüngeren Entwicklungsgrade dieser Letzteren, wie alle drei Stadien von *Triticum hybernum*, *Secale cereale*, *Polygonum fagopyrum* und *Vicia sativa*

1) De l'influence du dessèchement sur la germination de plusieurs graines alimentaires, in *Annales des sciences naturelles*. Bd. X. 1827. p. 70—78.

dagegen konnten zur Fortsetzung ihrer Vegetation gebracht werden. Die Knospe blieb dabei völlig erhalten, während der freigewordene Theil der Wurzeln gänzlich kollabirte und durch Adventivwurzeln ersetzt werden musste, infolgedessen die weitere Vegetation zunächst eine schwächliche blieb.

Bezüglich der Dauer der vegetativen Kraft lufttrockner gekeimter Samen giebt SAUSSURE¹⁾ an, dass diese nach drei Monaten meist noch erhalten, nach einem Jahre aber in allen Fällen verloren gewesen sei. Es wirkt hierbei weniger der größere oder geringere Wasserverlust als vielmehr die lange Dauer der Zeit ein, denn die Samen können binnen kürzerer Zeit im Exsikkator mehr Wasser verlieren, als in dieser langen, und doch ihre Entwicklungsfähigkeit konserviren.

Schwefelsäuretrokkenheit²⁾ bewirkte bei angekeimten Wicken-, Linsen-, Mais- und Buchweizensamen völliges Absterben. Weizen, Roggen, Gerste, Kohl konnten zu erneuter Vegetation veranlasst werden, da die Knospen lebend erhalten waren. Die zu Grunde gegangenen Wurzeln mussten natürlich auch hier durch Adventivbildungen ersetzt werden.

Letztere Samen sind solche, die im Exsikkator in den ersten drei bis vier Wochen relativ wenig von ihrem Wassergehalt verloren, während erstere diesen fast völlig einbüßten. Bei Haferkeimlingen war es nöthig, dass die Spelzen entfernt wurden, und bei Weizen im dritten Stadium durfte die Befeuchtung nur von unten im wasserdampfgesättigten Raum geschehen.

Bis zu einem gewissen Grade kann die Entwicklung der Keimlinge öfter durch Austrocknen unterbrochen werden. Hierauf sich beziehende Versuche hat NOWOCZEK³⁾ ebenfalls mit Getreidesamen angestellt; er fand, dass die bei der jedesmaligen Austrocknung zu Grunde gegangenen Wurzeln einige Male neu gebildet werden können.

TAUTPHÖUS⁴⁾ konnte angekeimten Hafer und Mais nach dem Austrocknen nicht wieder zum Keimen bringen, was SAUSSURE für das erste Stadium, NOWOCZEK sogar für entwickeltere Stadien als möglich angiebt.

EHRHARDT⁵⁾ ermittelte die Prozentzahlen der nach dem Austrocknen lebensfähig gebliebenen angekeimten Roggenkörner und fand, dass unter geeigneten Bedingungen nach 446 stündigem Keimen und darauffolgendem

1) In derselben Abhandlung p. 84.

2) Ebenda p. 86.

3) Über die Widerstandsfähigkeit junger Keimlinge, in: Wissenschaftlich-praktische Untersuchungen auf dem Gebiet des Pflanzenbaues, herausgeg. von F. HABERLANDT. Heft I. 1875. p. 122.

4) Die Keimung der Samen bei verschiedener Beschaffenheit derselben. Botanischer Jahresbericht. 1876. p. 882.

5) Wie w) erhält sich die Keimfähigkeit bei ausgewachsenem Getreide? Botan. Jahresbericht 1884. p. 29.

Trocknen 78%, nach 189 stündigem Keimen aber nur noch 4% der abermals mit Wasser in Berührung gebrachten Keimpflanzen zur Fortbildung veranlasst werden konnten¹⁾.

Die größte Resistenz in dieser Hinsicht scheint den Gramineensamen zuzukommen, doch gingen mir Keimlinge des Reis, welcher bekanntlich in der Natur auf sehr feuchte Standorte angewiesen ist, in einem Stadium, bei welchem die erste Keimung von außen durch Hervorbrechen der Plumula bemerkbar wurde, bei einer sechswöchentlichen Austrocknung über Schwefelsäure sowohl als auch schon bei einer gleichlangen Lufttrockenheit zu Grunde.

Die oben erwähnten unreifen Samen von *Hordeum vulgare*, *Triticum durum* und *Triticum Spelta* aber lieferten mir Keimlinge, die in allen drei SAUSSURE'schen Stadien, ausgenommen Gerste im dritten Stadium, ein zehnwöchentliches Austrocknen im Exsikkator ertrugen. Sie nahmen ihr Wachstum in zwei bis vier Tagen wieder auf, wenn ich sie auf nasse Erde legte und durch eine übergestülpte Glasglocke für eine dampfgesättigte Atmosphäre sorgte. Die durch das starke Trocknen sehr spröde gewordene und auf ein geringes Volum zusammengeschrumpfte Plumula schwoll allmählich wieder an und die Blättchen vergrößerten sich, ohne dass irgend welche abgestorbene Theile daran zu bemerken gewesen wären. Die Wurzeln wurden freilich durch Adventivbildungen ersetzt.

Sporen der Gefäßkryptogamen.

Wie die meisten Samen der Phanerogamen verhalten sich auch in der Mehrzahl die Sporen der Gefäßkryptogamen gegen die Trockenheit sehr resistent. Die Keimfähigkeit von Farnsporen wird durch Austrocknen nicht geschädigt, sie erhält sich bei trockner Aufbewahrung oft viele Jahre lang. Es liegen Angaben vor²⁾, dass aus alten Herbarien entnommene Farnsporen, welche an fünfzig Jahre alt sein konnten, als keimfähig befunden wurden.

Die grünen Sporen der Osmundaceen und Hymenophyllaceen bilden darin eine Ausnahme; ihre Keimfähigkeit erlischt in kurzer Zeit³⁾. Die ebenfalls grünen Sporen der Equisetaceen zeigen in dieser Richtung in ihrem Verhalten Übereinstimmung mit jenen grünen Farnsporen. Ob diese Sporen länger keimfähig bleiben, wenn durch geeignete Mittel das Austrocknen verhindert wird, bedarf noch einer besonderen Prüfung.

1) Einige weitere Bemerkungen finden sich noch bei W. DETMER, Vergleichende Physiologie des Keimungsprozesses der Samen. 1880. p. 532, und bei WINKLER, Bemerkungen über die Keimfähigkeit des Samens der Phanerogamen. 1879. p. 158. In Sitzungsberichte der Niederrheinischen Gesellschaft für Natur- und Heilkunde.

2) z. B. TREVIRANUS, Physiologie der Gewächse. II. Bd. 1838. p. 577.

3) SADEBECK, Die Gefäßkryptogamen in SCHENK, Handbuch der Botanik. I. Bd. 1879. p. 156.

Die Sporen von *Lycopodium inundatum* sind zwar, wie DE BARY¹⁾ angiebt, gleich nach der Reife im Herbst keimfähig, doch produzierte eine Aussaat im Frühjahr zahlreichere Prothallienanfänge. Hier scheint also längere Trockenheit förderlich für die Keimfähigkeit zu sein.

Sporen von *Marsilia* erhalten sich gleich den Farnsporen Jahrzehnte lang in trockenem Zustande keimfähig²⁾.

Die Farnprothallien zeigen sich im Allgemeinen gegen Trockenheit sehr empfindlich; doch sind die die Archegonien tragenden Sprosse des Prothallium von *Gymnogramme leptophylla* nach GÖBEL³⁾ befähigt, eine Periode längerer Trockenheit, wie sie oft in den dürrn Sommern des Mittelmeergebietes eintritt, zu ertragen und dadurch perennirend zu werden.

Lebermoose.

In der Klasse der Lebermoose begegnen wir Gebilden, welche zum Theil sehr empfindlich gegen Trockenheit sich erweisen und deren Pflanzkörper nicht im Stande ist, eine völlige Austrocknung an der Luft zu ertragen. Andererseits treffen wir solche, deren Thallus einer weitgehenden und langdauernden Wasserentziehung unterliegen und doch nach Eintritt günstigerer Bedingungen seine Lebensfunktionen und sein Wachstum wieder neu aufnehmen kann.

Metzgeria furcata wird schon durch eine zweiwöchentliche Austrocknung getödtet⁴⁾. Auf Buchenrinde wachsende *Radula complanata* war nach einmonatlichem Trocknen in den älteren Partien todt, die Zellen der jüngeren waren dagegen noch lebend. Allein sie hatten ihre Lebensfähigkeit eingebüßt, denn nachdem sie zwei Tage feucht gewesen, fand ich das ganze Moos abgestorben. *Riccia glauca* und *Riccia fluitans* wurden schon durch eine nur wenige Tage dauernde Austrocknung getödtet. *Lunularia vulgaris* und *Marehantia polymorpha* scheinen mir etwas resistenter zu sein, besonders letztere; doch erwiesen sich beide nach einen Monat währender völliger Lufttrockenheit ebenfalls als todt.

Nur die Brutknospen bleiben dabei lebend erhalten. Brutknospen beider, die ich ihren Behältern entnommen und 13 Wochen an der Luft getrocknet hatte, ließen 44 Tage nach der Befeuchtung deutliches Aus-

1) Berichte der naturforschenden Gesellschaft zu Freiburg i. Br. Heft IV. 1858. Citirt bei SADEBECK l. c.

2) Vergl. PFEFFER, Locomotorische Bewegungen durch chemische Reize. In: Untersuchungen aus dem botanischen Institut zu Tübingen. I. Bd. III. Heft. 1884. p. 423 Anmerk., und ALEX. BRAUN, Neuere Untersuchungen über die Gattungen *Marsilia* und *Pilularia*. In: Monatsberichte der königlich preußischen Akademie der Wissenschaften zu Berlin. 1870. p. 664.

3) Entwicklungsgeschichte des Prothalliums von *Gymnogramme leptophylla*. In: Botanische Zeitung. 1877. p. 703.

4) HOFMEISTER, Allgemeine Morphologie der Gewächse. 1868. p. 555.

wachsen erkennen. Zehn oder fünfzehn Wochen dauernde Aufbewahrung über Schwefelsäure bewirkte ein völliges Absterben der Brutknospen beider Arten. Nur ein einziges Exemplar der Brutknospen von *Marchantia* trieb nach zehnwöchentlicher Schwefelsäuretrokkenheit.

Trockneren Substraten angepasste Lebermoose bleiben auch in ihrem Thallus beim Austrocknen lebend erhalten. So gelang es mir, eine sieben Monate im Herbar aufbewahrte *Corsinia marchantioides* und ein anderes dreiviertel Jahr an der Luft gelegenes Exemplar zur Wiederaufnahme des Wachstums zu veranlassen. Selbst letzteres hatte unter geeigneten Bedingungen nach 14 Tagen seinen Thallus bis auf wenige Theilchen völlig regenerirt und auch schon zahlreiche neue Lämpchen ausgetrieben.

Unter den Sporen der Lebermoose giebt es einige, welche durch Austrocknen eine gewisse Schädigung erleiden. Diese Sporen müssen, wenn sie vorher getrocknet sind, länger feucht liegen, bevor sie keimen, als frische eben gereifte. Gründlich ausgetrocknete *Ricciasporen* keimen überhaupt nicht mehr, während frisch aus der Kapsel genommene es schon nach wenigen Tagen thun¹⁾.

Laubmoose.

Die Fähigkeit ganzer vegetativer Pflanzenkörper, eine völlige Austrocknung ohne Schaden ertragen zu können, finden wir in noch weit höherem Grade ausgebildet und auch viel verbreiteter, als bei den Lebermoosen, bei den Laubmoosen. Hier treffen wir alle möglichen Abstufungen in der Resistenz gegen die Trockenheit, ganz den verschiedenen Substraten, welchen sich die Moose angepasst haben, entsprechend.

Bei solchen *Sphagnum*arten, welche wie *Sphagnum acutifolium* und *Sph. cymbifolium* in der Natur in dichten Rasen meist an sehr feuchten Standorten vorkommen, hat sich jene Fähigkeit, beim Austrocknen ungeschädigt zu bleiben, nicht ausgebildet oder sie ist ihnen verloren gegangen. Exemplare der beiden genannten Spezies, welche sechs Wochen lufttrocken gewesen waren, fand ich völlig abgestorben. Nach OLTMANN'S²⁾ können die Stammscheitel von Pflänzchen des *Sphagnum acutifolium*, die vier Wochen völlig trocken gelegen haben, noch lebend sein.

Leicht tödtet die Trockenheit auch die im Wasser fluthende *Fontinalis antipyretica*. Solchen Wassermoosen aber, die in steinigten Bächen leben, deren Bett gelegentlich einmal einer Austrocknung unterliegt, scheint auch eine größere Widerstandsfähigkeit zuzukommen. Ein *Cinclidotus fontinaloides*, welcher im Mai 1882 gesammelt und bis zum August 1884, also über

1) LEITGEB, Über Bau und Entwicklung der Sporenhäute und deren Verhalten bei der Keimung. 1884. p. 104.

2) Über die Wasserbewegung in der Moospflanze und ihren Einfluss auf die Wasser-
vertheilung im Boden. 1884. p. 18.

zwei Jahre lang, trocken im Herbar gelegen hatte, zeigte nach dem Einlegen in Wasser noch viele lebende Blattzellen und nach acht Tagen konnte ich schon wahrnehmen, dass die alten Stämmchen kleine neue Seitensprosse produziert hatten.

Die in Wäldern und an feuchten, schattigen Orten wachsenden Moose, wie z. B. *Mnium hornum* und *Funaria hygrometrica*, vertragen wohl Lufttrockenheit, ihre Blätter gehen aber beim Austrocknen im Exsikkator zu Grunde. In Moosrasen des *Mnium hornum*, welche zwölf Wochen lang lufttrocken gehalten waren, fand ich die Zellen in den Blättern alle bis auf einige einzelne lebend, wenn sie langsam von unten befeuchtet oder auch wenn sie direkt in Wasser getaucht wurden. Nach dem Einpflanzen in Erde gingen die Blätter zwar nach wenigen Tagen ein, doch war das Moos damit noch nicht vernichtet, denn nach mehreren Wochen entsprossen den unteren Theilen der alten Stämmchen neue junge Triebe. Fünf Wochen lufttrocken und dann sieben Wochen über Schwefelsäure oder auch gleich von Anfang an zwölf Wochen über Schwefelsäure gehaltenes *Mnium hornum* hatte nach dem Befeuchten viele todte Blattzellen und lieferte nach dem Einpflanzen in Erde keine neuen Triebe mehr.

Die eingepflanzten Moose wurden in allen Fällen gehörig feucht unter einer Glasglocke an einem nicht zu warmen und vor direktem Sonnenlicht geschützten Orte zur Weiterentwicklung stehen gelassen.

Ähnlich wie *Mnium hornum*, aber noch etwas widerstandsfähiger verhielt sich *Funaria hygrometrica*. Acht Wochen lang mit ein wenig an den Rhizoiden hängen gebliebener Erde an der Luft getrocknete Pflänzchen derselben hatten noch alle Blattzellen lebend behalten. Auch dauerten die Stämmchen und Blätter nach dem Einpflanzen aus, bis sie im Laufe der Zeit durch neue verdrängt wurden. Verschiedene 49 Wochen an der Luft resp. 4, 5 und 6 Wochen über Schwefelsäure getrocknete Moosrasen der *Funaria* enthielten in ihren Blättern ungefähr ebenso viele lebende wie todte Zellen. Bei den in Erde gepflanzten Versuchsobjekten erhielten sich die Blätter noch einige Tage grün, dann jedoch entfärbten sie sich, indem sie verschimmelten. Aber auch in diesen Fällen regenerirte sich das Moos, indem wie bei dem lufttrocken gewesenen *Mnium hornum* nach zwei bis drei Wochen aus den unteren Theilen neue Pflänzchen hervorkamen, die sich direkt aus den alten Stämmchen als Seitentriebe entwickelt hatten. Die jungen Sprosse bildeten am Grunde auch gleich Rhizoiden und machten sich dadurch von dem inzwischen völlig absterbenden alten Moos unabhängig.

Funaria-Exemplare, welche ich nach dreiwöchentlicher völlig regenloser Dürre bei einer 30° C. im Schatten überschreitenden Temperatur, allerdings vor direkten Strahlen der Mittagssonne geschützt, auffand, waren zwar ganz vertrocknet, erwiesen sich aber doch, nachdem sie wieder mit Wasser in Kontakt gebracht waren, als völlig lebend.

Um zu sehen, ob die *Funaria* in der Natur auch an sonnigen trocknen Orten fortzukommen vermöge, brachte ich andere Exemplare, die auf einem großen Tuffsteine im Schatten erwachsen waren, bei sehr trockenem und warmem Wetter an einen sonnigen Platz, indem ich den Stein wieder so weit eingrub, wie er vorher in der Erde steckte. Das Moos vertrocknete in wenigen Stunden. Am folgenden Tage wurde es durch einen starken Regen wieder benetzt, doch nach einigen weiteren Tagen war es braun und abgestorben. Allein in diesem Falle wäre es nicht unmöglich, dass die Ursache des Absterbens nicht dem Austrocknen, als vielmehr anderen schädigenden Einflüssen, wie vielleicht zu intensivem Sonnenlicht oder zu hoher Wärme (der Platz war ein kleiner, nach Süden zu abfallender Erdwall) zuzuschreiben ist. In folgendem Falle aber werden die Pflanzen wirklich durch Trockenheit geschädigt sein. Ich setzte nämlich in kleinen Blumentöpfen kultivierte *Funaria*, nachdem sie schon im Zimmer welk geworden war, zwei Tage hindurch der Sonne aus bei einer bis zu 30° C. steigenden Temperatur. Hiernach fanden sich nur in wenigen Blättern noch eine Anzahl lebender Zellen; die meisten Blätter waren gänzlich getötet und nach einigen Tagen des Feuchthaltens war nichts Lebendes mehr zu finden. Abgeschnittene Stämmchen enthielten gleich nach dem Trocknen in der Sonne noch 45,05% Wasser, während frische turgescente 79,7% und drei bis vier Monate im Zimmer getrocknete *Funaria*, die, wie oben bemerkt, auch schon eine Anzahl abgestorbener Zellen besaß, noch über 25% Wasser aufweisen konnte. Die zwei Centimeter dicke obere Bodenschicht in den Blumentöpfen, welche aus sehr guter Humuserde bestand, hatte noch einen Wassergehalt von 3,55%, dieselbe im Zimmer lufttrocken gewordene Erde 4,05%. Nun aber erfährt selbst eine minder gute Erde im Freien, wenn sie im Zusammenhang mit dem Boden bleibt, sie also aus den tiefer liegenden nassen Schichten Feuchtigkeit kapillar nachziehen kann, nie einen so weitgehenden Wasserverlust. Ein wenig humöser lehmiger Sandboden, den ich in einen Centimeter dicker Oberschicht nach lang anhaltender Dürre von einem freiliegenden Orte einsammelte, gab beispielsweise noch 6% Feuchtigkeit ab. Da die Pflanzen aber auch einem so weit ausgetrockneten Boden immer noch Wasser entreißen können¹⁾, so wird einer *Funaria* in der Natur Trockenheit allein für sich doch wohl nicht leicht gefährlich werden. Eine in dem einen der erwähnten Blumentöpfe mitgewachsene *Barbula muralis* war durch den Versuch gar nicht weiter alterirt; ihre Stämmchen blieben in allen Theilen lebensfähig erhalten.

Dieses Moos, wie überhaupt die auf sehr trocknen Standorten, wie Mauern und Felsen, und manche auf Baumrinden vorkommenden Spezies beweisen eine außerordentliche Lebenszähigkeit auch dem stärksten Aus-

1) Vergl. SACHS, Über den Einfluss der chemischen und physikalischen Beschaffenheit des Bodens auf die Transpiration der Pflanzen. In: Die landwirthschaftlichen Versuchs-Stationen. I. Bd. 1859, p. 234.

trocknen gegenüber. Sie überstehen nicht nur eine monatelange Lufttrockenheit ohne allen Nachtheil, sondern verlieren selbst nach langdauerndem Aufenthalt über Schwefelsäure beim nachherigen Befeuchten nicht einmal ihre Blätter, sondern sie nehmen einfach das bis dahin sistirte Wachstum in allen Theilen wieder auf. So verhielt sich z. B. eine *Barbula muralis*, die ich 22, resp. 48 Wochen lufttrocken oder im Exsikkator aufbewahrt hatte.

Eine auf einem Stück Kalktuff gewachsene *Barbula unguiculata* ertrug über 20 Wochen Lufttrockenheit und 42 Wochen Schwefelsäuretrokkenheit. Nach dem Anfeuchten waren alle Zellen lebend, die Pflänzchen erhielten sich dauernd und bald erschienen auch neue Stämmchen.

Bei *Barbula ruralis*, die 7, resp. 42 Wochen an der Luft oder auch im Exsikkator getrocknet war, konnten in allen Fällen sämtliche Protoplasma-körper durch eine etwas konzentrirte Salpeterlösung kontrahirt werden. Auch ihre Lebensfähigkeit hatten sie behauptet, denn Stämmchen und Blätter dauerten aus nach dem Einpflanzen. Doch war zum Gedeihen der *Barbula* ein Aufenthalt an einem schattigen, kühlen und feuchten Orte nothwendig; im Sonnenlicht bei feuchter Wärme wurde sie schon nach einem Tage gelb. Nach fünf Monate dauernder Schwefelsäuretrokkenheit waren noch alle Zellen lebend, nach sechs Monaten noch die Mehrzahl derselben.

Bryum caespiticium trieb nach zwanzigwöchentlichem Aufbewahren über Schwefelsäure schon in wenigen Tagen neue Stämmchen, wenn ich es wieder befeuchtete; auch die alten Blättchen waren nicht geschädigt. Nachdem das Moos zehn Monate über Schwefelsäure gestanden hatte, starben bei gleicher Behandlung die alten Blätter ab, doch erschienen nach 44 Tagen neue Sprosse direkt aus den alten und eine lebhaftete Protonema-bildung fand statt. In allen Theilen blieben ebenso *Grimmia pulvinata* und *Orthotrichum obtusifolium* erhalten, wenn sie nach 20 Wochen dauernder Schwefelsäuretrokkenheit wieder mit Wasser in Kontakt kamen. Bei letzterem Moose hatten auch die auf den Blättern sich zahlreich findenden Brutzellen ihr Leben bewahrt.

In der Litteratur finden sich noch einige Angaben, nach welchen alte viele Jahre lang in Herbarien aufbewahrte Moose durch Benetzen mit Wasser wieder aufgelebt seien. So citirt DE CANDOLLE ¹⁾ eine Behauptung GLEDITSCH's, dass Moose, die seit hundert Jahren trocken gewesen, nach sieben- oder achtstündiger Eintauchung in kaltes Wasser ihre ganze alte Lebenskraft wiedererlangt hätten, ferner eine weitere Angabe von BRIDEL, nach welcher sehr alte getrocknete Moose des Oxforder Herbarium wiederbelebt sind. NECKER ²⁾ beobachtete, dass *Barbula ruralis*, *Orthotrichum striatum*, *Hypnum*

1) Pflanzen-Physiologie, übersetzt und mit Anmerkungen versehen von JOH. RÖPER. II. Bd. 1835, p. 876.

2) An demselben Orte von DE CANDOLLE citirt.

abietinum und einige andere zwei Jahre lang in einer Schachtel aufbewahrte und vollkommen vertrocknete Moose, nachdem sie an einen feuchten und schattigen Ort gebracht worden, daselbst nach drei Monaten wieder anfangen zu vegetiren. Andere Autoren, wie HEDWIG¹⁾, ROBERT²⁾ und HOFMEISTER³⁾ leugnen die Möglichkeit der Lebenserhaltung bei langdauerndem Austrocknen. Ersterer bemerkte, dass bis zwei Jahre alte Moose beim Befechten zwar wieder aufschwollen, dass sie aber auch nicht die geringsten Sprosse trieben, noch viel weniger das Samengehäuse zur Reife förderten, und HOFMEISTER versichert, dass die auf der Rinde von Buchenscheiten, welche sechs bis sieben Monate gelegen haben, vorkommenden Flechten und Moose, abgesehen von etwa vorhandenen Fortpflanzungszellen, sammt und sonders todt seien.

Bei Versuchen mit solchen lange in Herbarien gelegenen Moosen ist nun ein Umstand zu beachten, auf welchen schon DE CANDOLLE aufmerksam macht, dass nämlich fast alle todtten getrockneten Laubmoose bei Zufuhr von Wasser wieder ein frisches straffes Aussehen annehmen und daher diese Veränderung also kein Kriterium für Tod und Leben sein kann.

Ich pflanzte die bestaussehenden Exemplare von *Barbula muralis* vom Jahre 1834, von *Barbula convoluta* v. J. 1835, *Barbula unguiculata* v. J. 1833, *Barbula subulata* v. J. 1845, *Barbula fallax* v. J. 1832, *Barbula muralis* v. J. 1838 und von *Grimmia apocarpa* v. J. 1834, welche in dem Herbarium des Tübinger botanischen Instituts, also 40 bis 50 Jahre, gelegen hatten, in Erde, bewässerte sie vorsichtig von unten auf und stellte sie, mit einer großen Glasglocke bedeckt, an einen schattigen Platz. Nach 24 Stunden konnte ich unter den Blattzellen keine lebenden finden und innerhalb 8 Tagen waren alle Moose missfarbig geworden und von jungen Trieben oder von *Protonema* war selbst nach zwei- bis dreimonatlichem Stehenlassen nichts zu bemerken. Ebenso erging es mit folgenden aus den Jahren 1866 bis 1880 (vier bis achtzehn Jahre alten) stammenden Moosen: *Bryum caespitium* vom Juli 1866, *Barbula muralis* v. J. 1866 und 1868, *Barbula ruralis* 67, *Barbula tortosa* 67, *Grimmia ovata* 68, *Orthotrichum liocarpum* 72, *Funaria hygrometrica* 77, *Barbula ruralis*, *tubulosa* und *muralis* 77, *Racomitrium canescens* 77, *Hedwigia eiliata* 77, *Grimmia commutata*, *pulvinata*, *apocarpa* 77, *Ulota crispula* 77, *Andraea petrophila* 77, *Dicranum elongatum* 77, *Orthotrichum anomalum* 77, *Dicranodontium longirostre* 14/7. 80.

Trotz der möglichst günstigen Bedingungen, die ihnen geboten wurden,

1) HUMBOLDT'S Aphorismen aus der chemischen Physiologie der Pflanzen. Aus dem Lateinischen übers. von GOTTH. FISCHER. Nebst einigen Zusätzen von Herrn Dr. u. Prof. HEDWIG. 1794, p. 173 u. 174.

2) Influence de la sècheresse sur les cryptogames. Botanischer Jahresbericht. 1875, p. 324.

3) Allgemeine Morphologie der Gewächse. 1868, p. 555.

waren alle diese Moose nicht zu erneuter Vegetation zu bringen. Nur bei *Bryum caespiticium* vom Juli 1866 fand sich oben in dem alten Laube ein Protonema ein, das auch bald Stämmchen trieb. Da die Blattzellen des alten Moooses alle todt waren, so ist es wahrscheinlich, dass dieses Protonema aus Sporen entstanden war, zumal sich reichlich Sporen ausstreuende Kapseln vorfanden. Ich bemerkte dieses Protonema zu spät, um noch seine Herkunft aus Sporen feststellen zu können.

Einige etwas weniger lange in Herbarien aufbewahrte Moose hatten aber doch eine hinreichende Zahl von Zellen ihres Pflanzenkörpers in lebendem Zustande erhalten, so dass sie mittelst dieser direkt oder auf dem Wege der Protonemabildung eine erneute Vegetation veranlassen konnten.

So producirte im Juli 1884 ein am $24/12$. 84 eingelegtes *Hymenostomum tortile* ein Protonema, aus welchem nach zwei Monaten neue Sprosse hervorgingen. Ein *Gymnostomum rupestre* vom $8/6$. 82 trieb direkt neue Stämmchen aus den alten. *Dicranodontium longirostre* vom $23/7$. 82 hatte fast alle Blattzellen am Leben erhalten. Aus diesen erwuchs ein Protonema, welches zahlreiche neue Knospen lieferte. Ein *Dicranum longifolium* vom $13/5$. 82 hatte noch einige lebende Blätter und Stämmchen. Aus letzteren erwachsen direkt neue Sprosse, die auch gleich an ihrer Basis Rhizoiden trieben, außerdem entstand noch viel Protonema. Einen im Mai 82 gesammelten und bis August 84 in trockenem Zustande lebend gebliebenen *Cinclidotus fontinaloides* habe ich schon oben erwähnt. Einige andere gleichalte Spezies dieses Genus waren ohne jedes Leben. Brutzellen von *Orthotrichum obtusifolium* hatten ihre Lebensfähigkeit bei zweijähriger Aufbewahrung im Herbar konservirt, während die Blätter, auf welchen sie sich befanden, schon bis auf ganz wenige Zellen abgestorben waren.

Es unterliegt wohl keinem Zweifel, dass noch eine ganze Reihe anderer Moose, die in der Natur auf trockene Standorte angewiesen sind, sich ähnlich verhalten werden wie diese angeführten, im Juli 84 von mir untersuchten Spezies.

Was die Dauer der Lebensfähigkeit in trockenem Zustande anbetrifft, so wird man annehmen können, dass alle vegetativen Zellen der Moose nach fünf Jahren in der Regel abgestorben sind.

Anders verhalten sich die Sporen. Diese bewahren in trockenem Zustande ihre Keimfähigkeit außerordentlich lange Zeit. W. SCHIMPER¹⁾ säete Moossporen aus, welche 50 Jahre im Herbar gelegen hatten, und fand, dass sie ebenso keimten, als wenn sie von frischen Pflanzen genommen wären.

Außer den Sporen giebt es noch eine Form, in welcher die feuchteren Substraten angepassten Moose, die eine Austrocknung über Schwefelsäure nicht ertragen, dieselbe, ohne Schaden zu nehmen, überdauern können. Diese Form bilden gewisse, besonders diesem Zwecke entsprechend um-

1) Recherches anatomiques et morphologiques sur les mousses. 1848, p. 22.

gebildete Zellen des Protonema. Lässt man nämlich Protonema langsam trocken werden oder kultivirt man es auf nicht zu feuchter Erde, so verdickt sich bei einzelnen Zellen oder Zellreihen die Membran und der Inhalt wird konsistenter und an Reservestoffen reicher. Während die Gestalt der gewöhnlichen vegetativen Protonemazellen meist eine gestreckte längliche ist, haben diese das Austrocknen überdauernden Zellen das Bestreben sich abzurunden, auch wohl sich abzulösen. In die Luft ragende Zellen sind auch öfter braun gefärbt.

Derartige derbwandige Protonemazellen überstehen nicht allein Lufttrockenheit¹⁾, sondern sie wachsen auch nach langwährendem Aufenthalt im Exsikkator bei Feuchtigkeitzufuhr wieder aus. So trieb ein Protonema von *Funaria hygrometrica*, welches ich zuerst vier Wochen an der Luft getrocknet, dann aber noch fünf Wochen im Exsikkator aufbewahrt hatte, schon in acht Tagen während der Wiederbefeuchtung zahlreiche kleine Stämmchen. Ein anderes Protonema, welches ich erst sieben Wochen an der Luft und dann noch ebenso lange über Schwefelsäure trocknete, zeigte dasselbe Verhalten. Die anderen nicht für diesen Zweck umgewandelten Protonemazellen wurden schon durch Lufttrockenheit vernichtet, was sich noch deutlicher bei einem in Wasser gezogenen *Funariaprotonema* erkennen ließ, welches völlig zu Grunde ging, wenn es einige Zeit frei an der Luft lag und nicht erst Zeit zur Ausbildung der Dauerzellen fand.

Algen.

Wie in der Gruppe der Muscineen trifft man auch bei den Thallophyten, insbesondere bei den Algen, Pflanzenformen, die je nach den Orten ihres Vorkommens in der Natur die Eigenschaft haben, eingreifende Trockenheit ertragen zu können oder aber durch dieselbe völlig, resp. nur theilweise, nämlich in ihren vegetativen Zellen vernichtet zu werden.

Bei den fast nur als Meeresbewohner lebenden Florideen und Melanophyceen, die höchstens zur Ebbezeit gelegentlich durch Anspülen auf den Strand aus dem Wasser entfernt werden und auch in diesem Falle wohl nur sehr unvollkommen trocknen, fehlen jegliche Zellen, die ein Austrocknen ertragen könnten²⁾.

Auch die vegetativen Theile der submersen Characeen gehen beim Trocknen zu Grunde, doch scheint für die Sporen derselben eine vorübergehende Wasserentziehung sogar günstig für die Fortentwicklungsfähigkeit zu wirken. Wenigstens giebt ALEX. BRAUN³⁾ an, dass die von harter Schale umgebenen Sporen nicht nur ihre Keimfähigkeit sehr lange behalten, son-

1) GÖBEL, Laubmoose. In: SCHENK, Handbuch der Botanik. II. Bd. 1882, p. 389,

2) Vergl. FALKENBERG, Die Algen im weitesten Sinne. In: SCHENK, Handbuch der Botanik. II. Bd. 1882, p. 175.

3) Characeen. In: COHN, Kryptogamen-Flora von Schlesien. I. Bd. 1876, p. 367.

dern dass sie auch, oft jahrelang im Schlamm in Ruhe verharrend, durch eine kürzere oder längere Austrocknung oder nach Petonnikow durch zeitweises Einfrieren zum Auskeimen veranlasst werden können, und sucht ALEX. BRAUN durch diesen Umstand die Unbeständigkeit des Vorkommens der Characeen zu erklären.

Die der Klasse der Chlorophyceen angehörenden Algen überdauern die Trockenheit in verschiedener Form. Einige vermögen speziell für diesen Zweck besondere Dauerzellen zu bilden. Bei anderen Gattungen zeigen sich nur die Zygoten resistent gegen Austrocknung, während bei noch anderen, besonders bei den einzelligen Palmellaceen und Protococcaceen manche Spezies in ihrer gewöhnlichen Form ohne Schaden für ihre weitere Entwicklung völlig trocken werden können.

Botrydium granulatum ist eine zur Ordnung der Siphoneen gehörige Chlorophycee, deren Zoosporangienplasma bei Einwirkung eines gewissen Grades von Trockenheit in den wurzelartigen Theil wandert und hier Dauerzellen bildet, die bis zur Dauer eines Jahres der Trockenheit widerstehen können, um bei einem befeuchtenden Regen Zoosporen zu produziren. Auch die Sporen des *Botrydium* vertragen langdauernde Austrocknung¹⁾.

Das wichtigste Ruhestadium für die Mehrzahl der Chlorophyceen bilden die Zygoten. Diese sind häufig mit einem fetten Öl versehen und FALKENBERG²⁾ hält es für wahrscheinlich, dass das Vorhandensein desselben in Beziehung stehe zu der Existenzfähigkeit der Sporen außerhalb des Wassers. Auch ALEX. BRAUN³⁾ glaubt, dass mehrere Palmellaceen, in denen theils normalerweise (*Pleurococcus miniatus*, *Palmella miniata*), theils als abnorme Erscheinung (*Tachygonium*, *Chlorococcum*, *Endococcus*) Öl auftritt, deswegen in eingetrocknetem Zustand ihr Leben längere Zeit bewahren können. Doch kann in manchen Fällen das häufig gelb bis braun gefärbte Öl eher ein Schutzmittel gegen zu intensive Beleuchtung sein, als ein nothwendiger Bestandtheil der Zelle für die Fähigkeit, Austrocknen zu vertragen zu können. So können die grünen Zygoten von *Hydrodictyon*, denen solches Öl fehlt, nur unter der Bedingung ohne Schaden austrocknen, dass sie vor Licht geschützt werden, denn unter Einwirkung desselben entfärben sich die getrockneten Zygoten sofort, indem sie absterben⁴⁾.

Die vegetativen Zellen von *Hydrodictyon* sollen nach VAUCHER⁵⁾ sowohl intensive Kälte wie volle Sonnengluth in einem wasserleeren Graben über-

1) ROSTAFINSKY und WORONIN, Über *Botrydium granulatum*. In: Botanische Zeitung. 1877, p. 659 u. 661.

2) In der genannten Abhandlung p. 173.

3) Betrachtungen über die Erscheinung der Verjüngung in der Natur. 1850, p. 229.

4) FALKENBERG, In der citirten Abhandlung. p. 174.

5) Histoire des conferves. p. 87. Citirt bei F. COHN, Entwicklungsgeschichte der mikroskopischen Algen und Pilze. In: Nova Acta Academiae Leopoldinae Carolinae Naturae curiosorum. Tom. XXIV. 1. Theil, 1854, p. 227 u. 228.

dauern können, was COUN jedoch für die grünen Zellen bestimmt bestreiten zu müssen glaubt.

Andere Chlorophyceen überstehen die Trockenheit ohne Lebensgefahr in ihrer gewöhnlichen vegetativen Gestalt. *Hormidium parietinum* z. B. erwies sich, nachdem ich es 6 resp. 16 Wochen an der Luft oder über Schwefelsäure getrocknet hatte, als lebend, wenn auch immer eine Anzahl der Versuchsobjekte einging. Auch *Scenedesmus obtusus* und *Cystococcus humicola* fand ich nach langer Lufttrockenheit sowie nach sechs-, auch fünfzehnwöchentlichem Aufbewahren über Schwefelsäure am Leben erhalten.

Die Dauerzustände von *Chlorochytrium Lemnae*, *Endosphaera biennis* und *Phyllobium dimorphum*, drei endophyter Protococcaceen, können sich auch nach monatelanger Austrocknung weiterentwickeln ¹⁾.

Bei *Chlamydomonas obtusa* beobachtete ALEX. BRAUN ²⁾, dass die einmal in den Ruhezustand übergegangenen Zellen allmählich Fettkügelchen produziren, dabei aber Wachstum und Vermehrung einstellen. Die in diesem Zustand befindliche *Chlamydomonas* bedarf, um eine Weiterentwicklung aufnehmen zu können, einer bestimmten ziemlich weit gehenden Austrocknung, denn nach einer vierwöchentlichen Trockenhaltung zeigten sich noch keine Veränderungen, während nach reichlich fünf Monaten bei erneuter Wasserzufuhr wieder neue schwärmende Zellen auftraten.

Ein ähnliches Verhalten glaube ich bei *Chlamydomonas Pulvisculus* annehmen zu dürfen. Diese lieferte mir nach dreizehnwöchentlichem Aufbewahren über Schwefelsäure zahlreiche Schwärmer, nachdem sie mehrere Tage wieder mit Wasser in Kontakt gewesen, während nach ebenso langer Lufttrockenheit unter im übrigen gleichen Bedingungen keine Schwärnzellen aufzufinden waren. Da jedoch nur anderthalb Wochen länger an der Luft gelegene *Chlamydomonas* ebenfalls in den schwärmenden Zustand überging, so kann das Nichterscheinen von Schwärmern in dem erwähnten Falle vielleicht auch ein zufälliges gewesen sein.

An dieser Stelle will ich noch bemerken, dass bei Versuchen, bei welchen es sich um so häufig vorkommende Objekte wie *Chlamydomonas* handelte, deren Verbreitung durch den Staub der Luft nicht ausgeschlossen war, ich mich stets kleiner Kochflaschen bediente, deren Hals ich durch einen Baumwollbausch schloss, nachdem das nöthige Wasser darin zum Sieden erhitzt war. Nach dem Erkalten wurde das Wasser durch Schütteln wieder mit Luft gesättigt und die Baumwolle nur bei der Eintragung der direkt aus dem Exsikkator kommenden Versuchspflanzen gehoben.

Dass eine Austrocknung zuweilen fördernd, ja selbst nothwendige Be-

1) KLEBS, Beiträge zur Kenntnis niederer Algenformen. Botanische Zeitung 1884. p. 255. 265 u. 284.

2) Betrachtungen über die Erscheinung der Verjüngung in der Natur. 1850, p. 228.

dingung für die Weiterentwicklung werden kann, zeigt noch deutlicher als *Chlamydomonas* das Verhalten des den Flagellaten angehörenden *Chlorogonium euchlorum*. Dr. KLEBS¹⁾ beobachtete, dass die in den Ruhezustand übergegangenen Kopulationsprodukte des *Chlorogonium* nach längerer Trockenheit, z. B. nach einem Jahre, reichlicher keimten, als nach drei Monaten, nach dieser Zeit wieder in größerer Zahl als nach drei Wochen, wo nur wenige sich entwickelten. Dass dabei mehr der Grad der Wasserentziehung als die Dauer der Trockenheit der Faktor ist, welcher für die Fortentwicklungsfähigkeit des *Chlorogonium* bestimmend wird, geht aus folgenden Versuchen hervor.

Ich nahm eine Portion reifer Ruhesporen aus dem Wasser, trocknete sie zwischen Fließpapier ab und brachte einen Theil derselben in einen Exsikkator über Schwefelsäure, während die andere Hälfte frei an der Luft liegen blieb. Nach drei Tagen übergoss ich Proben beider Trockenprodukte mit Wasser. Innerhalb vierundzwanzig Stunden hatten die über Schwefelsäure getrockneten Sporen neue schwärmende *Chlorogonien* entwickelt, aber in dem Wasser der frei an der Luft getrockneten waren keine beweglichen Zellen aufzufinden. Eine fünf- oder achttägige Lufttrockenheit dagegen befähigte schon viele Ruhesporen zur Fortentwicklung, jedoch bei weitem nicht so viele, als durch eine gleichlange Schwefelsäuretrockenheit keimfähig gemacht wurden. Massenhaft produzierten Schwärmer fünf oder achtzehn Wochen im Exsikkator getrocknete Sporen nach eintägiger Benetzung. Diese Sporen werden auch in ihrer Reife durch langsames Austrocknen des sie enthaltenden Wassers gefördert: die bewegliche Form wird schon durch Trocknen an der Luft zerstört.

Über *Euglena viridis* giebt der letztgenannte Autor²⁾ an, dass die Dauerzustände derselben mehrere Wochen völliges Austrocknen ertragen, um nach dem Eintragen in Wasser wieder in Bewegung überzugehen; ferner fand er, dass die *Euglena*, auch ohne den Dauerzustand angenommen zu haben, eine relativ große Trockenheit erträgt. Die bewegliche Form vermag sich nämlich, wenn sie z. B. im Sommer auf ihren Standorten in Straßenrinnen etc. einer plötzlichen Dürre ausgesetzt oder auf dem Objektträger mit Lehmtheilchen eingetrocknet wird, mit einer Schleimhülle, an der noch Theile der umgebenden Gegenstände kleben bleiben, zu umgeben und in dieser Gestalt einer nicht zu weit schreitenden Trockenheit zu widerstehen. Nach einer intensiveren, längere Zeit dauernden Austrocknung (von 7 resp. 12 Wochen) wollte es mir nicht gelingen, weder diese Form noch die Dauerzustände durch Befeuchten wieder ins Leben zurückzurufen.

1) Über die Organisation einiger Flagellaten-Gruppen und ihre Beziehungen zu Algen und Infusorien. Untersuchungen aus dem botanischen Institut zu Tübingen. I. Bd. 2. Heft. 1883, p. 340.

2) In der zitierten Abhandlung, p. 283.

Schon seit FLOTOW'S¹⁾ Untersuchungen über *Haematococcus pluvialis* (*Chlamydococcus pluvialis* ALEX. BRAUN) ist die außerordentliche Dauer der Lebensfähigkeit bei den Ruhezuständen dieser Volvocinee bekannt. FLOTOW bemerkte, dass man diese Alge, nachdem dieselbe 3, auch 14 Monate lang trocken in der Sammlung aufbewahrt gewesen, durch Übergießen mit Wasser wiederbeleben könne. Er sah in diesem Faktum den »schlagendsten Beweis für die pflanzliche Natur« dieser damals noch nicht in ihren verwandtschaftlichen Beziehungen zu anderen Volvocineen näher bekannten beweglichen Organismen. COHN²⁾ erhielt aus zwei Jahre lang trocken gewesenen Proben neue Schwärmer und ALEX. BRAUN³⁾ sah solche aus zweijährigen eingetrockneten Massen nach 32 Stunden und aus sieben Jahre alten nach dreitägiger Einweichung hervorgehen. Dieser Forscher bemerkte auch⁴⁾, dass es nur die ruhenden, dickwandigen Zustände des *Chlamydococcus* sind, welche die Austrocknung überstehen, dass aber für diese die Austrocknung eine Nothwendigkeit zur Fortentwicklung bildet, da sie sich im Wasser bei monatelangem Aufbewahren nur verändern, um abzusterben. Die erstere Thatsache ist nach COHN⁵⁾ wahrscheinlich auch der Grund, weshalb derselbe aus auf Papier oder auf dem Objektträger eingetrockneten *Chlamydococceen* keine lebenden Individuen erhielt; die schwärmenden Zellen hatten eben bei der schnellen Wasserverdunstung, wie sie in solchem Falle vor sich geht, nicht Zeit gefunden, in den Dauerzustand überzugehen. Dieser kann aber schon nach eintägigem Austrocknen unter geeigneten Bedingungen wieder bewegliche Form annehmen.

Einige Versuche will ich noch erwähnen, welche ich selber mit dieser Alge anstellte. Es stand mir durch die Güte des Herrn Dr. KLEBS ein von ihm im Juli 1879 eingetrocknetes Material zur Verfügung, welches seit dieser Zeit bis zum Mai 1884, also fast fünf Jahre hindurch, in Papier eingewickelt lufttrocken aufbewahrt war. Ich übergoss eine Probe davon mit Wasser und nach zwei Tagen konnte ich zahlreiche neue Schwärmer bemerken. Von dieser Kultur wurde das Wasser allmählich verdunsten gelassen, und als völlige Lufttrockenheit erreicht war, wurde das Gefäß noch fünf Wochen über Schwefelsäure gestellt. Dann wurde es wieder mit Wasser angefüllt und schon am folgenden Tage zeigten sich massenhaft neue bewegliche Zellen. Von der erstgenannten fünf Jahre alten eingetrockneten Masse wurden noch Proben 10 Wochen hindurch im Exsikkator aufbewahrt. Auch dann ließen sich hieraus noch zahllose schwärmende Chla-

1) Über *Haematococcus pluvialis*. In: *Nova Acta Academiae Leopoldinae Carolinae naturae curiosorum*. Tom. XX. 2. Theil. 1844 p. 435 u. 500.

2) Nachträge zur Naturgeschichte des *Protococcus pluvialis*. In: *Nova Acta Academiae Leopoldinae Carolinae naturae curiosorum*. Tom. XXII. 2. Theil. 1850, p. 626.

3) Betrachtungen über die Erscheinung der Verjüngung in der Natur. 1850, p. 223.

4) Ebenda, p. 224 u. 22^o Anmerkung.

5) In der oben genannten Abhandlung, p. 629 u. 723.

mydococcen erziehen. Um allen Täuschungen vorzubeugen, verwendete ich nur frisch ausgekochtes Wasser und vor dem Gebrauch erhitzte Gläser. Nachdem verschiedene Proben dieses alten Materials acht Monate über Schwefelsäure gestanden hatten, waren Wiederbelebungsversuche erfolglos, während sie mit frischen, ebenso lange über Schwefelsäure ausgetrockneten Kulturen leicht gelangen.

Die Alge des rothen Schnee's, *Chlamydococcus nivalis*, konnte COHN¹⁾ nicht, weder in frischem, noch in eingetrocknetem Zustande, lebend erhalten.

Stephanosphaera pluvialis gleicht insofern in der Verhaltungsweise gegenüber der Trockenheit dem *Chlamydococcus pluvialis*, als auch bei ihr die schwärmenden Zustände bei Einwirkung der Trockenheit zerfließen und die ruhenden Zellen im Wasser durch keinerlei Mittel zur Verjüngung gezwungen werden können, eine kürzere oder längere Austrocknung mit nachfolgender Befeuchtung dagegen die Bildung beweglicher *Stephanosphaera*-familien leicht bewirkt²⁾.

Unter den Palmellaceen trifft man Organismen, welche zum Theil sehr intensives und andauerndes Trocknen ohne jede Schädigung ertragen, während andere Spezies schon durch relativ schwache Austrocknung vernichtet werden.

Pleurococcus vulgaris, den ich mit seinem Substrat, Platanenrinde, zwanzig Wochen an der Luft resp. über Schwefelsäure liegen ließ, erwies sich nach dem Befeuchten als lebend. Es ist bald nach dem Benetzen zuerst nicht leicht zu erkennen, ob todte oder lebende *Pleurococcus*-zellen vorliegen; doch sind die todten, wenn sie vierzehn Tage auf Wasser geschwommen oder sonstwie feucht gehalten sind, meist entfärbt oder wenigstens völlig degenerirt. Solche fanden sich auch unter den im Exsikkator getrockneten *Pleurococen* in einiger Anzahl.

Pleurococcus miniatus erhält nach ALEX. BRAUN³⁾ ebenfalls in getrocknetem Zustande längere Zeit sein Leben.

Porphyridium cruentum, das in der Natur nur an feuchten Orten, z. B. am schattigen Grunde von Mauern fortkommt, verlor seine Lebensfähigkeit schon bei Lufttrockenheit. Ein rother Farbstoff tritt beim Wiederbenetzen aus den Zellen aus und die sonst verdeckte grüne Färbung bleibt zurück. Übrigens trocknen die *Porphyridium*-zellen nicht gerade schnell aus wegen

1) Entwicklungsgeschichte der mikroskopischen Algen und Pilze. In: Nova Acta Academiae Leopoldinae Carolinae naturae curiosorum. Tom. XXIV. 1. Theil. 1854, p. 168.

2) COHN und MAX WICHURA, Über *Stephanosphaera pluvialis*. In: Nova Acta Academiae Leopoldinae Carolinae naturae curiosorum. Tom. XXVI. 1. Theil. Nachtrag. 1857, p. 5. 11 u. 13.

3) Betrachtungen über die Erscheinung der Verjüngung in der Natur. 1850, p. 229 Anmerkung.

ihres Zusammenlebens in dichtgedrängten Kolonien, die von einer reichlichen Gallertabsonderung eingehüllt sind.

Etwas auseinandergehend zeigen sich bei den verschiedenen Forschern die Angaben, welche das Verhalten der Diatomeen bei eingreifender Trockenheit betreffen. FALKENBERG¹⁾ bezeichnet die sogen. Kratikalzustände, Dauerzustände, welche durch Ausbildung neuer Membranhälften, die fest um den kontrahirten Protoplasmakörper zusammenschließen, innerhalb der alten Kieselmembranen entstehen, als die Form, in welcher die Diatomeen einer vollständigen Austrocknung Widerstand zu leisten vermögen. PFITZER²⁾ nimmt die Möglichkeit an, dass kleinere Genera insbesondere beim Austrocknen des sie enthaltenden Schlammes im Staub durch den Wind fortgeführt werden und, sobald sie wieder in Wasser gelangen, dort ihr Leben fortsetzen könnten. Er erklärt damit auch das Vorkommen von Diatomeen im Wasser von Regentonnen und solchen Wassergläsern, die längere Zeit im Zimmer gestanden haben. PETIT³⁾ behauptet, dass bei einer genügend langsamen Eintrocknung das Plasma sich in eine Ecke der Zelle zusammenzöge, um bei erneuter Benetzung selbst nach sechs- bis achtmonatlicher Trockenheit im Laufe von acht Tagen allmählich wie vorher den ganzen Zellraum auszufüllen und die Diatomee wieder beweglich zu machen. HABIRSHAW⁴⁾ glaubt sogar, dass Schlamm, der in einer Glasflasche eingetrocknet war und sechs Jahre so gestanden hatte, die Bacillariaceen geliefert habe, welche er in dem Wasser, das er neu aufgoss, nach einigen Tagen lebend fand. Beobachtungen EHRENBERG'S⁵⁾, die auch PFITZER⁶⁾ bestätigt, zeigen, dass die Diatomeen in kaum noch feuchter Umgebung ihr Leben zu erhalten wissen, und ferner, dass sie, insbesondere wenn sie, wie das häufig der Fall ist, in kolossalen Mengen beisammen sind, sehr schwierig trocken werden, dass sie vielmehr hygroskopisch genannt zu werden verdienen. EHRENBERG sagt darüber:

»Die schon im Monat Juni auf einer völlig trockenen, hochgelegenen, unebenen Stelle des Thiergartens ausgeladene, anfangs einem nassen Schlamme gleiche Infusorienmasse trocknete allmählich zu einer festen Erde ein, die aber, aller Sonnenwärme ungeachtet, nie völlig hart wurde. Ich untersuchte zu Ende Juli's und auch neuerlich zu Anfang August's diese Erde und fand, dass, wenn sie mit Wasser versetzt wurde, zahllose Thier-

1) Die Algen im weitesten Sinne. In: SCHENK, Handbuch der Botanik. II. Bd. 1882, p. 304.

2) Diatomeen. In: SCHENK, Handbuch der Botanik. II. Bd. 1882, p. 405.

3) La desiccation fait-elle périr des Diatomées? Botanischer Jahresbericht 1878. I. p. 407.

4) The revivification of Diatoms. Botanischer Jahresbericht 1878. I. p. 407.

5) Über das Massenverhältnis der jetzt lebenden Kieselinfusorien etc. In: Abhandlungen der königlichen Akademie der Wissenschaften zu Berlin. 1836, p. 129.

6) Untersuchungen über Bau und Entwicklung der Bacillariaceen. In: HANSTEIN, Botanische Abhandlungen. I. Bd. 2. Heft. p. 168.

chen noch völlig lebendig umherkrochen. Dergleichen Erde, welche, obwohl Leben, doch durchaus keinen Modergeruch besitzt, war aber und ist noch jetzt im Thiergarten fuderweis vorhanden. So zeigen sich denn die Infusorien zum Theil als ohne Wasser fortlebende amphibische Thiere, aber einmal getrocknet, das heißt, seiner eigenen organischen Feuchtigkeit wirklich beraubt, lebt keines derselben wieder auf. Ferner giebt es mithin eine lebende Dammerde, welche bis zu zwei Drittheilen ihres Volumens aus dem bloßen Auge unsichtbaren zahllosen Millionen von Thieren besteht, und welche mehrere Monate lang, vielleicht länger, nur durch den Wasserdunst der Atmosphäre gefeuchtet, in der Hitze des Sommers lebendig fort-dauert«.

Um mich von der Verhaltungsweise dieser Organismen bei völliger Trockenheit zu unterrichten, habe ich zahlreiche kleinere wie größere Mengen von Schlamm oder Erde mit Diatomeen frei an der Luft liegen lassen oder auch ganz langsam unter Glasglocken eindunsten lassen. Aber selbst wenn ich große Schüsseln und Eimer voll Schlamm eintrocknete und die Verdampfung so regulirte, dass Wochen und Monate darüber hinweggingen, bis völlige Lufttrockenheit erreicht war, habe ich in keinem Falle eine lebende Diatomee gefunden, wenn eine wirklich total lufttrockene Schlamm- oder Erdmasse mit Wasser wieder in Kontakt kam, auch nach wochenlangem Stehenlassen. Bei meinen Versuchen mit an denselben Standorten vorkommenden Oscillarien, Euglenen, Desmidiaceen etc. konnte ich ebenfalls fast immer in der eingetrockneten Substanz, Diatomeen aber nur in abgestorbenem Zustand bemerken. Stets benutzte ich natürlich gekochtes oder destillirtes Wasser. Kratikularzustände und Auxosporen nach dieser Richtung hin zu untersuchen, hatte ich leider nicht Gelegenheit.

Da die ersteren nun bislang nur von wenigen Arten bekannt sind, beide Formen aber sich nur sehr selten zeigen, wir aber doch fast in jeder Regenrinne und jeder kleinen Pfütze bei nassem Wetter lebende Diatomeen antreffen, so kann ich mir die Erhaltung derselben an diesen Orten nur durch die Annahme erklären, dass im Freien die obere Bodenschicht nicht leicht einer so weit gehenden Austrocknung unterliegt, wie sie kleinere Mengen Erde im Zimmer thatsächlich erfahren. Diese Annahme findet eine Stütze in den oben zitierten Angaben EHRENBERG'S und PFITZER'S, dass die Bacillariaceen in kaum noch feuchter Erde lange Zeit ihr Leben zu bewahren vermögen, sowie in den Ergebnissen folgender Versuche.

Eine Anzahl kleiner Blumentöpfe füllte ich mit guter, an Diatomeen, wie z. B. *Pinnularia viridis*, *Surirella ovata*, *Navicula viridula* und anderen kleinen Naviculeen und Nitzschien reicher Humuserde, stellte sie so auf, dass die Luft nach allen Seiten hin, also auch zum Boden Zutritt hatte, und deckte über alle zusammen eine sehr große Glasglocke, die oben mit einem offenen Tubus versehen war. Auf diese Weise erzielte ich eine ebenso langsame wie gleichmäßige Verdunstung.

Nach etwa fünf Wochen nahm ich einen Topf heraus und bestimmte in der einen Hälfte seines Inhalts die Wassermenge. Sie betrug 14,8% des Gewichts. Die andere Hälfte der Erde durchfeuchtete ich wieder und fand darin dann am nächsten Tage zahlreiche bewegliche Diatomeen. Nach weiteren acht Tagen enthielt die Erde eines zweiten Topfes noch 12,25% Wasser und ebenfalls lebende Bacillarien, darunter die sonst nur im Wasser vorkommende *Melosira varians*. Nach Verlauf der folgenden Woche war der Wassergehalt der Erde eines dritten Topfes auf 9,05% heruntergegangen, damit aber auch das Leben der in der Erde vertheilten Diatomeen erloschen. Dasselbe war bei den zwei letzten Töpfen der Fall, deren Erde bis auf 5,5 resp. 5,0% Feuchtigkeitsgehalt ausgetrocknet war. Eine andere Portion der gleichen Erde, welche 14 Tage in dünner Schicht frei an der Luft getrocknet war, wies einen Gehalt von 4,04% Wasser auf. Nach dem Aussehen waren die einzelnen getrockneten Erdproben kaum zu unterscheiden.

Im Freien sinkt die Feuchtigkeitsmenge im Boden nicht leicht auf so geringe Procentzahlen herunter; in einem hoch- und freiliegenden recht sandigen Lehnboden fand ich, nachdem ich ihn nach außergewöhnlicher Dürre nachmittags in noch nicht zwei Centimeter tiefer Schicht abgenommen hatte, noch 6% Wasser. Morgens wird er jedenfalls durch Einfluss des Thaus feuchter gewesen sein. Nun geht aber aus von SACHS¹⁾ angestellten Versuchen hervor, dass Pflanzen einem schlechten Lehm- oder Sandboden noch Wasser entreißen können, wenn sie es bei einer besseren Humuserde mit gleichem Wassergehalt, aber größerer wasserhaltender Kraft nicht mehr vermögen. Daher scheint es nicht so unerklärlich, wenn wir die bei wirklich gänzlicher Lufttrockenheit absterbenden Bacillariaceen doch in für gewöhnlich wasserleeren Regenpfützen lebend finden.

Geht auch vielleicht die allergrößte Zahl während der trocknen Zeit zu Grunde, einige Überlebende ersetzen sie bei ihrer rapiden Vermehrungsweise bald. In der schnellen Vermehrung glaube ich auch den Grund für die Anwesenheit ganzer Kolonien kleiner Naviculeen und Nitzschien in Wassergläsern, wie sie PFITZER erwähnt, suchen zu müssen. Ein einziges Exemplar, das mit dem Wasser eingeführt wurde, kann in einiger Zeit eine große Anzahl von Generationen geliefert haben.

Die den Diatomeen auch in mancher anderen Hinsicht nahestehenden Desmidiaceen schließen sich denselben ebenfalls bezüglich ihrer Verhaltungsweise einem Eingriff der Trockenheit gegenüber an. Wenigstens waren neun verschiedene Spezies, die ich einer darauf bezüglichen Probe unter-

4) Über den Einfluss der chemischen und physikalischen Beschaffenheit des Bodens auf die Transpiration der Pflanzen. In: Die landwirthschaftlichen Versuchs-Stationen. I. Bd. 1859, p. 234.

zog, durch dieselbe ihrer Lebensfähigkeit beraubt. Diese Arten waren *Tetmemorus granulatus*, *Pleurotaenium Trabecula* b. *granulatum*, *Closterium turgidum*, *Closterium Dianae*, *Cosmarium pyramidatum*, *Cosmarium cucumis*, *Euastrum ansatum*, *Euastrum crassum*, *Euastrum verrucosum*. Sie befanden sich sämtlich in ihrem gewöhnlichen vegetativen Zustande; ob sie vielleicht in der Form von Zygosporen weniger empfindlich sich erweisen, vermag ich nicht anzugeben; doch erwähnt RALFS¹⁾, dass häufig in den Pfützen nicht mehrere Jahre hintereinander dieselben Desmidiaceen sich erhielten, selbst wenn sich auch Sporen gebildet gehabt hätten. Es scheint mir die Möglichkeit nicht ausgeschlossen zu sein, dass in solchen Fällen die vegetativen Desmidiaceen wie deren Sporen durch eine vorgekommene Austrocknung des Tümpels oder durch die ebenfalls als Wasserentziehung wirkende Kälte des Winters vernichtet wurden. Einen Fall, in welchem *Hyalotheca dissiliens* und andere Spezies dieses Genus in einem alten Regenfass fern von irgend einem sonstigen Standpunkt für Desmidiaceen gefunden wurden, glaubt RALFS²⁾ nicht anders erklären zu können als dadurch, dass man annehme, es befänden sich massenhaft Sporen in der Luft, oder, was wahrscheinlicher sei, dass sie an Wasserinsekten in die Tonne gelangt seien. Bleiben so kleine Organismen an der Oberfläche von Wasserkäfern und anderen Sumpfbewohnern etwa in Falten oder unter Schuppen kleben, so werden sie, auch wenn das Thier durch die Luft fliegt, lange Zeit feucht erhalten bleiben. Auf solche Weise werden wohl die meisten neu entstehenden stagnirenden Gewässer mit kleinen pflanzlichen oder thierischen Gebilden, die nicht durch den Staub in lebendem Zustande hineingelangen können, bevölkert werden.

Übrigens finden die Desmidiaceen in dem gallertartigen Schleim, welchen sie in größerer Menge abzusondern vermögen, einen wirksamen Schutz gegen die erste Einwirkung der Trockenheit³⁾.

Von *Penium curtum*, welches in hohem Grade diese Schleimsekretion zeigt, giebt ALEX. BRAUN⁴⁾ an, dass es bei längerer Kultur in Wasserschüsseln allmählich unter Schwinden der grünen Farbe mit fettem Öl sich erfülle, um in einen unthätigen Zustand überzugehen, der mit dem Tode der Zellen endige, wenn die Flüssigkeit nicht austrockne. Geschähe dieses aber, so entstünden schon am folgenden Tage nach wiedererfolgter Benetzung neue Gallertwolken mit zahlreichen frisch ergrüntem lebensfähigen Individuen. Die Größe der wiederbelebten, nun von Öl freien Desmidien beweise, dass dieselben nicht aus Sporen hervorgegangen sein könnten.

1) The british Desmidiaceae. 1848, p. 15.

2) Ebenda, p. 14.

3) RALFS, in der zitierten Abhandlung, p. 15.

4) Betrachtungen über die Erscheinung der Verjüngung in der Natur. 1850, p. 219.

Über die Bildung und die Bedeutung der Ruhezellen bei verschiedenen Zygnetaceen finden sich Angaben bei DE BARY¹⁾: Wenn das Wasser, in welchem *Zygnema leiospermum*, *Z. stellinum*, *Z. Vaucheri*, *Z. pectinatum* vegetirten, nach und nach verdunstete, so gingen die gewöhnlichen, nicht zur Fruktifikation gelangten Fäden in eine Ruheform mit an Stärkekörnern und an fettem Öl reichen und öfter mit braungefärbten Membranen versehenen Zellen über. Durch Zuführung einer größeren Quantität Wasser konnten diese Zustände wieder in die gewöhnliche Form zurückgeführt werden. Wurden sie der Austrocknung exponirt und hernach wieder mit Wasser übergossen, so nahmen sie ebenfalls nach einiger Zeit wieder dasselbe Aussehen an, welches sie vor der Eintrocknung zeigten. Die gewöhnlichen vegetativen Zygnetaceenzellen scheinen alle sehr leicht durch Austrocknen getödtet zu werden.

Die Zygoten aber sind diejenigen Gebilde der Zygnetaceen, welche gegen die Trockenheit am widerstandsfähigsten zu sein scheinen. Reife Sporen von *Zygnema stellinum*, welche vom Juli 1879 bis zum Juni 1884 lufttrocken aufbewahrt waren, übergoss ich um diese Zeit mit reinem Wasser und konnte dann nach mehreren Wochen eine ganze Anzahl junger Zygneten auffinden, darunter einige erst zweizellige, an denen sich noch die alte Sporenhaut befand.

Wenden wir uns nun der Klasse der Schizophyceen zu, so stoßen wir auch hier auf Gebilde, deren Resistenz gegen Trockenheit in deutlichster Beziehung steht zu dem Medium, welches ihnen als Wohnstätte dient. *Nostoc commune* lässt nach der Art seines Auftretens bei Regenwetter auf Wegen und sandigen Plätzen und seines fast völligen Verschwindens durch Zusammenschrumpfen bei herrschender Trockenheit von vornherein vermuthen, dass es einen außerordentlichen Wasserverlust ohne Gefahr für das Leben seiner Zellen zu erdulden im stande sein muss. In der That konnte ich bei einer Untersuchung vier Monate lufttrocken, resp. fünf Wochen über Schwefelsäure gehaltener Nostoclager beobachten, dass alle Zellen, ausgenommen natürlich schon vorher todt gewesene Grenzzellen, nach erneuter Wasserzufuhr zum Beweise des Lebendigseins durch eine etwas konzentrirte Salpeterlösung sich kontrahiren ließen. Eine mehr verdünnte Salzlösung nimmt den Nostoczellen ihre Turgescenz nicht. Nachdem der Nostoc sieben Monate über Schwefelsäure aufbewahrt war, fand ich nur wenig Abgestorbenes und die alten Lager produzirten auf feuchtem Sande bald neue Klümpchen.

Eine andere sehr großzellige Nostocspezies, die zwischen einem Moos erwachsen und mit diesem getrocknet, zwei und ein halbes Jahr im Herbar

1) Untersuchungen über die Familie der Conjugaten. 1858, p. 10.

gelegen hatte, konnte ich durch 24 Stunden langes Aufbewahren in der Feuchtkammer ebenfalls wieder beleben.

Die den Nostoczellen sehr ähnlichen vegetativen Zellen des *Cylindrospermum makrospermum* haben nicht eine solche Lebensfähigkeit wie erstere aufzuweisen; ihnen wurde schon eine vier Wochen dauernde Lufttrockenheit tödtlich. Das *Cylindrospermum* bildet aber einzelne Gliederzellen zu größeren dickwandigen Sporen um, die, sobald sie gereift sind, der Trockenheit mit Erfolg widerstehen. Ein Aufenthalt im Exsikkator von vier Monaten hatte das Leben derselben nicht geschädigt; die noch im unreifen Zustande befindlichen Sporen waren jedoch schon binnen vier Wochen zu Grunde gegangen.

Auf der Erde, von welcher ich schon früher bei Beschreibung meiner Versuche mit Diatomeen zu erwähnen Gelegenheit hatte, dass sie nach längerer Dürre noch 6% Wasser enthielt, fanden sich auch lebende Exemplare von *Sirosiphon ocellatus*. Ich brachte diese in einen Exsikkator, in welchem sie während sechs Wochen, ja selbst fünf Monate hindurch ihr Leben zu erhalten im Stande waren. Wiederbefeuchtet setzten sie ihr Wachsthum ohne bemerkbaren Schaden erlitten zu haben fort.

Am auffallendsten tritt die Anpassung der einzelnen Spezies an das Medium, auf resp. in welchem dieselben leben, unter den Schizophyceen bei der Gattung *Oscillaria* hervor. Die nur im Wasser vorkommenden kleinzelligen Arten, wie *Oscillaria tenerrima*, fand ich nach achtwöchentlicher Lufttrockenheit stets degenerirt. *Oscillaria antliaria* und *Oscillaria tenuis*, welche man auch wohl auf Schlamm und gelegentlich auch völlig außerhalb des Wassers antrifft, konnten an der Luft staubtrocken werden und wochenlang so bleiben, um bei der Benetzung nach einem halben Tage wieder lebhaft ihre Bewegungen auszuführen. Sie waren nur wenig zerfallen, sondern hatten sich vielmehr in Schleim gehüllt der Länge nach aneinander gelegt. Dieselben Spezies wurden durch sieben Wochen dauernden Aufenthalt über Schwefelsäure getödtet. Auch bei vorsichtigem Befeuchten fielen sie nach einiger Zeit der Fäulniss anheim. Eine andere *Oscillaria tenuis* war mit Euglenenschlamm zusammen eingetrocknet und in Papier gewickelt anderthalb Jahre aufbewahrt. Nach erneuter Wasserzufuhr bemerkte ich in der Masse nach einigen Tagen zahlreiche entschieden lebende, bewegliche und durch Salpeterlösung kontrahirbare Fäden, besonders in solchen Schlammstücken, die nur von unten auf Wasser aufgenommen hatten und mit der Luft hinreichend in Berührung gewesen waren.

Eine *Oscillaria* (*subfusea*?), welche ich unter Dachrinnen auf Erde und Steinen fand, wo sie bei regenlosem Wetter häufig derartig eintrocknete, dass die Rasen sich in muschelförmigen Stücken von der Erde ablösten, erhielt sich auch drei, selbst sieben Monate lang im Zimmer in lufttrocknem Zustand lebend. Nach siebenwöchentlicher Schwefelsäuretrocken-

heit war zwar das Absterben bei der überwiegenden Mehrzahl der Fäden erfolgt, doch konnte ich an einzelnen Fäden oder Fadenstücken, welche von den dicht gedrängt zusammenliegenden, mit Gallertscheiden umgebenen toten Oscillarien eingehüllt waren, nach dem Befeuchten die bewahrte Lebensfähigkeit bestimmt konstatieren. Diese Fäden wurden nach dem Benetzen mit der Rückkehr des Turgors aus den Gallertscheiden herausgepresst. Nach etlichen Stunden nahmen sie auch ihre selbständigen Bewegungen wieder auf und im Verlauf einiger Tage bedeckten sie bereits die ganze Oberfläche des Wassers. Nach $4\frac{1}{2}$ oder sieben Monaten fand ich jedoch alles Leben in den so scharf getrockneten Massen erloschen.

Auf Blumentöpfen der hiesigen Warmhäuser kommt eine 10 bis 13 μ (äußerste Grenzen) dicke graubraune, im Lager grauviolett-schwarze Oscillaria (saneta?) vor, die sich empfindlicher gegen Austrocknen zeigt als andere Arten dieser Größe. Es bedurfte nur einer vier bis sechs Wochen dauernden Lufttrockenheit, um in den mit Erde zusammenhängenden Rasen alles Leben zu vernichten. Besonders wenn die Oscillaria rasch, z. B. auf dem Objektträger getrocknet wurde, zerfiel sie bei erneuter Befeuchtung in lauter einzelne Zellen, indem zugleich ein violetter Farbstoff austrat, während ein grüner zurückblieb. Unter diesen Oscillarien fanden sich noch einzelne ebenso gefärbte und ebenso gestaltete Fäden, welche aber circa 19 μ dick waren. Diese ertrugen Lufttrockenheit. Wurden sie getötet, so verhielten sie sich wie die anderen.

Das Vorkommen der gallertartigen Scheiden und ihre Bedeutung als Schutzmittel bei Wassermangel ist von Borzi¹⁾ erkannt.

HANSGIRG²⁾ beobachtete bei Oscillaria antliaria, welche lange Zeit im Herbarium trocken aufbewahrt war, sobald dieselbe wieder befeuchtet wurde, eine zuerst passive, durch Quellungsvorgänge hervorgerufene, später aber auch selbständig werdende Bewegung der Fäden. Ferner sah er, dass Oscillariafäden auch in nicht wässrigen Flüssigkeiten, wie Mandelöl, ihre Kriechbewegungen machen können, so lange nicht das die Fäden in ganz dünner Schicht umgebende Wasser verdunstet ist. Aber damit ist die Grenze einer unschädlichen Wasserentziehung noch nicht überschritten. Ein 195 μ langer Faden von Oscillaria antliaria verkürzte sich beim Austrocknen auf dem Objektträger, nachdem das letzte umgebende Wasser verdunstet war, innerhalb fünfzehn Minuten noch um 39 μ . Als HANSGIRG nun von neuem befeuchtete, verlängerte sich der Faden wieder und kehrte binnen fünf bis zehn Minuten auf seine früheren Dimensionen zurück. Eine bedeutendere Verkürzung fand auch bei wiederholten und auf längere Zeit ausgedehnten Versuchen nicht statt. Es scheint daher der Protoplasma-

1) Citirt bei FALKENBERG, Die Algen im weitesten Sinne. In: SCHENK, Handbuch der Botanik. II. Bd. 1882, p. 306.

2) Bemerkungen über die Bewegungen der Oscillarien. In: Botanische Zeitung 1883, p. 836 u. 837.

körper bei der genannten Alge nur bis zu diesem bestimmten Grade Wasser abgeben zu können, ohne dabei Schaden zu nehmen.

Pilze.

Ungleich geringer als bei den Algen ist die Zahl der Repräsentanten der Klasse der Pilze, welche eine so weit ausgebildete Widerstandsfähigkeit bei der Austrocknung zeigen, dass ihr Vegetationskörper einen solchen Eingriff in seine Lebensthätigkeit überwindet. So bedarf es z. B. nur einer kurzdauernden Trockenheit, um die Hyphen von Schimmelpilzen und Hutpilzen zu verderben. Fäden von *Penicillium glaucum*, *Phycomyces nitens*, *Mucor Mucedo*, selbst wenn sie erst eben aus der Spore hervorgegangen waren, fand ich schon nach ganz schwacher Austrocknung desorganisiert.

Die verschiedenen Arten der Fortpflanzungszellen, sowie die bei manchen Spezies auftretenden Sklerotien sind die wichtigsten Gebilde, welche die Pilze produziren, um vermittelt derselben eine Zeit des Wassermangels zu überdauern. Doch sind auch hier noch Ausnahmen zu konstatiren. Sporen von *Penicillium glaucum* und von *Mucor Mucedo* keimten mir prompt nach einer acht Wochen dauernden Schwefelsäuretrockenheit.

Die Sporen von *Phycomyces nitens* gelten zwar für sehr vergänglich bezüglich ihrer Keimkraft, doch keimten frische Sporen, welche ich sieben Wochen über Schwefelsäure trocknen ließ, fast sämmtlich, wenn ich sie auf Brot oder besser auf Pflaumendekoktgelatine aussäte. Andere trocken aufbewahrte Sporen dieser Spezies hatten ihre Keimfähigkeit 5, 11, selbst 17 Monate lang bewahrt, ja sogar auch dann, wenn ich sie während dieser Zeit zuletzt noch sieben Wochen über Schwefelsäure hatte stehen lassen. Ich hatte Gelegenheit, mit *Phycomyces*sporen, welche am 2. August 1884 eingesammelt und bis zum 11. August 1884, also drei Jahre in geschlossenem Glase mit Chlorcalcium zusammen aufbewahrt waren, Keimungsversuche anzustellen. Sie gelangen bei Aussaaten auf Pflaumendekoktgelatine unter günstigen Umständen an manchen Sporen schon binnen 36 Stunden. Viele Sporen dieses alten Materials hatten jedoch ihre Entwicklungsfähigkeit eingebüßt. Ich ließ die Keimung in einem Tropfen Pflaumendekoktgelatine auf dem Objektträger vor sich gehen und beobachtete den Verlauf derselben unter dem Mikroskop, um eine Täuschung durch etwa auffliegende frische Sporen auszuschließen. Aussaaten dieser alten Sporen auf Brot wurden meist durch konkurrirende andere Pilze unterdrückt.

Einen anderen Fall von langer Dauer der Keimfähigkeit von Schimmelpilzsporen erwähnt BREFELD ¹⁾. Er erhielt nämlich aus sechs Jahre alten Sporen des *Aspergillus flavus* allerdings erst in der zweiten Woche nach dem Aussäen neue junge Exemplare dieses Pilzes.

1) Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze. 1877, III. Heft. p. 66 Anmerkung.

Die Konidien der Peronosporeen erhalten sich nur einige Wochen keimfähig; die von *Cystopus candidus* z. B. sechs bis acht, solche von *Peronospora infestans* etwa drei Wochen, wenn sie nicht gänzlich ausgetrocknet sind. Vollkommen lufttrockne Konidien dieser letztgenannten Spezies erweisen sich schon nach 24 Stunden als untüchtig zum Keimen¹⁾.

Über die lange Erhaltung der Keimkraft der Ustilagineensporen haben DE BARY²⁾ und HOFFMANN³⁾ einige Beobachtungen angegeben. Ausgedehntere Untersuchungen über diese auch für den Landwirth höchst wichtige Frage liegen von v. LIEBENBERG⁴⁾ vor. Derselbe ermittelte die Prozentzahlen der keimungsfähigen Sporen von Material, das verschieden lange Zeit hindurch im Herbarium trocken aufbewahrt war. Erhalten war die Keimkraft der Sporen noch bei *Tilletia caries* nach 8 1/2, bei *Ustilago carbo* nach 7 1/2, bei *Ustilago Kolaczekii*, *Crameri* und *destruens* nach 5 1/2, bei *Ustilago Tulasnei* nach 6 1/2, bei *Ustilago Rabenhorstiana* nach 3 1/2 und bei *Urocystis occulta* nach 6 1/2 Jahren und scheint es nicht zweifelhaft zu sein, dass diese Zeiträume noch verlängert werden können, ohne dass dadurch die Keimkraft dieser Sporen wesentlich beeinträchtigt wird. Für das aus den Sporen hervorgehende Promycel erweist sich jedoch die Austrocknung als absolut tödtlich⁵⁾.

Von sehr kurzer Dauer ist das Leben der Sporen des Fliegenpilzes, *Empusa muscae*. Bei völliger Trockenheit erleiden sie schon innerhalb vierzehn Tagen eine tödtliche Veränderung und Zersetzung⁶⁾. Ähnlich scheinen sich auch die Sporen der *Empusa radicans* zu verhalten.

Die Sporen zweier anderer insektentödtender Pilze, zweier Ascomyceten, *Botrytis Bassiana* auf Seidenraupen und *Cordiceps militaris* auf Raupen von *Sphinx Euphorbiae*, sind von dauerhafterer Konstitution. DE BARY giebt von den ersteren⁷⁾ an, dass sie ein bis zwei Jahre, und von den kugelrunden Konidien der letzteren Art⁸⁾, dass sie trocken aufbewahrt mindestens zehn Monate keimfähig bleiben.

1) DE BARY, Morphologie und Physiologie der Pilze, Flechten und Myxomyceten. 1866, p. 209.

2) Ebenda.

3) Untersuchungen über die Keimung der Pilzsporen. In: Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik, herausgeg. von PRINGSHEIM. II. Bd. 1860. p. 334.

4) Über die Dauer der Keimkraft der Sporen einiger Ustilagineen. In: Österreich. landwirthschaftl. Wochenblatt 1879. No. 43. 44. Referat in: Botanischer Jahresbericht 1879, p. 566.

5) HOFFMANN. In der zitierten Abhandlung, p. 329.

6) BREFELD, Untersuchungen über die Entwicklung der *Empusa muscae* und *Empusa radicans*. Separatabdruck aus den Verhandlungen der naturforschenden Gesellschaft zu Halle. Bd. XII. p. 44.

7) In dem zitierten Werke p. 240.

8) Zur Kenntnis insektentödtender Pilze. Botanische Zeitung 1867, p. 3.

Im Allgemeinen scheint zwar eine trockene Aufbewahrung für die Erhaltung der Entwicklungsfähigkeit der Sporen günstiger zu sein, als die Umgebung feuchter Luft, z. B. bei einem Aufenthalt im Keller, indessen werden für diese Regel noch weitere Ausnahmen außer den angeführten bei *Peronospora infestans* und *Empusa muscae* zu finden sein. So konnte HOFFMANN¹⁾ *Oidium monilioides* 21 Tage ohne Schaden im Keller aufbewahren, während diese Sporen im Zimmer binnen 44 Tagen bis auf einige wenige untüchtig zur Fortentwicklung geworden waren.

Die Dauer der Keimkraft bei den verschiedenen Sporenarten der Uredineen entspricht den Umständen, unter welchen diese zur Keimung gelangen. Die gleich mit Eintritt der Reife keimfähigen Uredo- und Aecidiumsporen behalten auch in trockenem Zustande ihre Keimfähigkeit nur einige Wochen, selten mehrere Monate, sicher aber nicht länger als den betreffenden Sommer hindurch, in welchem sie gebildet wurden. Bei den den Winter über ruhenden Teleutosporen, z. B. von *Puccinia graminis*, konnte DE BARY²⁾ sehr leicht im Frühling, mit der fortschreitenden Jahreszeit aber schwieriger und vom August ab gar nicht mehr eine Keimung veranlassen. Auch Teleutosporen anderer überwinternder Puccinien und Uromyceten, die eigens zum Zwecke einer hierauf bezüglichen Probe aufbewahrt waren, erwiesen sich im zweiten Sommer nach ihrer Entwicklung als untauglich zu weiterer Fortbildung.

Einige Pilze vermögen noch auf eine andere Weise als durch Bildung von Sporen gegen die Einwirkung der Trockenheit sich zu schützen, indem nämlich das Mycel in einen Dauerzustand, das Sklerotium, übergeht. Mehrere Sklerotienarten können über ein Jahr lang trocken aufbewahrt werden. Solche sind *Peziza Duriaei* und *Claviceps purpurea* nach Durieu und Tulasne, und nach DE BARY³⁾ auch *Peziza Sclerotiorum*. Von den Sklerotien des *Coprinus stercorarius* sagt BREFELD⁴⁾, dass sie beim Eintrocknen unter bedeutendem Gewichtsverlust zu unkenntlichen hornartigen Warzen zusammenschrumpfen, dass sie aber doch noch nach ein Jahr langem Liegen in diesem Zustande, sobald sie in Wasser gebracht werden, zu dem früheren Volum wieder aufquellen und später auch keimen können.

Von Myxomyceten ist es ebenfalls bekannt, dass sie im Sklerotienzustande kalte und trockene Jahreszeit überstehen. Nähere Angaben finden

1) In der genannten Abhandlung p. 334.

2) Morphologie und Physiologie der Pilze, Flechten und Myxomyceten. 1866, p. 209.

3) Siehe DE BARY, ebenda p. 38.

4) Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze. 1877. III. Heft. p. 25.

sich bei DE BARY ¹⁾. Nach diesen Beobachtungen bleibt die Lebensfähigkeit der trockenen Myxomyceten-Sklerotien in den meisten untersuchten Fällen sieben bis 8 Monate erhalten, doch blieben Sklerotien von *Didymium serpula* auch über ein Jahr lang lebend. Nach LÉVEILLÉ ²⁾ soll sogar ein Myxomyceten-Sklerotium nach zwanzigjähriger Aufbewahrung noch in den beweglichen Zustand übergegangen sein.

Die Ruhezustände der Schwärmer der Schleimpilze, die sogen. Mikrocyten, bleiben ebenfalls bei völliger Austrocknung lebensfähig. Nach DE BARY ³⁾ gehen solche von *Didymium praecox* und *Libertianum* in Wasser wieder zu der beweglichen Schwärmerform zurück und zwar um so schneller, je kürzer die Zeit gewesen war, in welcher die Trockenheit eingewirkt hatte. Immerhin konnte diese auf über zwei Monate ausgedehnt werden.

Wenn derbwandige Cysten, die Ruhezustände jugendlicher Plasmodien, nach mehrwöchentlichem Austrocknen wieder mit Wasser in Kontakt gelangen, so kehrt der Protoplasmakörper langsam unter Durchbrechung der Membran in die mit Kriechbewegungen ausgestattete Plasmodienform zurück ⁴⁾. Dieselben Wahrnehmungen machte FAYOT ⁵⁾ an der von ihm beschriebenen *Guttulina protea*. Die Sporen dieser Myxomycete gingen bei rasch erfolgender vollständiger Austrocknung zu Grunde.

Von der Hefe ist durch PASTEUR'S Untersuchungen bekannt, dass Zellen dieses Gährungspilzes sich in der Luft in lebendem Zustande suspendirt finden und daher leicht in Nährflüssigkeiten gelangen und in denselben Gährung hervorrufen können. Was die Dauer der Lebensfähigkeit der Hefezellen in trockenem Zustande betrifft, so fand dieser Forscher ⁶⁾, dass mit Gypspulver gemischte Hefe nach $2\frac{1}{2}$, auch nach $7\frac{1}{2}$ Monaten in reiner Bierwürze Gährung erregte und die Zellen sich wohlbehalten zeigten. Die erste Kohlensäureentwicklung war im ersten Falle nach vier, im letzten erst nach acht Tagen durch das Auftreten einer kleinen Schauminsel auf der Oberfläche des Bieres zu bemerken gewesen. In einer Probe derselben Mischung mit Gyps erwiesen sich nach elfmonatlicher Aufbewahrung die Hefezellen als abgestorben, nachdem sie zwölf Wochen in der Bierwürze gelegen hatten, ohne die geringste Spur von Gährung zu veranlassen.

Andere Autoren schreiben der trockenen Hefe eine weit längere Lebens-

1) Morphologie und Physiologie der Pilze, Flechten und Myxomyceten. 1866, p. 312.

2) Annales des sciences naturelles. 2. Sér. Tom. XX. p. 216. Citirt bei DE BARY.

3) Morphologie und Physiologie der Pilze, Flechten und Myxomyceten. 1866, p. 311.

4) DE BARY. Ebenda.

5) Beitrag zur Kenntnis niederer Myxomyceten. In: Botanische Zeitung 1883, p. 469, 475 u. 476.

6) Etudes sur la bière. 1876, p. 80—82.

dauer zu. CLAUDE BERNARD¹ und SCHUMACHER²) geben sie für Presshefe auf zwei Jahre an. Letzterer fand langsam getrocknete Presshefe, welche nur einen Wassergehalt von 40 % hatte, noch entwicklungsfähig. Daher scheint es nicht unmöglich zu sein, dass die Berührung mit Gyps bei der Hefe, mit welcher PASTEUR experimentirte, einen schädigenden Einfluss ausgeübt hat.

Trockene unvermischte oder mit einem ganz indifferenten Stoff, mit Stärke, gemengte Bierhefe stellte ich am 4. Juli 1884 über Schwefelsäure in einen Exsikkator. Am 29. Oktober, also nach 17 Wochen, gab ich eine Probe davon in eine dreiprozentige Traubenzuckerlösung mit etwas Nährsalz, welche vorher ausgekocht und in einer mit einem Baumwollbausch geschlossenen Kochflasche wieder erkaltet war. Um ein Eindringen in der Luft befindlicher Hefezellen zu verhüten, wurde der Baumwollpfropf nur beim Eintragen der direkt aus dem Exsikkator kommenden Hefe einen Moment gelüftet. Beim Eintragen der Hefe benutzte ich eine frisch ausgeglühte Pinzette. Bereits nach zwei Tagen war die erste Spur von Gärung bemerklich geworden.

Die Annahme, dass bei PASTEUR'S Versuchen der Gyps die Lebensdauer der Hefezellen gekürzt haben könne, erhält einen hohen Grad von Wahrscheinlichkeit durch das Faktum, dass sogar noch im Februar 1885 eine Probe meiner, nun also sieben Monate über Schwefelsäure getrockneten, reinen oder mit Stärke gemischten Hefe nicht erst nach acht Tagen, sondern schon am zweiten Tage nach dem Eintragen in Nährlösung in derselben Gärung hervorrief. Auch die mikroskopische Untersuchung ergab ein entsprechendes Resultat. Leider reichte meine Zeit nicht hin, das Trocknen auf ein Jahr auszudehnen; doch genügt dieser Versuch wohl, um den schädlichen Einfluss des gebrannten Gypses nachzuweisen. (PASTEUR hatte nämlich, um organisirte Einschlüsse im Gyps zu tödten, diesen auf gegen 200° erhitzt, durch welche Operation derselbe natürlich zu nahezu entwässertem Gyps wurde, der, wie bekannt, beträchtlich löslicher in Wasser ist, als der wasserhaltige, der also außer seiner hygroskopischen Wirkung vielleicht auch eine direkt schädigende auf die noch feuchte Hefe äußern konnte.)

Flechten.

Durch die Vereinigung der Pilze mit Algen zu Flechten erhalten beide Theile eine bedeutende Resistenz gegen die Trockenheit. Eine große Anzahl der auch im freien Zustande bekannten Flechten bildenden Algen ertragen für sich eine intensive Austrocknung; andere, z. B. Chroolepideen und Confervaceen, werden jedoch durch dieselbe getödtet. Wahrscheinlich

1) Leçons sur les phénomènes de la vie. 1878, p. 54.

2) Beiträge zur Morphologie und Biologie der Hefe. Botanischer Jahresbericht 1874, p. 347.

haben die Pilzfäden der wenigen rindenbewohnenden Krustenflechten, die zeitweise ohne Algen vegetiren, sich den Einflüssen, welchen sie an ihren Standorten ausgesetzt sind und unter denen die Trockenheit einen der wesentlichsten bildet, angepasst; im Allgemeinen gehen Pilzfäden für sich allein durch Austrocknung zu Grunde. Die Flechten aber scheinen, wie gesagt, durch Dürre wenig in ihrer Lebensfähigkeit beeinträchtigt zu werden.

Sticta pulmonaria, welche ich 4, 7, auch 17 Wochen über Schwefelsäure getrocknet hatte, war nach dem Wiederbefeuchten völlig lebend. Ihre in trockenem Zustande graue Farbe ging wieder in die frische grüne über, während durch Chloroformdämpfe oder durch zu langes Aufbewahren getödtete *Sticta* beim Befeuchten ein graubraunes Aussehen annimmt. Dreißig Wochen an der Luft oder im Exsikkator gelegene *Sticta* regenerirte nur in einzelnen Thalluslappen die grüne Färbung; jedenfalls war sie im Absterben begriffen, denn nach einigem Feuchthalten verschimmelte und verfaulte die Flechte total.

Die Thatsache, dass dieses bei lufttrockenen Exemplaren sowohl als bei den im Exsikkator getrockneten geschah, lehrt, dass weniger der Grad der Austrocknung als die Dauer derselben der den verderblichen Einfluss ausübende Faktor war.

Drei Wasserbestimmungen, welche ich an 12 resp. 17 Wochen über Schwefelsäure getrocknetem lebenden *Sticta*thallus ausführte, ergaben 4,88—4,81—4,87% Wasser. Da die beiden letzten Zahlen, die an den 5 Wochen länger getrockneten Versuchsobjekten ermittelt wurden, so genau mit jener ersten übereinstimmen, als dieses bei Analysen derartiger Körper nur verlangt werden kann, so scheint dieser Feuchtigkeitsgehalt das Minimum zu sein, welches unerlässliche Bedingung für die Erhaltung des Lebens der genannten Flechte ist, und das nur unter theilweisem oder völligem Absterben noch vermindert werden kann.

Die beiden ersten Wasserbestimmungen führte ich mittelst Trocknen der rasch gepulverten *Sticta* bei 110° aus, die dritte durch Trocknen des Pulvers im Exsikkator bis zum konstanten Gewicht.

Der Wassergehalt von fast 5% bei der so lange über Schwefelsäure gestandenen *Sticta* erscheint auf den ersten Blick überraschend hoch, doch enthielt ein lufttrockener, obendrein todter Thallus sogar 11,07% Wasser. In höchster Turgeszenz hatte die *Sticta* an Feuchtigkeit 68,9% aufzuweisen.

Bei Ausführung der Wasserbestimmungen überzeugte ich mich durch geeignete Versuche, dass der Fehler, welcher durch die Hygroskopizität der ausgetrockneten Masse bei raschem Zerreiben verursacht wird, die Genauigkeit des Resultats höchstens um 0,4% beeinträchtigen konnte.

Bei anderen Flechten ist es wegen des langsamen Wachstums und Fehlens deutlicher äußerer Merkmale schwieriger zu unterscheiden, ob sie einer weiteren Entwicklung fähig sind oder nicht. Doch fand ich die Algen-

zellen von Cladonia-, Verrucaria- und Evernia-Arten nach längerem Stehen der Flechten über Schwefelsäure lebend und an einer Collema, die ich wieder einpflanzte, war während zweier Monate des Feuchthaltens nichts Abgestorbenes zu bemerken.

Über die Dauer der Lebensfähigkeit der Flechten in trockenem Zustande giebt HOFMEISTER¹⁾ an, dass sie keine sehr lange sei. Peltigera canina könne beispielsweise zwei Monate hindurch staubtrocken sein, ohne ihr Leben zu verlieren, aber bei fünfmonatlicher Austrocknung nehme sie zwar, wenn sie wieder befeuchtet würde, das Ansehen einer lebenden Pflanze an, faule jedoch. Die auf der Rinde von Buchenscheiten, welche sechs bis sieben Monate gelegen haben, vorkommenden Flechten sind nach diesem Autor sammt und sonders todt.

Spaltpilze.

Die Spaltpilze müssen, da wenigstens eine große Reihe von Formen derselben ihre Verbreitung durch den Staub der Luft finden, daher natürlich auch die Austrocknung vertragen können. Solche Formen aber, welche in der Natur nur in Flüssigkeiten leben, wie manche Spirillen, werden vernichtet, sobald sie der Trockenheit ausgesetzt werden. In der Mitte zwischen diesen beiden Reihen stehen solche Bakterien, welche das Austrocknen wohl als Sporen überstehen, in ihrer gewöhnlichen Gestalt aber zu Grunde gehen.

Versuche mit Bacterium Termo hat EIDAM²⁾ angestellt. Er tauchte Glasstäbe in Bakterien haltende Flüssigkeit, ließ sie trocken werden und hing sie nach verschieden langer Zeit in eine vorher aufgekochte Nährlösung. Zwei Tage nach dem Einhängen der Glasstäbe gab sich eine reichliche Vermehrung der Bakterien durch Trübwerden der Flüssigkeit zu erkennen, auch bei einer auf sieben Tage ausgedehnten Austrocknung, während nur mit der Hand berührte oder ausgeglühte Glasstäbe in der Nährlösung selbst in acht Tagen keine sichtbare Veränderung bewirkten.

Um das Verhalten der Fäulnisbakterien bei längerem Austrocknen über Schwefelsäure kennen zu lernen, verfuhr ich auf folgende Weise: Zuerst ließ ich eine Quantität reichlich Bakterien haltender Flüssigkeit an der Luft eintrocknen; andererseits brachte ich einen zurückbehaltenen Theil derselben in ein zu einer Kapillare ausgezogenes Gläschen, erhitzte zum Sieden und schmolz die Kapillare zu. Um nun diese Nährlösung zu sterilisiren, ließ ich das Gläschen mehrere Stunden in kochendem Wasser liegen. Sodann gab ich dasselbe sowie eine Portion der eingetrockneten Bakterien-

1) Allgemeine Morphologie der Gewächse. 1868, p. 555.

2) Einwirkung verschiedener Temperatur und des Eintrocknens auf die Entwicklung von Bacterium Termo. In: COHN, Beiträge zur Biologie der Pflanzen. I. Bd. 3. Heft. 1875, p. 221 u. f.

masse in einen größeren Reagenzylinder und schloss diesen mit einem nicht zu lockeren Baumwollbausch. Eine Anzahl auf solche Weise vorbereiteter Reagenzgläser stellte ich dann zusammen über Schwefelsäure. Nach dem Herausnehmen der Versuchsgläser aus dem Exsikkator nach gewisser Zeit bedurfte es nur gelinden Schüttelns, um die Kapillare zu zerbrechen und die ausgetrockneten Spaltpilze mit der ausfließenden sterilisierten Nährflüssigkeit zu benetzen. Durch ein derartiges Vorgehen glaube ich das Zutreten neuer, in der Luft befindlicher Organismen zu der ausgetrockneten Bakterienmasse mit möglichst großer Sicherheit ausgeschlossen zu haben. Nach einigem Warten, schon an dem der Wiederbenetzung folgenden Tage, konnte dann zur mikroskopischen Untersuchung geschritten werden. Diese ergab die Anwesenheit zahlloser lebender Bakterien, auch wenn die Austrocknung 13 und selbst 24 oder 25 Wochen gedauert hatte. Zur Kontrolle, ob die in den Kapillarröhrengläschen eingeschlossene Nährflüssigkeit auch wirklich frei von lebenden Organismen sei, brachte ich zwei der Gläschen in zwei Reagirzylinder, goss einige Gramm Chloroform darauf, schloss mit Baumwolle und ließ das Chloroform durch Neigen der Reagirzylinder die Wände derselben, die Kapillarröhrengläschen und die Baumwolle reichlich befeuchten, um alles daran haftende Leben zu tödten. Nach einigen Tagen war das Chloroform völlig verdunstet und, nachdem ich nun die Kapillaren zerschüttelt hatte, zeigte sich nach einigen weiteren Tagen bei der mikroskopischen Untersuchung durchaus nichts von beweglichen Organismen.

Unter Anwendung derselben Methode prüfte ich auch verschiedene Formen der *Cladothrix dichotoma*, welche 24 Wochen über Schwefelsäure gestanden hatten. Die vor dem Trocknen anwesenden Spirillum- und Spirochaeteformen waren total verschwunden, Mikrokokkus- und Bacillusformen dagegen reichlich vorhanden, wenn auch diese wohl kaum sämtlich der *Cladothrix* angehörten. Auch einige längere bewegliche *Cladothrix*fäden konnte ich zwei Tage nach dem Zerschütteln der Kapillare auffinden.

Ob bei diesen Versuchen Sporen zugegen gewesen sind, muss dahingestellt bleiben, doch ist es nicht grade wahrscheinlich wegen des zuerst schnell vor sich gegangenen Abtrocknens der Bakterienmasse an der Luft. Dass sie jedenfalls nicht die einzigen Überlebenden waren, beweist das so baldige massenhafte Auftreten beweglicher Spaltpilze.

Die Lebensdauer der Bakterien in trockenem Zustande muss eine außerordentlich lange sein. SCHUMACHER¹⁾ fand Spaltpilze, die in vier Jahre alter Presshefe enthalten waren, lebensfähig, während die Hefezellen abgestorben waren. NÄGELI²⁾ äußert sich darüber sogar mit folgenden Worten:

1) Beiträge zur Morphologie und Biologie der Hefe. Ref. in: Botanischer Jahresbericht 1874, p. 347.

2) Die niederen Pilze in ihren Beziehungen zu den Infektionskrankheiten und der Gesundheitspflege. 1877, p. 28.

»Die niederen Pilze verhalten sich gleichsam wie die Samen der höheren Pflanzen. Austrocknen tödtet sie nicht, konservirt sie vielmehr; die Lebensfunktionen stehen in trockenem Zustande bloß still (latentes Leben), beginnen aber wieder, sobald die Zellen das nöthige Wasser finden. Das Vermögen, einzutrocknen und mit dem Befeuchten wieder aufzuleben, kommt den niederen Pilzen um so vollständiger zu, je kleiner sie sind, in vorzüglichstem Grade den Spaltpilzen, welche ohne Zweifel Jahrhunderte, selbst Jahrtausende lang in lufttrocknem Zustande lebensfähig bleiben.«

Diese Angaben können jedoch für manche Bakterienformen nicht als gültig angesehen werden. Solche Arten sind, wie schon oben bemerkt, besonders die Spirillen und Verwandte derselben. COHN¹⁾ glaubt bemerkt zu haben, dass Spirillen nur in Aufgüssen vorkommen, zu welchen Flusswasser verwendet wurde, dass also ihre Keime nicht durch die Luft, sondern durch das Wasser verbreitet zu werden scheinen. MÜHLHÄUSER²⁾ giebt an, dass die Spirillen beim Eintrocknen zu Grunde gehen und dabei fast vollständig verschwinden. Versuche, welche ich mit *Spirillum undula* anstellte, führten zu demselben Resultat, und zwar bedurfte es nur einer einmaligen kurzdauernden Austrocknung des sie beherbergenden Wassers an der Luft. Durch die Untersuchungen KOCI'S³⁾ über die Cholera Bakterien, Organismen, welche wahrscheinlich auch unter diese Gruppe zu rechnen sind, ist konstatiert, dass dieselben wenigstens in der bislang nur bekannten Gestalt durch Trockenheit leicht vernichtet werden.

Die Kuhpocke und das Blutbakterium, *Micrococcus prodigiosus*, behalten, wenn sie ein Jahr lang trocken aufbewahrt werden, nach HILLER⁴⁾ und SCHROETER⁵⁾ ihre Ansteckungsfähigkeit. Die Lebensdauer des Bacterium Zopfii in trockenem Zustande ermittelte KURTH⁶⁾; er fand, dass der Tod der Stäbchen zwischen dem zweiten und fünften Tage, der Tod der Kokken zwischen dem 17. und 26. Tage nach der Austrocknung eintrat.

Von einer Anzahl anderer Spaltpilzarten ist bekannt, dass sie in ihrer gewöhnlichen vegetativen Form das Austrocknen nicht zu überstehen vermögen, dass sie aber, insbesondere gerade bei langsamer Verdunstung der

1) Untersuchungen über Bakterien. In: Beiträge zur Biologie der Pflanzen, herausgeg. von COHN. Bd. I. Heft 2. 1875, p. 180.

2) Über Spirillen. In: VIRCHOW'S Archiv für pathologische Anatomie. 97. Bd. 4. Heft. 1884, p. 90.

3) Nach dem Referat über: Die Konferenz zur Erörterung der Cholerafrage. In: Botanisches Zentralblatt 1884. XIX. Bd. p. 364.

4) Untersuchungen über das Kontagium der Kuhpocke. In: Botanischer Jahresbericht 1876, p. 274.

5) Prüfung einiger Desinfektionsmittel durch Beobachtung ihrer Einwirkung auf niedere Organismen. In: COHN, Beiträge zur Biologie der Pflanzen. I. Bd. Heft 3. 1875, p. 33.

6) Bacterium Zopfii, Botanische Zeitung 1883, p. 409 u. 410.

umgebenden Feuchtigkeit, Sporen bilden und als solche dann gegen äußere Einflüsse sich eminent widerstandsfähig zeigen.

Sehr evident tritt dieses Verhalten bei *Bacillus Anthracis*, dem Träger der Milzbrandkrankheit, hervor. Die Milzbrandbakterien bilden ihre Sporen nur, wenn die infizierten Massen länger stehen bleiben oder langsam getrocknet werden. Bei rascher Austrocknung frischer kleinerer Mengen unterbleibt die Sporenbildung. Werden nun mit solchen schnell getrockneten Bakterien nach einiger Zeit Impfungen ausgeführt, so bleiben dieselben ohne Erfolg, während die bei der Eintrocknung größerer Mengen milzbrandhaltigen Fleisches oder Blutes auftretenden Sporen nach außerordentlich langer Zeit noch entwicklungsfähig bleiben. Kocn¹⁾ nahm mit fast vier Jahre lang eingetrocknet gewesenem Schaftblut Impfungen vor, welche ausnahmslos tödtlichen Milzbrand hervorriefen.

Die so verschiedene Widerstandsfähigkeit der Spaltpilze, der Trockenheit gegenüber, kann uns eine wenigstens theilweise Erklärung der Thatsache liefern, dass trotz der eminent raschen Vermehrungsweise aller Arten manche Bakterien, z. B. Spirillen, für welche bislang keine Dauerzustände aufgefunden werden konnten, doch relativ selten anzutreffen sind, während die gewöhnlichen Fäulnisbakterien, welche, wie wir gesehen haben, auch in ihrer vegetativen Gestalt während der weitgehendsten Austrocknung ihre Lebensthätigkeit nur sistiren, um sie bei eintretenden günstigeren Bedingungen alsbald wieder aufzunehmen, bekanntlich in der uns umgebenden Luft und in allen ihnen geeignete Nahrung bietenden Substanzen niemals fehlen.

Aussehen der getrockneten Zellen.

Fassen wir nun die Veränderungen ins Auge, welche resistente Pflanzenzellen insbesondere bei dem scharfen Austrocknen im Exsikkator erfahren, so bemerken wir, wie im voraus zu vermuthen ist, dass die Zellen kollabirt, die Protoplasmakörper trübe, undurchsichtig, dichter und dunkler als im turgeszenten Zustande erscheinen. Am beachtenswerthesten ist aber die Anwesenheit von Luft in der Zelle.

Ich wählte zur Untersuchung Grimmiablättchen, welche, obwohl sie lange Zeit über Schwefelsäure aufbewahrt waren, sich doch völlig lebensfähig erhalten hatten. Gleich nach dem Herausnehmen aus dem Exsikkator brachte ich einige Blättchen auf den Objektträger in einen Tropfen Mandelöl und untersuchte die größeren basalen Zellen bei einer stärkeren Vergrößerung.

1) Die Aetiologie der Milzbrand-Krankheit, begründet auf die Entwicklungsgeschichte des *Bacillus Anthracis*. In: *CONN*, Beiträge zur Biologie der Pflanzen. II. Bd. Heft 2. 1877, p. 297 u. 303.

Die sonst geradflächigen Wände waren durch mehrfache Knickungen faltig geworden, das Chlorophyll in dem dichten Inhalt nahezu unkenntlich und an den Stellen, an welchen die Membran dem zusammenschrumpfenden Protoplasma nicht mehr hatte folgen können, sich also letzteres von der Haut abgehoben hatte, war Luft in die Zellen eingedrungen. Diese Luft wird als solche leicht erkannt, wenn man die ausgetrockneten Blätter mit anderen luftführenden Geweben in Öl vergleicht. Auch bei in absolutem Alkohol liegenden getrockneten Objekten ist ihre Anwesenheit leicht zu konstatiren.

Bringt man eins der scharf getrockneten Grimmiablätter auf dem Objektträger in einen Tropfen Wasser, legt sofort ein Deckglas auf und stellt schnell ein, so sieht man, wie die Membranen unter starker Quellung sich wieder gerade strecken, wie die Lufträume aber innerhalb jeder einzelnen Zelle in ihrer Form, die in der trocknen Zelle den Umständen entsprechend natürlich eine längliche, flache, abgeplattete war, sich rasch abrunden zu einer kleinen Kugelblase, die immer kleiner wird und sich in ganz kurzer Zeit in dem Wasser auflöst.

Das Protoplasma füllt nun den Innenraum des Zellgehäuses wieder völlig aus und die Zelle erhält auch ihre Turgeszenz sehr bald zurück. Der Protoplastkörper konnte schon wenige Minuten nach dem Eindringen des Wassers durch Salzlösungen zur Kontraktion gebracht werden. Bei anderen Objekten war dieses erst später möglich, da nicht bei allen Pflanzen der Wassergehalt der getrockneten Zellen die gewisse hierfür erforderliche Höhe so bald wieder erreicht, als es bei den Moosen geschieht.

Bei *Sirosiphon ocellatus* fanden sich die Lufträume meist an den Querwänden der Zellen, doch nicht ausschließlich; vielleicht waren auch luftgefüllte Spalten im Inneren des Protoplasma selber vorhanden.

Sind die Versuchsobjekte nicht lange und nicht scharf genug ausgetrocknet, so gelingt die Beobachtung der Luft im Wasser nicht bei Anwendung des angegebenen Verfahrens, weil die Quellung dann eine so rapide ist, dass die Luft in wenigen Sekunden verschwindet. Leicht kann man aber auch dann oft noch die angeführte Erscheinung wahrnehmen, wenn man ein Blättchen, auf dem Objektträger trocken mit einem Deckglas bedeckt, einstellt und dann vorsichtig einen Tropfen Wasser zufließen lässt.

Ursachen der Resistenz.

Auf welche Ursachen es zurückzuführen ist, dass manche Pflanzen durch die weitgehendste Wasserentziehung so gut wie gar nicht in ihrer Lebensfähigkeit beeinträchtigt werden, während andere sich sehr wenig resistent nach dieser Richtung hin erweisen, ist eine Frage, auf welche eine befriedigende Antwort zur Zeit noch nicht ertheilt werden kann. Diese ungleiche Resistenz muss vor allem von spezifischen Eigenschaften

des Protoplasmakörpers abhängen. Zwar findet sich bei den zum Trockenwerden bestimmten Organen, wie Sporen und Samen, eine Anhäufung von Reservestoffen, eine besonders starke Ausbildung der Membranen als Regel, doch dienen diese Einrichtungen in erster Linie anderen Zwecken, denn allgemein unumgänglich nothwendig für die Widerstandsfähigkeit des Protoplasmakörpers sind sie nicht, da viele Mooszellen mit wenig verdickten Membranen und ziemlich wässrigem Inhalt sehr weitgehende Wasserentziehung vertragen können. Sogar durch vierzehntägige Kultur in kohlenstofffreier Luft in einen Hungerzustand versetzte *Funaria*, die ich in eben solcher Luft trocknen und dann noch einige Wochen offen im Zimmer liegen ließ, hatte ihre Lebensfähigkeit bewahrt.

Nützlich wird das Vorhandensein von fettem Öl und anderen Reservestoffen allerdings für die damit versehenen Organe beim Austrocknen schon insofern sein, als sie ein zu starkes Collabiren der Zellen hindern.

FALKENBERG¹⁾ hält es für möglich, dass bei den Dauerzellen, z. B. bei den Chlorophyceen-Zygoten, ein wasserarmes Protoplasma nothwendig sein könne, um dieselben geschickt dazu zu machen, eine Austrocknung zu überstehen. Doch wird sich eine solche Annahme auch nicht verallgemeinern lassen, ebenfalls wegen der gleichen Widerstandsfähigkeit der wasserreichen Mooszellen.

Schnelle und langsame Wasserentziehung.

Die größere oder geringere Schnelligkeit der Wasserentziehung wird natürlich in allen den Fällen von höchster Bedeutung, in denen die gewöhnlichen vegetativen Zellen durch Austrocknung vernichtet werden, während Umwandlungen, Dauerzustände, die aus ersteren bei langsamer Eintrocknung hervorgehen, sich widerstandsfähig erweisen. Wird also die Wasserverdunstung in einer Weise beschleunigt, dass die leicht zu Grunde gehenden vegetativen Zellen nicht Zeit genug finden, in die resistenteren Dauerzustände überzugehen, so werden die Individuen der betreffenden Pflanzenspezies, wenn die Austrocknung ihrem Höhepunkt sich nähert, dem Tode verfallen sein. Dieser Fall kann, wie wir schon an früheren Orten gesehen haben, beispielsweise eintreten bei dem Protonema der Moose, bei den Schwärmern des *Chlamydococcus*, oder bei den Bacillen des Milzbrandes etc.

Befindet sich ein pflanzlicher Organismus aber einmal in einem Zustande, in welchem er eine Austrocknung zu ertragen befähigt ist, so scheint es von keinem wesentlichen Einfluss mehr zu sein, ob die Wasserentziehung nun schnell oder langsam geschieht, wenn ich aus den Re-

¹⁾ Die Algen im weitesten Sinne. In: SCHENK, Handbuch der Botanik. II. Bd. 1882, p. 239.

sultaten der wenigen vorgenommenen Untersuchungen einen Schluss ziehen darf.

Oscillaria tenuis ist eine Spezies, der Lufttrockenheit nicht schadet, welche aber beim Trocknen über Schwefelsäure abstirbt. Ich nahm eine Portion Fäden, die im Wasser gewachsen waren, trocknete sie zwischen Fließpapier ab und hing sie frei auf, wodurch sie in kürzester Zeit staubtrocken wurden, da in dem betreffenden Arbeitsraum die Luft einen geringen Wasserdampfgehalt aufzuweisen hatte. Mehrere Wochen bewahrte ich die *Oscillaria*fäden noch in diesem Zustande auf, doch bei dem darauf folgenden Befeuchten war das Verhalten derselben nicht in bemerkbarer Weise abweichend von dem langsam getrockneten Lager derselben Spezies.

Um eine intensivere Austrocknung schnell zu erreichen, benutzte ich einen Apparat, der auf folgende Weise zusammengesetzt war: Die Pflanzen befanden sich in einem etwa drei Centimeter weiten Glasrohr, dessen Öffnungen mit zwei durchbohrten Gummikorken, durch welche die Enden von zwei Bleiröhren einmündeten, geschlossen waren. Das eine längere Bleirohr war spiral gewunden und durch einen kurzen Gummischlauch mit den Chlorecalcium- und Schwefelsäure-Röhren, welche zum Trocknen der durchzuleitenden Luft dienten, vereinigt, während das andere Bleirohr mit einer Saugpumpe in Verbindung gebracht war. Das Glasrohr und die Bleirohrspirale befanden sich in einem Wärmekasten, in dessen oberer Wandung ein Tubus angebracht war, durch welchen die Bleiröhren und ein Thermometer eingeführt wurden. Ein auf dem Gummischlauch sitzender Schraubenquetschhahn gestattete bei Anwendung der Saugpumpe eine derartige Regulation in der Schnelligkeit der Luftdurchleitung, dass etwa sekundenweis ein bis zwei Luftblasen durch die Schwefelsäure strichen und in der Glasröhre noch eine beträchtliche Luftverdünnung statt fand. Die Temperatur im Wärmekasten wurde dabei auf 35 bis 40° gehalten. Das Trocknen der Luft geschah mittelst Durchleiten derselben durch eine Chlorecalciumröhre und zwei mit Bimssteinstücken, die mit konzentrierter Schwefelsäure getränkt waren, angefüllte Trockenröhren. Die Chlorecalciumröhre, welche die Luft zuerst zu passiren hatte, wurde, sobald ihr Inhalt sich feucht zeigte, durch eine frische ersetzt. Zwischen dieser und der ersten Schwefelsäureröhre war ein Baumwollenbausch eingeschoben, der etwa mitgerissenen Chlorecalciumstaub von der Schwefelsäure abzuhalten hatte.

In die Glasröhre brachte ich nun Stämmchen einer *Grimmia pulvinata*, welche längere Zeit unter einer Glasglocke sehr feucht kultivirt war. Beim Überleiten des warmen und trocknen Luftstroms wurden sie sofort welk und in kurzer Zeit zu Staub zerreiblich. Nachdem das Luftüberleiten noch achtzehn Stunden fortgesetzt war, wurde das Moos herausgenommen und ein Theil desselben sofort befeuchtet und ein zweiter in einen Exsikkator über Schwefelsäure gestellt. Ersterer erwies sich nach kurzer Zeit als völ-

lig lebend; letzterer wurde erst nach fünfzehn Wochen wieder befeuchtet; aber auch dann noch blieben alle Blättchen erhalten und wurden neue Sprosse produziert.

Blieben diese Versuchsobjekte bei dem erreichbar schnellsten Austrocknen lebend, so wollte es andererseits mir nicht gelingen, auch bei der langsamst einwirkenden Wasserentziehung die Diatomeen und die Dauerzustände der *Euglena viridis* für eine andauernde und völlige Lufttrockenheit geschickt zu machen, obwohl diese Organismen ja offenbar nicht weit mehr von der Erreichung dieser Fähigkeit entfernt zu sein scheinen.

Schnelle und langsame Wasserzufuhr zu getrockneten Pflanzen oder Pflanzentheilen.

Ein Unterschied der Wirkung zwischen schneller oder langsamer Zufuhr von Wasser zu ausgetrockneten Pflanzen oder Pflanzentheilen wird in den meisten Fällen nicht bemerklich. Ich habe bei fast allen Versuchen, die ich im Laufe dieser Arbeit gemacht habe, die ausgetrockneten Objekte sowohl direkt in Wasser gelegt, als auch in anderen Proben ihnen die Feuchtigkeit allmählich zugeführt, indem ich dieselben zuerst einige Stunden im dampfgesättigten Raum liegen ließ und sie dann von unten auf vorsichtig bewässerte. Doch waren die Pflanzen einmal lebend geblieben, so nahmen sie ihre Lebensfunktionen auch bei direkter Befeuchtung ebenso wohl wieder auf, als sie es bei allmählicher thaten.

Dieses Verhalten gab sich selbst bei solchen Pflanzen kund, welche sich nahe der Grenze zwischen Leben und Absterben befanden, wie beispielsweise lange lufttrocken gehaltenes *Mnium hornum*, dessen Blattzellen bald nach dem Wiederbefeuchten zwar lebend waren, sich aber doch nicht als dauernd lebensfähig erwiesen. Es gelang auch bei vorsichtiger Wasserzufuhr nicht, sie funktionsfähig zu erhalten, während die lebenskräftig gebliebenen Zellen der Stämmchen neue Sprosse entwickelten, auch wenn die Befeuchtung durch direktes Eintauchen in Wasser bewirkt wurde. Bei Exemplaren, die sieben Wochen über Schwefelsäure getrocknet waren, fanden sich noch lebende Zellen in einiger Zahl vor, aber zu einer Entwicklung von *Protonema* oder von neuen Sprossen konnten sie bei Anwendung von beiderlei Befeuchtungsweisen nicht veranlasst werden.

Der Umstand, dass, wenn ausgetrocknete Pflanzen durch Wiederbefeuchten ins Leben zurückgerufen werden können, dieses dann auch durch direktes Benetzen geschieht, scheint den Verhältnissen, wie sie in der Natur bestehen, zu entsprechen, da ja der Regen ebenfalls eine mehr oder minder plötzliche Wasserzufuhr den ausgetrockneten Organismen bietet.

In einzelnen Fällen mag aber die Schnelligkeit der Wasserzufuhr nicht ohne Einfluss sein. SAUSSURE giebt bei seinen schon früher von mir erwähnten Versuchen mit getrockneten Weizenkeimlingen, deren Knospen

eben frei geworden und etwa einen Centimeter lang waren, an, dass eine vorsichtige, die Keimpflanzen nur von unten treffende Wasserzufuhr bei einem Aufenthalt in dampfgesättigter Atmosphäre nothwendig war, damit dieselben eine neue Wachstumsthätigkeit aufnehmen konnten; zwischen nassen Schwämmen unterlagen sie der platzgreifenden Fäulniss. Nicht unmöglich aber ist es, dass hier der bei Anwendung nasser Schwämme mangelhafte Luftzutritt schädigender wirkte als das raschere Durchdringen des Wassers.

Just¹⁾ ließ Gerste- und Haferkörner durch Aufbewahren im Exsikkator und durch dreitägiges Erhitzen mit Chlorcalcium auf 100° scharf austrocknen und befeuchtete eine Anzahl der Samen sofort nach dem Abkühlen, eine andere Portion aber erst, nachdem sie zwei Tage frei an der Luft gelegen hatte. Bei der darauf folgenden Keimung war kein bemerklicher Unterschied zwischen beiden Versuchsreihen in der Anzahl der keimfähigen Samen wie in der Keimdauer zu konstatiren.

Weitere Versuche²⁾, bei welchen er auf folgende Weise verfuhr, lieferten ein anderes Resultat: Um ein möglichst schnelles Eindringen des Wassers in die Samen zu erreichen, wurden die Samen angebohrt. Hierdurch wurde, wie die Kontrolluntersuchung ergab, die Keimfähigkeit nur um 45—20% vermindert. Nachdem die Samen dann sorgfältig bei 30—40° über Schwefelsäure getrocknet waren, wurde ein Theil derselben nun langsam befeuchtet, während ein anderer mit Hülfe einer Saugpumpe schnell mit Wasser imprägnirt wurde. Durch letztere Operation wurde die Keimfähigkeit der Samen sehr beeinträchtigt; nur noch 10—15% derselben hatten ihre Entwicklungskraft behalten.

Nutzen der Resistenz.

Bei den meisten Pflanzen, welche eine Austrocknung, ohne Schaden zu erleiden, überstehen, lässt sich leicht erkennen, dass die Ausbildung dieser Fähigkeit eine Anpassungserscheinung ist, welche in deutlicher Beziehung steht zu den Standorten, an denen diese Pflanzen in der Natur sich finden. So kann es kommen, dass bei systematisch sehr nahe stehenden Gattungen eine Verschiedenheit nach dieser Seite gefunden wird, wenn die eine derselben in der Natur auf feuchte, die andere aber auf trockene Standorte angewiesen ist.

Dass es auch hier an Übergangsgliedern nicht fehlt, habe ich zu zeigen wiederholt Gelegenheit gehabt.

1) Über die Einwirkung höherer Temperaturen auf die Erhaltung der Keimfähigkeit der Samen. II. In: *Cons*, Beiträge zur Biologie der Pflanzen. II. Bd. 1877, p. 338.

2) Just, Einfluss schneller Wasserzufuhr auf die Keimfähigkeit der Samen. In: *Botanischer Jahresbericht* 1880, p. 659.

Selbst innerhalb einer und derselben Gattung lassen sich die verschiedensten Grade der Widerstandsfähigkeit beobachten, wie das Verhalten der *Oscillaria*-arten lehrt.

Der Nutzen einer hohen Resistenz gegen Trockenheit beruht aber nicht allein darauf, dass die betreffenden Pflanzenspezies an Standorten sich erhalten können, die wegen häufig eintretenden Mangels an Feuchtigkeit für andere Organismen unbewohnbar werden; ein wesentlicher Vortheil für die bei der Austrocknung lebend bleibenden Zellen ruht vielmehr auch in dem Faktum, dass sie in diesem trocknen Zustande gegen anderweitige äußere Einflüsse, wie extreme Temperaturen etc., sich weit unempfindlicher zeigen als bei statthabender Turgescenz.

Für trockne Samen¹⁾ ist es lange bekannt, dass sie von hoher wie von niedriger Temperatur um so weniger beeinflusst werden, je vollkommener sie ausgetrocknet sind.

Auch für eine Reihe angekeimter und wiedergetrockneter Samen giebt SAUSSURE²⁾ an, dass sie durch eine zweistündige Erwärmung auf 60 bis 70°, Temperaturen, welche das Ultramaximum für turgescente Keimlinge weit überschreiten, wenig geschädigt wurden.

Eine *Grimmia pulvinata*, welche längere Zeit über Schwefelsäure getrocknet war, konnte ich in einem Reagirzylinder mit frischgeglühtem Chlorcalcium eine Stunde lang auf 95 bis 100° erhitzen, ohne dadurch ihre Lebensfähigkeit zu zerstören.

Verträgt nun eine Pflanze oder ein Pflanzentheil einmal das Austrocknen, so kann die Trockenheit meist auch eine recht langdauernde sein. Es wird also dadurch eine beträchtliche Verlängerung des Lebens der Einzelindividuen erreicht, eine Erscheinung, welche sich besonders auffallend bei Bakterien und anderen Organismen, deren Lebensdauer im gewöhnlichen Verlauf der Dinge eine nur sehr kurze ist, zu erkennen giebt.

Bei allen den Organismen, welche ich bis zu ihrem Absterben beobachten konnte, trat der Tod beim Austrocknen im Exsikkator früher ein als bei einer gleichmäßigen Lufttrockenheit.

Eine absolute Trockenheit wurde aber auch bei dem langdauerndsten Aufenthalt im Exsikkator über Schwefelsäure nicht erreicht, wenn das Versuchsobjekt am Leben blieb; eine solche trat nur unter gleichzeitigem Absterben des Organismus ein. Eine bestimmte Grenzlinie, bis zu welcher die Wasserentziehung getrieben werden darf, lässt sich nicht mit Genauigkeit ziehen, da bei mehrzelligen Pflanzen, mit denen man exakte Wägungen vornehmen kann, nicht sämtliche Zellen auf einmal, sondern zuerst

1) Die Litteratur darüber ist zitiert in: PFEFFER, Pflanzenphysiologie. II. Bd. 1881. p. 434 u. 439.

2) De l'influence du dessèchement sur la germination de plusieurs graines alimentaires. In: Annales des sciences naturelles. Bd. X. 1827. p. 79 u. 80.

einzelne dem Tode anheimfallen, während andere noch erhalten bleiben, wie das ja bei den Moosen öfters beobachtet werden konnte.

Doch zeigen die in ihren Resultaten untereinander wenig variirenden Wasserbestimmungen, welche ich mit verschieden lange getrockneter *Sticta pulmonaria* ausführte, dass ein gewisser Gleichgewichtszustand in der Feuchtigkeitsmenge beim Trocknen über Schwefelsäure eintreten kann und dass der Wassergehalt, welcher das Leben bedingt, bei der *Sticta* wenigstens noch ein ziemlich hoher, circa 5%, zu sein scheint.

Förderlich, ja selbst nothwendige Bedingung für die Weiterentwicklung ist eine vorübergehende Austrocknung bei einigen Samen, Sporen und anderen Ruhezuständen. Von vielen Samen ist es bekannt, dass sie gleich nach der Reife noch nicht keimfähig sind. Wenn auch hier die unerlässliche Ruhezeit in der Mehrzahl der Fälle wohl nicht allein durch das dabei eintretende Austrocknen die spätere Keimung ermöglicht, so scheint doch wenigstens bei einer Samenart der Keimung eine Austrocknung unabweisbar vorhergehen zu müssen. Es ist dieses bei den Samen der *Eichhornia crassipes* der Fall. FR. MÜLLER¹⁾ berichtet darüber folgendes: Nachdem er durch die Beobachtung, dass frische, in Wasser ausgesäte Samen dieser Liliacee nach dreiviertel Jahren noch unverändert geblieben waren, während Proben derselben Ernte, die er nach Deutschland sandte, sich nach ihrer Ankunft als keimfähig erwiesen, aufmerksam geworden war, machte er einige Versuche zur Aufhellung dieser Thatsache. Er brachte eine Anzahl frischer Samen sofort in Wasser, eine andere Portion aber erst einen Monat später, nachdem sie während dieser Zeit an der Luft getrocknet war. Nach Ablauf eines weiteren Monats waren von letzteren Samen schon viele gekeimt, erstere aber entbehrten noch aller Zeichen der Weiterentwicklung. Diese wurden nun aus dem Wasser genommen und zwei Wochen trocken aufbewahrt, um dann wieder ausgesät zu werden. Jetzt erst trat die Keimung ein.

Manche ölhaltende Samen, z. B. die der Cucurbitaceen, sollen nach ALEX. BRAUN²⁾ nach mehrjährigem Trockenliegen leichter und sicherer keimen, weil durch Einwirkung der Luft eine chemische Umwandlung des fetten Öls stattfindet, die durch das Austrocknen befördert würde.

Andere Beobachtungen desselben Autors, welche die Nothwendigkeit der Austrocknung für die Weiterentwicklung der Ruhezustände von *Chlamydomonas*, *Chlamydococcus*, sowie der bei längerer Kultur in Wasserschüsseln entstehenden ölhaltigen Formen des *Penium curtum* darlegen, habe ich schon früher erwähnt. Bei *Chlamydococcus* und *Stephanosphaera*

1) Einige Eigenthümlichkeiten der *Eichhornia crassipes*. In: Kosmos, VII. Jahrg., XIII. Bd. 1883, p. 299.

2) Betrachtungen über die Erscheinung der Verjüngung in der Natur. 1850, p. 215 Anmerkung.

genügt ein kurzes, vorübergehendes Trockenwerden; bei den Ruhezuständen von *Chlamydomonas* und *Chlorogonium* ist eine gewisse Dauer und Intensität der Trockenheit eine Bedingung, von deren Erfüllung eine Weiterentwicklung dieser Organismen durchaus abhängig ist. Ähnliche Fälle werden sich ohne Zweifel noch in großer Zahl bei Gebilden, deren Lebenslauf sich unter gleichen äußeren Verhältnissen abspielt, finden lassen.

An dieser Stelle sei es mir noch gestattet, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. W. PFEFFER, für seine Lehre und für die Leitung meiner Arbeit meinen innigsten Dank ausdrücken zu dürfen.

Register der Pflanzennamen.

- Andraea petrophila* 19.
Angelica Archangelica, Samen 8.
Aspergillus flavus 34.
Asperula odorata 6.
Aster chinensis, Keimlinge 11.
Avena sativa, Keimlinge 11. 12.
 Samen: 7. 48.
- Bacillus Anthracis* 43. 45.
Bacterium Termo 40.
 — *Zopfi* 42.
Barbula convoluta 19.
 — *fallax* 19.
 — *muralis* 18. 19.
 — *ruhralis* 18. 19.
 — *subulata* 19.
 — *tortosa* 19.
 — *tubulosa* 19.
 — *unguiculata* 18. 19.
 Birke, Sameu 9.
 Blutbacterium 42.
Botrydium granulatum 22.
Botrytis Bassiana 35.
Brassica oleracea, Keimlinge 11. 12.
Bryum caespiticium 18. 19.
 Buche, Samen 9.
 Buchweizen, vide *Polygonum fagopyrum*.
- Cacteen 5.1
Cactus Opuntia 5.
Caltha palustris, Samen 9.
Campanula rapunculosa, Keimlinge 11. Samen 7.
Cannabis sativa, Keimlinge 11.
 Characeen 21.
Chlamydococcus nivalis 26.
 — *pluvialis* 25. 45.
Chlamydomonas obtusa 23.
 — *Pulvisculus* 23.
Chlorochytrium Lemnae 23.
Chlorococcum 22.
Chlorogonium Euchlorum 24.
 Chlorophyceen 22.
 Cholera-bakterien 42.
 Cichorie, Samen 9.
Cinclidotus fontinaloides 15.
Cladonia 40.
Cladotrix dichotoma 41.
Claviceps purpurea 36.
Closterium Dianae 30.
 — *turgidum* 30.
- Collema* 40.
Coprinus stercorearius 36.
Cordiceps militaris 35.
Corsinia marchantioides 15.
Corydalis, Samen 9.
Cosmarium cucumis 30.
 — *pyramidatum* 30.
 Crassulaceen 3. 5.
 Cucurbitaceen, Samen 9. 50.
Cylindrospermum makrospermum 32.
Cystococcus humicola 23.
Cystopus candidus 35.
- Desmidiaceen 29.
 Diatomeen 27.
Dicranodontium longirostre 19. 20.
Dicranum elongatum 19.
 — *longifolium* 20.
Dictamnus Fraxinella, Samen 8.
Didymium Libertianum 37.
 — *praecox* 37.
 — *serpula* 37.
- Echeveria secunda* 5.
 Eiche, Samen 9.
Eichhornia crassipes, Samen 50.
Empusa muscae 35.
 — *radicans* 35.
Endococcus 22.
Endosphaera biennis 23.
 Equisetaceen, Sporen 13.
Eranthis hiemalis, Samen 9.
 Erbse, vide *Pisum*.
Eryum lens, Keimlinge 11. 12.
 Samen 7.
 Esche, Samen 9.
Euastrum ansatum 30.
 — *crassum* 30.
 — *verrucosum* 30.
Euglena viridis 24.
Evernia 40.
- Fäulnisbakterien, vide *Bacterium Termo*.
 Florideen 21.
Fontinalis antipyrretica 15.
 Fuchsia 7.
Funaria hygrometrica 16. 19. 45.
 — *Protonema* 21.
- Gerste, vide *Hordeum*.
Grimmia apocarpa 19.
- Grimmia commutata* 19.
 — *ovata* 19.
 — *pulvinata* 18. 19. 43. 46. 49.
Guttulina protea 37.
Gymnogamme leptophylla 14.
Gymnostomum rupestre 20.
- Hafer, vide *Avena*.
 Hainbuche, Samen 9.
Hedwigia ciliata 19.
 Hefe 37.
Hordeum vulgare, Keimlinge 11. 12. Keimlinge unreifer Samen 13. Samen 7. 48. Unreife Samen 10.
Hormidium parietinum 23.
Hyalotheca dissiliens 30.
Hydrodictyon 22.
 Hymenophyllaceen, Sporen 13.
Hymenostomum tortile 20.
Hypnum abietinum 18.
- Isoetes adspersa* 3.
 — *Duriaei* 3.
 — *Hystrix* 3.
 — *lacustris* 3.
 — *setacea* 3.
 — *velata* 3.
- Kaffeebaum, Samen 8.
 Kastanie, Samen 9.
 Kuhpockebakterien 42.
- Lactuca*, Keimlinge 11. Samen 7.
 Liebesapfel, Samen 9.
Linnanthemum nymphaeoides 7.
 Linse, vide *Eryum lens*.
 Lorbeer, Sameu 8.
Lunularia vulgaris 14.
Lycopodium inundatum, Sporen 14.
- Mais, vide *Zea*.
Marchantia polymorpha 14.
 Marsilia, Sporen 14.
 Melanophyceen 21.
Melosira varians 29.
Mercurialis annua 6.
Metzgeria furcata 14.
Micrococcus prodigiösus 42.
 Milzbrandbacillen 43. 45.
Mimosa pudica, Samen 9.
Mnium hornum 16. 47.

- Mohn, vide Papaver.
 Mucor Mucedo 34.
 Myrtaceen, Samen 8.
 Myxomyceten 36.

 Navicula viridula 28.
 Nostoc commune 31.
 Nitzschia 28. 29.

 Oidium monilioides 36.
 Opuntia corrugata 3.
 Orthotrichum anomalum 19.
 — liocarpum 19.
 — obtusifolium 18. Brutzellen
 20.
 — striatum 18.
 Oscillaria anthiaria 32. 33.
 — sancta 32.
 — subfusca 32.
 — tenerrima 32.
 — tenuis 32. 46.
 Osmundaceen, Sporen 13.
 Oxalis lancifolia, Samen 8.
 — rubella, Samen 8.

 Palmellaceen 22. 26.
 Palmella miniata 22.
 Papaver somniferum, Keimlinge
 11. Unreife Samen 10.
 Papilionaceen, Samen 9.
 Pappel, vide Populus.
 Parietaria arborea 7.
 Pastinaca oleracea, Keimlinge 11.
 Samen 7.
 Pedicularis, Samen 9.
 Peltigera canina 40.
 Penicillium glaucum 34.
 Penium curtum 30.
 Peronospora infestans 35.
 Peronosporeen 35.
 Peziza Duriaci 36.
 — Sclerotiorum 36.
 Phaseolus vulgaris, Keimlinge 11.

 Phycomyces nitens 34.
 Phyllobium dimorphum 23.
 Pinnularia viridis 28.
 Pisum sativum, Keimlinge 11.
 Samen 7.
 Pleurococcus miniatus 22. 26.
 — vulgaris 26.
 Pleurotaenium Trabecula 30.
 Polygonum fagopyrum, Keimlinge
 11. 12. Samen 7.
 Populus nigra, Samen 8.
 Porphyridium cruentum 26.
 Portulaca oleracea, Keimlinge 11.
 Samen 7.
 Protococcaceen 22.
 Puccinia graminis 36.

 Racomitrium canescens 19.
 Radula complanata 14.
 Raps, Samen 9.
 Reis, Keimlinge 13.
 Rhinanthus, Samen 9.
 Riccia fluitans 14.
 — glauca 14.
 — — Sporen 15.
 Roggen, vide Secale.
 Rubiaceen, Samen 8.

 Salix fragilis, Samen 8.
 — pentandra, Samen 8.
 Scenedesmus obtusus 23.
 Schimmelpilze 34.
 Schizophyceen 31.
 Secale cereale, Keimlinge 11. 12.
 Samen 7. 9.
 Sedum elegans 4.
 Sempervivum caespitosum 5.
 Sinapis nigra, Keimlinge 11. Sa-
 men 7.
 Sirostiphon ocellatus 32. 44.
 Sphagnum acutifolium 15.
 — cymbifolium 15.
 Spirillen 42. Spirillum undula
 42.

 Spörgel, Samen 9.
 Stephanosphaera pluvialis 26.
 Sticta pulmonaria 39. 50.
 Surirella ovata 28.

 Tachygonium 22.
 Tetmemorus granulatus 30.
 Tilletia caries 35.
 Trifolium repens, Keimlinge 11.
 Samen 7.
 Triticum durum, Keimlinge un-
 reifer Samen 13. Unreife Sa-
 men 10.
 — hybernum, Keimlinge 11. 12.
 47. Samen 7. 9.
 — Spelta, Keimlinge unreifer Sa-
 men 13. Unreife Samen 10.

 Ulme, Samen 8.
 Ulota crispula 19.
 Uredineen 36.
 Urocystis occulta 35.
 Ustilagineen 35.
 Ustilago carbo 35.
 — Crameri 35.
 — destruens 35.
 — Kolaczekii 35
 — Rabenhorstiana 35.
 — Tulasnei 35.

 Verrucaria 40.
 Vicia faba, Keimlinge 11.
 — sativa, Keimlinge 11. 12. Sa-
 men 7.

 Weide, Samen, vide Salix.
 Weizen, vide Triticum.
 Wicke, vide Vicia sativa.

 Zea Mais, Keimlinge 11. 12. Sa-
 men 7. Wurzel 7.
 Zygnuma leiospermum 31.
 — pectinatum 31.
 — stellinum 31.
 — Vaucheri 31.

Inhaltsübersicht.

	Seite
Einleitung	1
Phanerogamen und Gefäßkryptogamen	2
Samen	7
Sporen der Gefäßkryptogamen	13
Lebermoose	14
Laubmoose	15
Algen	21
Pilze, incl. Myxomyceten	34
Flechten	38
Spaltpilze	40
Aussehen der getrockneten Zellen	43
Ursachen der Resistenz	44
Schnelle und langsame Wasserentziehung	45
Schnelle und langsame Wasserzufuhr zu getrockneten Pflanzen oder Pflanzen- theilen	47
Nutzen der Resistenz.	48

II.

Über die Bedeutung der organischen Säuren für den Lebensprozess der Pflanzen (speziell der sog. Fettpflanzen).

Von

O. Warburg.

Von den einfacheren und chemisch gut bekannten Bestandtheilen des Pflanzenkörpers ist wohl keine Gruppe von den Physiologen länger vernachlässigt worden, als die der organischen Säuren: was um so merkwürdiger ist, als sie einerseits häufig durch ihre Menge die Aufmerksamkeit auf sich lenken, andererseits der quantitativen Bestimmung sehr zugänglich sind. — Es hat meist an einer präzisen Fragestellung gefehlt, und wo diese vorhanden war, bewegte man sich häufig in zu eng begrenzten Erscheinungsreihen, um daraus Schlüsse auf die Stellung der Säuren im allgemeinen Lebensprozess ziehen zu dürfen. — Erst in neuerer Zeit ward, durch interessante biologische Erscheinungen bei den Fettpflanzen angeregt, die Aufmerksamkeit intensiver auf die Säureverhältnisse gelenkt, ohne dass dieselben selbst bei diesen Pflanzen bisher genügend aufgeklärt wären. — Ein kurzer geschichtlicher Überblick ist insofern vielleicht nicht überflüssig, als dasjenige, was bisher aus der Litteratur zusammengestellt wurde, immer nur einzelne Seiten der Frage berührte; auch wird hierdurch zugleich die Fragestellung vorbereitet, von der aus eigene Untersuchungen in Angriff genommen wurden. Obendrein wird es vielleicht überhaupt nicht ohne Interesse sein, die öno- und pomologische Litteratur von einem rein physiologischen Gesichtspunkte aus einmal näher durchzusehen.

Geschichtliche Entwicklung der Fragen.

Hand in Hand mit der Entwicklung der chemischen Untersuchungsmethoden entwickelte sich auch die Kenntnis der organischen Säuren, so-

dass im Anfang dieses Jahrhunderts die gewöhnlicheren schon bekannt waren. Hatte man zuerst nur die auffälligeren Säureansammlungen in den Pflanzen beobachtet, so lenkte sich jetzt die Aufmerksamkeit der Chemiker auf die außerordentliche Verbreitung der Säuren; während das wirklich wohl ausnahmslose Vorkommen freier Säuren in den lebenden Zellen besonders erst 1848 durch GAUDICHAUD (Compt. rend. t. 27 p. 4 u. 33) in einer Diskussion mit PAYEN hervorgehoben, und später 1864 durch SACHS (Botan. Zeitg. 1864) näher untersucht wurde. — Erklärungsversuche dieser Säureanhäufungen und -Bildungen lagen dagegen den großen Physiologen am Ende des vorigen und Anfang dieses Jahrhunderts noch zu fern, nur SAUSSURE, wie in allem, so auch hierin seiner Zeit vorausseilend, wies schon 1824 (Ann. chim. phys. t. 19) in einer Arbeit über Assimilation und Athmung der Früchte flüchtig auf eine etwaige Beziehung zwischen Inspiration und Säurezunahme hin; dagegen musste die sich in jener Zeit entwickelnde Theorie der Lebenskraft, und namentlich auch die später alles beherrschende unklare Humustheorie natürlich jede einfache Fragestellung in Bezug auf Stoffwechsel und Stoffbildung ersticken, obgleich die eigenthümlichen, schon seit 1819 bekannten Erscheinungen bei den Fettpflanzen wohl die Aufmerksamkeit auf diese Fragen hätten hinlenken können.

So blieb die Frage bis in die 40er Jahre, wo sich dann die verschiedensten Ansichten geltend machten. — Nur als Kuriosum sei hier erwähnt, dass im Jahre 1844 A. SCHULTZ in einem Briefe an FLOURENS (Compt. rend. t. 19 p. 524, im Journ. pharm. chem. 1844 p. 299 abgedruckt) den im Lichte ausgeschiedenen Sauerstoff, anstatt von der Kohlensäure, von Gallus-, Milch-, Apfel-, Wein- und Citronensäure herleitete (ja auch Phosphorsäure, Schwefelsäure, Salzsäure [$\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ %], noch besser die Salze, würden zersetzt), welche natürlich völlig unhaltbare Annahme alsbald durch BOUSSINGAULT widerlegt wurde.

Ansichten der Chemiker.

LIEBIG dagegen fasste 1840 in seiner »Chemie in ihrer Anwendung auf Agrikultur und Physiologie« (1. Aufl. p. 62) die Säuren als Mittelstufe zwischen Kohlensäure und Kohlehydraten auf, welche Ansicht er dann in den späteren Auflagen (z. B. 8. Aufl. p. 54 u. 177, desgl. schon 5. Aufl.) in erweiterter Form klar präzisirte. — Als Beweis galt ihm einerseits die theoretische Schwierigkeit eines direkten Überganges von der Kohlensäure zu den Kohlehydraten, andererseits das Verschwinden der Säure in reifen Früchten und die Zunahme des Zuckers in denselben. — Dagegen sah auch er sich schon genöthigt (8. Aufl. p. 30), die nächtliche Ansäuerung der Fettpflanzen durch einen Oxydationsprozess zu erklären, den er (da er bekanntlich die Athmung als Lebensprozess bei den Pflanzen nicht anerkannte) für einen rein chemischen, auch bei todten Pflanzen in derselben

Form auftretenden Prozess hielt. — Am nächsten Morgen stellt sich der Reduktionsprozess am Lichte wieder ein, wodurch die Säuren dann nach LIEBIG zu Kohlehydraten reduziert werden. — Also Säurebildung einerseits durch Reduktion, andererseits durch Oxydation, Entsäuerung nur durch Reduktion zu Kohlehydraten, für beides keinerlei schlagende Beweise.

Noch entschiedener tritt für dieselbe Ansicht MULDER ein, der 1844 (Versuch einer allgemeinen physiologischen Chemie p. 854) schreibt: »Wenn also von irgend einer organischen Substanz etwas erwiesen ist, so ist es, dass die Kleesäure aus Kohlensäure unter Sauerstoffverlust gebildet wird«. Der so sichere Beweis liegt für ihn darin, dass in Körpern, in welchen Kupferoxydsalze zu Oxydulsalzen reduziert werden, in welchen überall Desoxydationserscheinungen gesehen werden, die Bildung der höchsten aller organischen Oxydationsprodukte ein Widerspruch wäre. Dagegen wendet er sich doch hier wie später (Chemie der Ackerkrume Bd. II p. 289) gegen die LIEBIG'sche Annahme der Zuckerproduktion aus Säuren, darauf aufmerksam machend, dass in der Runkelrübe und im Rohrzucker keine Säure vorausgeht, und auch nach BÉRARD's Untersuchung die Säure in reifenden Früchten nicht abnimmt.

Diese hauptsächlich auf Verkennung der intensiven Oxydationsvorgänge im Lebensprozess der Pflanze beruhende Ansicht hat sich bei Chemikern theilweise noch lange erhalten, indem z. B. ROCHLEDER in seiner »Phytochemie« sowohl wie in seiner »Chemie und Physiologie der Pflanzen« einen, wenn auch recht complizirten und verklausulirten Reduktionsprozess zur Herstellung der Säuren vertheidigt; ja sogar noch im Jahre 1876 bemühten sich BRUNNER und BRANDENBURG (Chem. Ber. IX p. 982), von der LIEBIG'schen Theorie geleitet, vergeblich, in unreifen Trauben Glyoxylsäure als Mittelstufe nachzuweisen.

Ein anderer Theil der Chemiker dagegen, namentlich nachdem BERTHELOT die Ameisensäure aus Kohlenoxyd und Wasser dargestellt hatte, suchte das Mittelglied zwischen Kohlensäure und Kohlehydraten im Kohlenoxyd, während später, in Anknüpfung an BUTLEROW's Darstellung zuckerartiger Körper durch Wirkung von Kali auf Formaldehyd, als auf ein weiteres Glied mehrfach auf Formaldehyd hingewiesen wurde, so z. B. von BAEYER in seiner speziell für Physiologen lehrreichen Studie über »die Wasserentziehung und ihre Bedeutung für das Pflanzenleben und die Gährung« (Chem. Ber. III p. 63). — Hierdurch traten also die Säuren in Bezug auf Kohlehydratbildung in den Hintergrund, d. h. nur die höheren Glieder der Reihen, da ERLNMEYER Spaltung der Kohlensäure in Wasserstoffsperoxyd (in Wasser und Sauerstoff zerfallend) und Ameisensäure nach Analogieen als ersten Prozess hinstellt (Chem. Ber. X. 1877. p. 634).

Ansichten der Botaniker.

Bei den Botanikern von Fach hat die Annahme der Säuren als intermediäres Reduktionsprodukt überhaupt kaum Beifall gefunden. — Aber nicht von physiologischen Grundsätzen und Thatsachen aus wurde sie bekämpft, sondern, namentlich von den Anatomen, wegen des mit der Theorie nicht übereinstimmenden Vorkommens vor allem der Oxalatkrystalle.

Zwei der Koryphäen der damaligen botanischen Wissenschaft, SCHLEIDEN und MOHL, wandten sich gegen die LIEBIG'sche Ansicht, »eine von seinen höchst genialen Kombinationen, denen aber leider noch gar keine Beobachtung in der Wirklichkeit die Hand bietet« (SCHLEIDEN, Grundzüge p. 444). — SCHLEIDEN fasste die Säuren als Nebenprodukte des Stoffwechsels auf, mit der Aufgabe, schädliche Stoffe zu entfernen (l. c. Bd. I p. 475); nach ihm »scheinen die Pflanzen die eigenthümliche Fähigkeit zu haben, falls anorganische Säuren fehlen, organische zur Sättigung der Basen zu bilden« (p. 444). Er unterschied aber zwei verschiedene Bildungsweisen (Handb. der med. pharm. Bot. 1852. p. 8); einerseits bilden sie sich nach ihm durch einen neben dem Reduktionsprozess bei Licht herlaufenden, und durch den dabei entstandenen Sauerstoff bedingten Oxydationsprozess; andererseits durch »einen allmählichen Verwesungsprozess«, einen »Oxydationsprozess, der mit dem Leben der Pflanze gar nichts zu thun hat, oder doch mit demselben nur in sehr mittelbarer Verbindung steht« (offenbar LIEBIG's nächtlicher Oxydationsprozess).

MOHL erörterte gleichfalls in seinen »Grundzügen der Anat. u. Physiol. der veget. Zelle« (1854. p. 94) die LIEBIG'sche Theorie; er fand sie einerseits zu allgemein wegen der nächtlichen Ansäuerung der Fettpflanzen (nach obigem ein unbegründeter Tadel), andererseits hatte er teleologische und theoretische Bedenken in Bezug auf die die Säuren sättigenden Basen, z. B. könnten doch die unlöslichen Salzablagerungen in den Zellen für die Ernährung nicht von Nutzen sein, es ginge also viel Säure verloren; die Säuren schienen vielmehr »weit eher die Bedeutung zu haben, Verbindungen, welche für die Pflanzen überflüssig sind, aus dem Kreise der belebten Säfte zu entfernen.« — Auch UNGER, durch das Vorkommen der Krystalle an Orten starken Stoffwechsels geleitet, wendet sich gegen die MULDER-LIEBIG'sche Ansicht (Grundlin. d. Anat. u. Phys. der Pflanzen 1866). Die Säuren seien kein Übergangsglied, »indem sie sich vielmehr bei dem Übergange der Kohlensäure in Kohlehydrate abscheiden.« — Ähnlich lautete auch die Widerlegung SANIO's (Monatsb. d. kön. Akad. d. Wiss. Berl. 1857), der sich weigert, z. B. die Oxalsäure als allgemeines Assimilationsglied anzusehen, da man dann annehmen müsste, dass nur in den Krystallzellen Kalk wäre, oder nur dort die Assimilation thätig sei; »besser könne man sie als ein bei der Assimilation gebildetes Exkret ansehen«. Ferner, welchen Werth sollte die Desoxydation der Kohlensäure haben, wenn sie sich nur darauf

beschränken sollte, jene Zellen mit oxalsaurem Kalk zu füllen«. — HOLZNER (Flora 1867, Üb. d. phys. Bedeut. d. oxals. Kalkes) hebt hervor, dass die Krystalle selten in Chlorophyllzellen auftreten, dass auch chlorophylllose Theile Oxalsäure bilden; dass die Krystalle sich häufig in unterirdischen Organen finden, und die meisten in chlorophyllfreien Bastzellen anzutreffen sind.

Es können alle diese anatomischen Überlegungen die LIEBIG'sche Theorie höchstens in Bezug auf die Oxalsäure einigermaßen erschüttern, während die Exkretnatur der Säuren höchstens für die unlöslichen Salze erwiesen wurde.

Teleologische Ansichten.

Die teleologische Betrachtungsweise in Bezug auf die Säuren trat dagegen immer mehr in den Vordergrund und drängte die Forschung nach dem kausalen Zusammenhang der Bildungsweise und der Verarbeitung für eine Zeit lang zurück. — Während die Nützlichkeit der Säuren nach der Reduktionstheorie von vornherein klar war, suchten, wie wir sahen, MOHL und SCHLEIDEN dieselbe in der Neutralisation schädlicher Stoffe, dagegen hielten SCHUMACHER (Ernährung d. Pflanze, Berlin 1864. p. 331) und UNGER (Grundlinien p. 140) umgekehrt die Säure — hier speziell die Oxalsäure — für den schädlichen Stoff, der durch Kalk neutralisirt werden muss. HOLZNER hingegen (a. a. O.) und sich ihm anschließend C. KRAUS, suchten nach dem Vorgange EMMERLING's (Landw. Versuchsstat. 1874. p. 161, Chem. Ber. V 1877. p. 780) die Bedeutung wieder in der Neutralisation der Basen, wodurch die zur Eiweißbildung so wichtige Salpeter- und Schwefelsäure in Freiheit gesetzt werden kann, welcher Annahme sich auch DE VRIES (Bot. Zeit. 1879. p. 847 ff., Landw. Jahrb. X. 1881) anschloss. Später erörterte letzterer auch noch die Bedeutung der Säuren in Bezug auf den Turgor ausführlich (Bot. Zeit. 1883. p. 849), und suchte 1884 diese Wirkung auch für die Säure in den Fettpflanzen in den Vordergrund zu stellen, während PFEFFER andererseits in Bezug auf die Turgorwirkung den Säuren nur eine geringe Bedeutung zuertheilen will (Pflanzenphys. p. 53) und G. KRAUS überhaupt den Einfluss aus beachtenswerthen Gründen in Zweifel zieht (Die Acidit. des Zellsaft., Abh. der naturf. Gesellsch. in Halle 1884). — Spezielle Funktionen der Säuren waren unterdessen auch aufgedeckt durch den indirekten Nachweis derselben in den Wurzelausscheidungen, in den Sekreten fleischfressender Pflanzen, wie auch durch die bessere Kenntniss der pflanzlichen Fermente und der Beförderung ihrer Wirksamkeit durch Säuren (DETMER, Zeitschr. f. phys. Chem. 1882. Bd. 7); die Beförderung der Stärkeumwandlung ist z. B. nach DRAGENDORFF (Chem. Beitr. z. Pomologie, Bot. Jahrb. 1878) der Zweck der Säurezunahme in unreifen Äpfeln. Auch die Löslichkeit mancher Proteinstoffe (Conglutin z. B.) in

sauren Lösungen (DETMER, Vergl. Phys. des Keimungspr. 1880 p. 380) ist vielleicht von Wichtigkeit; nach FRÉMY spielen die Säuren eine Rolle bei der Pektoseumwandlung in Pektin (Ann. chim. phys. 1848. 3 s. 24 p. 57). Und so ließen sich gewiss noch verschiedene Zweckmäßigkeiten für die Anwesenheit freier Säuren auffinden, die aber kaum wesentlich zum besseren Verständnis der Lebensprozesse beitragen dürften.

Hypothese von C. Kraus.

Das Interesse für die Erkenntnis der Stellung der Säuren im Stoffwechsel erwachte erst wieder in den siebziger Jahren. Als Beweis dafür kann schon eine neue Säurehypothese angesehen werden, welche von C. KRAUS (Studien üb. d. Herbstfärb. der Blätter u. üb. die Bildungsweise der Säuren. 1873. Neues Repertor. für Pharmac. t. 22. p. 273), freilich lediglich auf theoretische Gründe gestützt und deshalb von höchstens hypothetischem Werthe, aufgestellt wurde; nach ihm sollen die Säuren durch Spaltung oder besser durch eine Art intramolekularer Oxydation entstehen, und zwar durch den Sauerstoff, der durch die Reduktion des Traubenzuckers zu Oxyphensäure frei würde. Es ist diese Annahme nur eine Ausspinnung einer von vielen Möglichkeiten, und nicht einmal eine sehr glückliche, wegen des häufig sehr beschränkten Vorkommens oder Fehlens der Gerbstoffe bei intensivem Säurewechsel¹⁾. — Doch kam jetzt auch durch spezielle Beobachtungen von zwei Seiten neues Leben in die Frage. Einerseits wurden die Säureverhältnisse der Fettpflanzen durch MAYER, KRAUS, DE VRIES besser studirt, andererseits fanden in öno- und pomologischen Zeitschriften die Reifeverhältnisse der Früchte gründlichere Bearbeitung.

Ansichten der Pomologen und Önologen.

Um mit den Arbeiten letzterer anzufangen, so gehen sie meist von praktischen Gesichtspunkten aus, und suchen vor allem die Beziehung zwischen Säure und Zucker aufzudecken; trotzdem konnten ihre Untersuchungen nicht ohne Einfluss auf die allgemeinen Fragen der Stellung der Säure im Lebensprozesse bleiben. — In Bezug auf Kernobst lag die Sache verhältnismäßig einfach. Während einzelne ältere Forscher, BÉRARD z. B. (Ann. chim. phys. XVI. p. 452. 225) annahmen, dass Zucker oder Pektinstoff bei der Reife die Säure nur maskirten, mussten die ersten zeitlich vergleichenden Untersuchungen über die Reife die Abnahme der freien Säure konstatiren (FRÉMY, Compt. rend. t. 49. 1844. p. 789); auch fand man bald, dass

1) Übrigens wurde schon 1860 durch BUIGNET und BERTHELOT (Compt. rend. t. 51 p. 4095) umgekehrt die Möglichkeit des Entstehens des Zuckers in den Früchten aus Gerbstoff durch Säuren erwogen, aber ohne dass sie zu einem Resultat kamen.

von einer Neutralisation der Säure, wie sie noch FRÉMY annahm, hier nicht die Rede sein konnte; denn auch bei der Nachreife (getrennt von der Pflanze) zeigte sich Säureabnahme, was BEYER für die Stachelbeeren nachwies (Versuchsstation. 1864. VII. p. 353) und später vielfach an den verschiedensten Früchten bestätigt wurde. Da auch bei der Nachreife eine, freilich nur relative, d. h. nicht in Bezug auf das Anfangsgewicht berechnete, Zuckerzunahme nachgewiesen wurde (z. B. PFEIFFER 1875, Chem. Unters. üb. d. Reif. des Kernobstes, Ann. d. Ömol. V. p. 271), so lag die Annahme einer Kausalität nahe, wie sie ja auch von LIEBIG angenommen wurde, obgleich nach FRÉMY (Compt. rend. t. 19. 1844. p. 790) damals keine Thatsachen dafür sprachen. MERCADANTE stellte 1875 in Bezug auf die Pflaume sogar eine Formel auf für die Zersetzung der Apfelsäure durch gleich viel Moleküle Sauerstoff, wobei sich zwei Kohlensäuremoleküle und ein Wassermolekül abspalten sollten, während das übrige zu Zucker polymerisirt würde (Gazetta chimica VI. p. 125. Sulla formazione dello zuckhero nelle frutta, s. auch Chem. Ber. 1875); angeblich soll diese Formel mit Säureabnahme, Zuckerzunahme und Kohlensäureabscheidung übereinstimmen, doch genügt der Hinweis darauf, dass die gesammte, durch die Athmung der Früchte und des mit eingeschlossenen Zweiges entstandene Kohlensäure mit für die Säurezersetzung verrechnet wird, und ferner eventuelle Zuckerzufuhr aus Zweig und Blättern vernachlässigt wird, um die völlige Kritik- und Werthlosigkeit der Arbeit zu erweisen; dass überhaupt nur ein Versuch stimmt, die anderen nicht, dürfte demnach kaum Wunder nehmen. — Ähnliche Ansichten der Entstehung von Zucker aus Säuren wurden auch später häufig geäußert, so z. B. von TSCHLAPOWITZ, der den Zucker der Äpfel sich auf Kosten von Pektin, Säure, und vielleicht Cellulose vermehren lässt¹⁾ (Unters. üb. d. Lagerreife des Kernobstes, Monatsber. d. Ver. z. Beförd. d. Gartenbaues 1879, vergl. Biederm. Centralbl. 1879. p. 472). — DRAGENDORFF hingegen nimmt eine spätere theilweise Verbrennung der Säure an, aber auch ohne Beweise (Chem. Beitr. zur Pomol., Arch. f. d. Naturk. Liv-, Esth.- u. Kurl. Bd. VIII. Vergl. Jahresber. 1878. p. 597). Dagegen verbreiteten seine und PFEIFFER's Untersuchung sowohl wie namentlich die von MACH, KURMANN und PORTELE (Mach u. Kurmann, Reifestud. bei Traub. u. Frücht. Anm. d. Ömol. 1877. VI; Mach u. Portele, Reifestud. bei Traub. u. Frücht. Weinlaube 1878. 1879. Bd. 9. p. 123; Mach u. Portele, Reifestud. am Kernobst. Biederm. Centralbl. VII. 1878. p. 430) Klarheit über die thatsächlichen Verhältnisse der Säure- und Zuckermengen in den verschiedenen Stadien des Kernobstes. Es geht aus denselben soviel klar hervor, dass bei gewöhnlicher Reife die Säuremenge nicht entfernt den gebildeten Zucker hervorzubringen vermag; und ferner, dass bei

1) Im Grunde wohl nur die alte COUVERCHEL'sche Ansicht, der Zucker entstehen lässt durch Wirkung der Säure auf Gummi, Dextrin, Stärke (Ann. chim. phys. t. 46. p. 447).

der Nachreife trotz starker Säureabnahme der Zuckergehalt absolut genommen (d. h. auf das Anfangsgewicht berechnet), zuerst höchstens konstant bleibt, später aber merklich sinkt; nur verändert sich das Verhältnis von Dextrose und Laevulose zu Gunsten letzterer.

In Bezug auf die Weintrauben lag die Sache etwas anders. Während früher die Ansicht galt, dass die Weinsäure in Zucker überginge (vergl. NESSLER, *Der Wein*, 1860. p. 3), ging aus FAMINTZIN'S gründlichen »Untersuchungen über die Reife der Weintrauben« (Ber. üb. d. Verhandl. d. naturforsch. Gesellsch. in Freiburg i/Br. Bd. II. 1860; an günstigerer Stelle 1872 in den Ann. d. Ökol. abgedruckt) hervor, dass die gebundene Säure, sowie das Kali und der Zucker bis Ende der Reife zunimmt. 1866 konstatierte PASTEUR (*Études sur le vin*) bei verschiedenen Sorten, dass Säureabnahme und Zuckerdzunahme nicht immer parallel gehen, während NEUBAUER von 1869 (Versuchsstation. XI) bis 1875 (Chem. Untersuch. üb. d. Reife d. Traub., Ann. d. Ökol. p. 358) wiederholt bestimmt hervorhob, dass die Säure durch Neutralisation verschwinde (ebenso auch SESTINI und DEL TORRE 1874): der Zucker entstände weder aus Säure, noch durch Zuwanderung, sondern durch einen eigenthümlichen Lebensprozess der Trauben selbst. War das Verschwinden der Säure durch Neutralisation auch für die gewöhnliche Reife theilweise richtig, so konnte doch diese Ansicht seit 1877 in gleichem Umfange nicht mehr aufrecht erhalten werden in Folge der Untersuchungen über die Nachreife der Trauben von EGIDIO POLLACI (*Rivista di viticoltura*, s. Bied. Centralbl. 1878. p. 772), von einem ungenannten Verfasser (Biederm. Centralbl. 1879. p. 232) und vor allem nach den gründlichen Arbeiten von PORTELE und MACH, indem bei der Nachreife starke Säureabnahme bei ziemlich lange dauernder Zuckerkonstanz nachgewiesen wurde (PORTELE und MACH, Reifestud. bei Trauben und Früchten a. a. O.; PORTELE, Untersuchungen über das Reifen der Weintrauben, Biederm. Centralbl. 1879). Es ging aus allen diesen Arbeiten hervor, dass, falls man die Zufuhr anorganischer Basen abschneidet, sich doch die freie Säure vermindert, und zwar ohne an organische Basen gebunden zu werden. Dass Apfelsäure in unreifen Trauben auftritt und bald verschwindet, ebenso auch Gerbstoff (ja auch Oxalsäure nach FAMINTZIN), wurde seit FAMINTZIN wiederholt beobachtet (CERLETTI, 1875, SCHWARZ, Ann. chem. pharm. Bd. 83 u. 84. PORTELE).

Es handelte sich jetzt nur darum, welche Umwandlung erfahren die Säuren, soweit sie faktisch verschwinden, z. B. bei der Nachreife. Schon 1878 war von SAINT-PIERRE et MAGNIEN (*Recherches expériment. sur la maturat. du raisin. Conclusions. Compt. rend. t. 86. p. 491*) die Behauptung aufgestellt, dass die Säuren verbrannt würden, ohne dass hierfür irgend entscheidende Gründe beigebracht zu sein scheinen (die ev. ausführliche Arbeit der Autoren war für mich nicht auffindbar). H. MÜLLER-THURGAU dagegen, der nochmals nachwies, dass der Säureverlust nicht entfernt die

kolossale Zuckerzunahme bei der Reife zu decken vermag, und dass auch aus anderen schlagenden Gründen die Zuckerzufuhr aus den Blättern angenommen werden müsse, definirte dieselbe Ansicht noch präziser und nahm, freilich, wie besonders hervorzuheben ist, auch wieder ohne spezielle Beweisführung, umgekehrt an, dass die Säure durch Zersetzung des Zuckers entstände; gleichzeitig würde aber auch Säure wieder weiter zersetzt und als Endprodukte dieser Umsetzung entstünden Kohlensäure und Wasser. (Über d. Einfl. der Belaub. d. Weinstocks auf d. Reif. der Traub. Ber. des Weinbaukongr. in Dürkh. 1882.)

Wir haben hier nur die wichtigsten Arbeiten der Reifungslitteratur angeführt; die meisten übrigen haben für die Stoffwechselfrage keinen Werth, da die Bestimmungen entweder am Moste angestellt (also auf eine von der Transpiration abhängige, ganz variable Größe bezogen) sind, oder das jeweilige Gewicht der Früchte als Maß zu Grunde legen, ohne durch Angabe wenigstens der Fruchtzahl eine Umrechnung auf das Anfangsgewicht zu ermöglichen. — Wenn wir von der allmählichen Klarlegung der Frage und der Sonderung der verschiedenen Faktoren absehen, so beschränken sich die faktischen Resultate dieser Arbeiten in Bezug auf die Stellung der Säure im Stoffwechsel auf die Konstatirung der sehr wichtigen Thatsache, dass wirklich bei der Reife Säure verschwindet, und dass sie nur einen kleinen Theil der Zuckervermehrung decken könnte; alles übrige ist Hypothese.

Ansichten der Pflanzenphysiologen.

Weit größer waren die Fortschritte, seitdem sich die experimentelle Pflanzenphysiologie dieser Fragen bemächtigte. An erster Stelle ist AN. MAYER zu erwähnen, der 1875 (Üb. die Bedeut. d. organ. Säur. in d. Pflanzen. Landw. Versuchstat. XVIII) zum ersten Male diese Fragen von weiterem Gesichtspunkte zusammenfasste, die bisherigen Ansichten kurz und treffend charakterisirte und nicht, von Möglichkeiten ausgehend, die spärlichen bekannten Thatsachen neu zurechtlegte, wie die meisten früheren, sondern mit bestimmter Fragestellung experimentell an die Sache herantrat. Die Versuche bezogen sich einerseits auf die Oxalisarten und Weinranken, andererseits auf die Fettpflanzen. In Betreff ersterer stellte er fest (wenn sich auch in Bezug auf die Einzelheiten der Versuche manche Einwendungen machen lassen), dass die Ranken und Oxalisarten im kohlenstofffreien Raume im Lichte nicht durch Sauerstoff das Volumen der sie umgebenden Luft vermehrten, was geschehen müsste, falls ihre Säure ein intermediäres Produkt der Kohlensäureassimilation wäre. Die übrigen Versuche, zu wenig an Zahl und theilweise zu schwankend in den Einzelheiten, zeigen nur so viel als ganz sicher, dass ähnlich großer Wechsel in Betreff des Säuregehaltes wie bei den Fettpflanzen hier nicht vorhanden ist.

Ob die Zerstörung der Oxalsäure, wo sie überhaupt stattfindet, durch Oxydationsvorgänge zu erklären ist, wie MAYER annimmt (p. 445), da Verneinung des Reduktionsprozesses implizite Bejahung des Oxydationsprozesses bedeute, ist um so weniger erwiesen, da nicht einmal das Faktum des Zerstörtwerdens zweifellos konstatiert wurde. Auf die Entstehung der Oxalsäure bei den chlorophylllosen Pflanzen als Gegenbeweis gegen den Reduktionsprozess hatte, wie erwähnt, HOLZNER schon hingewiesen, bei den chlorophyllhaltigen musste die Entstehung gänzlich ungewiss bleiben.

Dagegen zeigten Bryophyllum und Crassula bei Abwesenheit von Kohlensäure eine beträchtliche Sauerstoffausscheidung im Sonnenlicht, Hand in Hand gehend mit der Entsäuerung; aus welcher Thatsache MAYER schloß, dass auch ein Kausalnexus zwischen Entsäuerung und Sauerstoffausscheidung bestehe. Ferner fand er nach der Besonnung im kohlensäurefreien Raume die Stärke vermehrt¹⁾, folglich sei anzunehmen, dass die Kohlehydrate das Endprodukt dieses Reduktionsprozesses seien, und dass die Säuren den Charakter eines Übergangsgliedes zwischen Kohlensäure und Kohlehydraten erhalten. — Eine sich an diese Arbeit anschließende Kritik und Polemik hatte, neben dem Nachweis des Fehlens irgend beträchtlicher Mengen freier Kohlensäure in der Pflanze am Morgen, vor allem das Resultat nochmaliger Bestätigung der Sauerstoffausscheidung unter besserer Vermeidung der möglichen Fehlerquelle vorheriger Kohlensäureabsorption. (Die Sauerstoffausscheidung fleischiger Pflanzen. Erwiderung. Heidelb. 1876.) Im Jahre 1878 erschien dann aus derselben Feder eine zusammenfassendere Arbeit (Üb. d. Sauerstoffausscheid. einiger Crassulac. Landw. Versuchsst. XXI. p. 277), wo neben der Bestimmung der fraglichen Säure als Apfel- oder Isoapfelsäure auch die für uns wichtige Möglichkeit erörtert wurde, dass sich aus der Säure im Lichte erst Kohlensäure abspalte, und diese dann die eigentliche Sauerstoffquelle sei. Er entschied sich freilich nicht definitiv gegen diese Annahme, als einzige hierher gehörende Gründe anführend, dass, falls eine dauernde Kohlensäureabspaltung stattfände, nicht einzusehen sei, warum sich nicht auch im Dunkeln Kohlensäure abspalten solle; ferner, dass dann ein Blatt im Lichte über Kalilauge, wo doch Kohlensäure absorbiert würde, weniger Sauerstoff liefern müsse als ein gleiches ohne Kalilauge, was nicht der Fall sei. Ist dies letztere einerseits lange nicht genügend konstatiert durch zwei Versuche, wo hier ja die Individualität des Blattes von außerordentlichem Einfluss ist, und geringe Verschiedenheiten der Versuchsanstellung sich gar nicht vermeiden lassen, so würde andererseits auch das sichere Faktum nichts beweisen, da ja be-

1) Es wird dies nur schwer exakt konstatiert werden können, da man, um Bryophyllum völlig zu entzähnen, sie nach meinen Erfahrungen so lange verdunkeln muss (mehrere Wochen), dass auch ihre Lebenskraft, wie schon der Habitus zeigt, entschieden leidet, und einfach geringe Stärkezunahme schwer mit dem Augenmaß konstatiertbar ist, auch Zufälligkeiten mitspielen können.

kannt ist, mit welcher Rapidität insolarte Blätter sogar von außen die Kohlensäure anziehen, während die im Innern durch Athmung gebildete völlig verarbeitet und nur in schnellem Gasstrom spurweise sichtbar wird, und zwar sogar bei dünnen Blättern, wo die Kohlensäure im Verhältnis zu Fettpflanzen noch schnell entweichen kann. — Für die Annahme der Kohlehydrate als Endprodukt des Entsäuerungsprozesses kam für MAYER als neues Moment noch hinzu, dass die Menge der Sauerstoffausscheidung mit der Berechnung der Reduktion der im Lichte verschwundenen Säure zu Kohlehydraten gut übereinstimmt; wozu dann in seiner letzten Untersuchung (Kleine Beitr. z. Frage d. Sauerstoffausscheid. in d. Crassulaceenblätt. Landw. Versuchsstat. 1883) noch das Faktum hinzutrat, dass in der That, nach Insolation in einem kohlenstofffreien Raum, quantitativ bestimmt, abends mehr Zucker vorhanden ist als morgens, auch Stärke und Dextrin sollen kleine Zunahme zeigen. Beide Gründe passen aber ebenso gut für die Annahme, dass sich Kohlensäure abspaltet und diese verarbeitet wird. — Für die Zunahme der Säure in der Nacht, die er früher ohne speziellen Grund schlankweg für einen Oxydationsprozess erklärt hatte, giebt er jetzt auch die Möglichkeit der Entstehung durch Spaltung anderer Substanzen zu, dafür anführend, dass auch in Wasserstoffatmosphäre die Säure in der Nacht zunehme. — Das faktisch bleibende Resultat von MAYER's Arbeiten in Bezug auf unsere Frage nach der Stellung der Säuren ist also die Trennung der Oxalsäure der Oxalisarten von der Apfelsäure der Fettpflanzen; bei ersteren ist die Entstehung unsicher, die Zersetzung, falls überhaupt stattfindend, möglicherweise ein Oxydationsprozess; bei den Fettpflanzen Entstehung der Säuren durch Oxydation oder Spaltung, Zersetzung derselben durch Lichtwirkung (NB. nur an lebendem Material wirksam), bei welchem Prozess einerseits Sauerstoff, andererseits Kohlehydrate auftreten; wie, ist unsicher, möglich eine Reduktion der Säuren, mit oder ohne vorhergehende Oxydation zu Kohlensäure, möglich auch eine innere Abspaltung von Kohlensäure, die dann weiter verarbeitet wird.

Im letzten Jahre ist von G. KRAUS eine Arbeit erschienen (Üb. d. Wasservertheilung in der Pflanze. IV Die Acidität d. Zellsaftes), in der umfassende Untersuchungen über die Vertheilung der Säure in den verschiedenen Pflanzen- und Pflanzentheilen, in den verschiedenen Stadien der Entwicklung etc. mitgetheilt sind. Es wird dort der Versuch gemacht, nachzuweisen, dass die bei Fettpflanzen aufgefundene Periodizität eine allgemeine Regel bei den Pflanzen sei, dass die Entsäuerung eine direkte Wirkung des Lichtes sei, und zwar des gelben besonders, und deshalb keinen Zusammenhang habe mit der Athmung, wenngleich Sauerstoff zur Entsäuerung nöthig ist, und ebenso wenig mit der Assimilation, da auch in kohlenstofffreiem Raume, wie ja schon MAYER fand, Entsäuerung eintrat. Er schließt, dass die Säuren ein Nebenprodukt der Athmung seien, da sie vor allem in den Theilen der Pflanzen auftreten, die das Protoplasma in reich-

lichem Maße enthalten, ein Schluss, gegen den sich mancherlei einwenden lässt.

Neuerdings hat G. KRAUS (Abhandl. der naturf. Ges. zu Halle XVI, Über d. Blütenwärme bei *Arum italicum*) versucht, bei dem intensiven Lebensprozesse während der Kolbenerwärmung Säurezunahme nachzuweisen. Doch muss selbst das Faktum noch zweifelhaft bleiben, da bei so schwankenden Verhältnissen, wie sie die außerordentlichen Unterschiede in dem Verhältnis der Bleiniederschläge zur Trockensubstanz verrathen (p. 37 bei Knospenkeulen z. B. zwischen $\frac{1}{10}$ und $\frac{1}{40}$, bei den warmen zwischen $\frac{1}{5}$ und $\frac{1}{20}$ variirend), 7—10 Analysen entschieden viel zu wenig sind zur Erlangung eines gleichförmigen Mittelwerthes; um nur annähernd sichere Resultate zu erhalten, wird man auch hier wie bei den Fettpflanzen mit verschiedenen Theilen derselben Pflanze (desselben Kolbens) arbeiten müssen. Aber auch unter der Annahme der allgemeinen Gültigkeit der Zahlen würde nur bewiesen sein, dass sich Säuren auch ohne Chlorophyll-einfluss bilden können, was wir ja schon durch die Pilze etc. wissen. Auch dass die Kohlehydrate »in letzter Instanz das Material zur Säurevermehrung« geben (p. 22), ist im Grunde ja selbstverständlich und klärt noch nicht den direkten Prozess der Säurebildung auf. Die Konstanz der stickstoffhaltigen Körper (und das Verhältnis der löslichen zu den unlöslichen) beweist, wie auch KRAUS hervorhebt, wenig, denn »es wäre vorschnell, daraus sofort den bestimmten Schluss ziehen zu wollen, die Eiweißkörper werden bei der Athmung nicht in chemische Mitleidenschaft gezogen« (p. 70). Unbestimmte, unbekannte lösliche Stoffe aber als Mittelding zwischen Kohlehydraten und Säuren ev. anzunehmen, und zwar einzig, weil sich Differenzen in Folge von Berechnung auf obige Mittelwerthe hin zeigen (p. 22), würde jedenfalls recht gewagt sein.

Als letzter hat DE VRIES »über die Periodizität im Säuregehalte der Fettpflanzen« (Amsterdam 1884) gearbeitet; er hat die Thatsache des langsamen Verschwindens der Säuren im Dunkeln und namentlich in der Wärme, die für die Früchte ja schon lange konstatiert und von MAYER für *Oxalis* wenigstens wahrscheinlich gemacht war, für die Fettpflanzen sowie für einige dünnblättrige durch exakte Versuche konstatiert. Die Säurebildung in der Nacht ist nach ihm eine den Fettpflanzen eigene, durch vorhergehende Beleuchtung induzierte Erscheinung; während die Verbreitung der Erscheinung der Entsäuerung am Licht nicht von ihm untersucht wurde. Das Licht aber bewirkt nach ihm die Zersetzung nicht, sondern fördert sie nur; blauer und gelber Theil des Spektrums wirken gleich; demnach ist die Entsäuerung kein Reduktionsprozess, »es bleibt demnach nichts anderes übrig«, schließt er hieraus, »als sie als einen Oxydationsprozess aufzufassen«.

Man sieht aus dieser kurzen Skizze über die Arbeiten von MAYER, KRAUS und DE VRIES, wie trotz der vielen wichtigen, neu geförderten Thatsachen,

die sich gegenseitig nur selten widersprechen (z. B. Wirkung des blauen und rothen Lichtes DE VRIES-KRAUS, Wirkung von Wasserstoff auf die Ansäuerung KRAUS-MAYER), jeder in Betreff des Prozesses selbst, je nach seiner Auffassung, zu einer anderen Ansicht gelangt ist. MAYER sieht in der Zunahme des Zuckers am Tage das Endprodukt des Entsäuerungsprozesses, KRAUS möchte im Gegentheil die Abnahme des Zuckers in der Nacht auf die Bildung der Säure zurückführen; nach MAYER ist der Zucker also Endprodukt der Entsäuerung, nach KRAUS Ausgangspunkt der Ansäuerung. MAYER und KRAUS halten das Licht für das die Entsäuerung bewirkende Agens, MAYER nimmt einen Reduktionsprozess an, KRAUS spricht sich nicht näher aus; DE VRIES hingegen hält das Licht nur für ein förderndes Element, dagegen eine Oxydation für das primär wirksame bei der Entsäuerung, während KRAUS hinwieder den Sauerstoff hierbei nur indirekt thätig sein lässt. — Nur darin sind sie alle einig, dass die Entsäuerung kein direkter Prozess der gewöhnlichen Assimilation sei, wie LIEBIG annahm, dass also die Säuren hier kein Mittelglied des Kohlensäurezerlegungsprozesses seien, was freilich ja für diese Pflanzen auch von LIEBIG nicht behauptet war. KRAUS, der alle Säuren unter einem Gesichtspunkt zusammenfasste, musste diese Auffassung naturgemäß auf alle Pflanzen übertragen, DE VRIES und MAYER suchten auch für die Entsäuerung dünnblättriger Pflanzen speziell nachzuweisen, dass sie unabhängig sei von dem Reduktionsprozesse im Lichte, während die Säurebildung derselben dunkel blieb. Nach MAYER ist die Bildung Oxydation (oder Spaltung), die Entsäuerung Reduktion; nach KRAUS die Bildung Nebenprodukt der Athmung, die Entsäuerung nicht näher untersuchte Lichtwirkung; nach DE VRIES die Entsäuerung Oxydationsprozess, die Bildung nicht näher physiologisch untersucht. — Es muss bemerkt werden, dass mit Erweisung der Nichtzugehörigkeit zu dem reduzierenden Assimilationsprozess noch nicht zugleich die Zugehörigkeit zu einem Oxydationsprozess erwiesen ist, wie DE VRIES will; kommen doch alle möglichen Spaltungen und in einander eingreifende Prozesse in den Pflanzen vor; auch können ja Reduktionsprozesse wieder Oxydationen zur Folge haben und umgekehrt (man vergleiche das Entstehen der Säure bei den doch entschieden in gewissem Sinne reduzierend wirkenden Gährprozessen). Einzelne Öno- und Pomologen sprechen sogar in diesem Falle sofort von Verbrennung und Verathmung der Säure, einzig weil sie keinen Zucker aus der Säure entstehen sehen, gleich als ob keine anderen Möglichkeiten existirten. — Die Bezeichnung der Säuren von KRAUS als Nebenprodukt der Athmung ist auch schon zu eng gefasst, im Hinblick auf die mangelnden Beweise, falls man nicht Athmung und Stoffwechsel identifiziren will, und auch dann brauchten ja die Säuren kein Nebenprodukt zu sein, sondern könnten ein integrirendes Stadium des Stoffwechsels darstellen. — Oxydations- oder Spaltungsprodukt, als Entstehungsweise der Säure, wie MAYER annimmt, ist jedenfalls richtig, da Säuren durch reine Reduktion nur aus

Kohlensäure oder anderen Säuren entstehen können, wovon das zweite in der Fragestellung nicht in Betracht kommt, das erstere so gut wie ausgeschlossen ist, da wir bisher nur die eine Kohlensäurereduktion am Lichte kennen; doch könnte vielleicht auch hier die Oxydation nur ein begleitender Faktor des im übrigen reduzierenden Prozesses darstellen.

Man wird sich des Eindrucks nicht erwehren können, dass die ganze Frage jetzt mehr verwirrt ist, als früher. Die alte Unterscheidung der dünnblättrigen und Fettpflanzen wird neuerdings durch KRAUS bestritten; die Wirkung des Lichtes bei der Entsäuerung ist durchaus noch nicht auf das Wesen untersucht; nur verschiedene Möglichkeiten sind aufgestellt, von denen die von DE VRIES' angenommene sog. Reizwirkung des Lichtes in Bezug auf Ansäuerung noch der Erklärung und näheren Prüfung bedarf; über die Einreihung der Säureprozesse im allgemeinen Stoffwechsel ist nichts bekannt; es ist ungewiss, ob die Säuren Nebenprodukte oder Durchgangsstadien sind. — Vor Allem fehlen aber noch entscheidende Untersuchungen über die doch zu allererst zu erledigenden Fragen, in welchem Verhältnis der Abhängigkeit die Säureprozesse zum Assimilations- und zum Athmungsprozesse stehen.

Nachstehende, im Tübinger Laboratorium, mit freundlicher Unterstützung von Herrn Prof. PFEFFER, angestellte Untersuchungen befassen sich vor Allem mit der Frage der Beziehung der Säureumwandlung zum Assimilationsprozess, und suchen dann auch, soweit möglich, die Abhängigkeit vom Athmungsprozess festzustellen; hoffentlich gelingt es, auch die letztere Frage soweit zu fördern, dass man sich ein klareres Bild von der Verknüpfung dieser Prozesse und von der Stellung der Säuren im Stoffwechsel wird machen können, wenngleich, um als strenge vollständige Beweisführung zu gelten, der Lücken noch gar zu viele sind, die erst allmählich ausgefüllt werden können. Wenn auch die Schlussfolgerungen sich nicht allein auf die Fettpflanzen beschränken sollen, so dienen dieselben doch vorzugsweise zur Untersuchung, und andere Pflanzen wurden nur soweit herangezogen, um die Übertragbarkeit der Schlüsse zu prüfen, oder wo es spezielle Versuche erforderten. — Besonderes Gewicht wurde gelegt auf die Beziehungen der Fettpflanzen zu den anderen, um eventuell zu einer Erklärung des Wesens des abweichenden Verhaltens der Fettpflanzen zu gelangen.

Methode. Was die Methode der Säurebestimmung betrifft, so habe auch ich mich, wie meine Vorgänger, mit der Titirung der freien Säure begnügt, indem die Menge der an anorganische Basen gebundenen Säuren die beträchtlichen Schwankungen in der Quantität nicht mitmacht, was also, ganz abgesehen von Zeitverlust und Schwierigkeit der Bestimmung, die Resultate nur weniger prägnant machen würde. — Nach einigen, nicht sehr

günstig ausgefallenen Vorversuchen nach der KRAUS'schen Methode, die Säure im mit der Hand herausgepressten und dann filtrirten Zellsaft zu bestimmen, zu deren gleichmäßiger Anwendung jedenfalls viel Übung gehört, wobei auch dann das Resultat noch manchmal durch individuelle Zufälligkeiten getrübt werden mag, und bei kleinen Differenzen immerhin zweifelhaft bleiben muss, benutzte ich die Methode, wie sie von DE VRIES angewandt wurde: die ganzen Pflanzentheile erst zu wiegen (um Gewichtsänderungen durch Transpiration zu vermeiden, vor der Versuchsanstellung), hierauf zu verreiben und dann die Säure zu bestimmen; jedoch wurde vorher der völlig zerriebene Brei, mit dem Spülwasser verdünnt, $4\frac{1}{2}$ Stunden lang in dicken Gläsern, so dass die Temperatur des Inhaltes 80° bis höchstens 90° betrug, auf das Wasserbad gesetzt. Diese lange Erwärmung geschah, um jede Fehlerquelle durch die ja in der That vorhandene (Tab. I A) absorbirte Kohlensäure von vornherein auszuschließen; aufkochen darf man viele Pflanzen nicht, z. B. vor allem nicht Bryophyllum¹⁾, weil durch dabei entstehende Basen unbekannter Natur²⁾, vielleicht Trimethylamin, welches HÉTET (Compt. rend. 1864 t. 59 p. 29) im Destillat von Crassulaceen konstatirte, ein guter Theil der Säure neutralisirt wird (Tab. I, B), so dass z. B. bei halbstündigem starken Kochen zerriebener Bryophyllumblätter die Lösung fast neutral wurde, und schon starkes Kochen von einigen Minuten deutliche Fehler verursachen kann. Auch längeres Erwärmen im Reagenzglas im Wasserbad macht schon kleine Fehler; was alles bei titrimetrischen Untersuchungen sehr zu berücksichtigen ist. — Dass eine $4\frac{1}{2}$ stündige Erwärmung genügt, um die ev. Kohlensäure auszutreiben, was von großer Wichtigkeit ist, wurde durch Versuche konstatirt (Tab. I, C), wo zwei Blatt-hälften verrieben, in das Wasser des einen einige Blasen Kohlensäure eingeleitet wurden, und am Ende der Erwärmung beide Hälften den gleichen Titer zeigten; auch entwickelten diese Flüssigkeiten nach der Erwärmung bei momentanem Aufkochen höchstens Spuren Kohlensäure, vermuthlich durch irgend welche Zersetzung entstanden. Durch kürzer dauernde Luftdurchleitung ließ sich selbstverständlich aus diesen Flüssigkeiten keine Kohlensäure mitführen³⁾; ebenso veränderte sich, nachdem die Flüssig-

1) Andere Pflanzentheile, z. B. Früchte, darf man lange kochen, ohne dass sie ihren Titer wesentlich ändern.

2) Auch beim Destilliren mit etwas Kalilauge gewinnt man alkalisches Destillat.

3) Längere Luftdurchleitung bewirkt, namentlich im Lichte, aber auch auf dem Wasserbad, durch Oxydation der Säure geringe Verminderung derselben und Bildung von Kohlensäure. Bei 2,5 cem Bryophyllumsaft (filtrirt) ging die Acidität bei Durchleitung kohlensäurefreier Luft von $41\frac{1}{2}$ —5 Uhr von 27,2 auf 25,2 herunter; dasselbe bei 2 g Bryophyllum in 2 Stunden von 81,7 auf 77,4, auf dem Wasserbad nahm die Säure in $4\frac{1}{2}$ Stunden bei Durchleitung von Luft von 46,5 zu 34,2 ab, und es wurde 4 cem CO_2 aufgefangen. Wasserstoffdurchleitung auf dem Wasserbad lässt die Säure natürlich unzersetzt. Bei Erwärmung ohne Luftdurchleitung wirkt auch wohl die Wasserdampfschicht als Schutz gegen den Sauerstoff der Luft.

keit evakuirt und $\frac{1}{2}$ Stunde gekocht war, ihr Titer nicht. *Beim Filtriren der auf dem Wasserbad erwärmten Flüssigkeit geht die Säure völlig ins Filtrat über (man kann soweit auswaschen, dass der Rückstand durch 2 Tropfen Natronlauge gesättigt wird), wird also nicht irgendwie durch unlösliche Proteinstoffe festgehalten; auch lässt der durch Barytwasser in dem Filtrat entstandene Niederschlag mit Säuren keine Kohlensäure entweichen, was gleichfalls für die völlige Entfernung der Kohlensäure beweisend ist. Andererseits wurde auch festgestellt, dass 1-, 2- und 3-stündiges Erwärmen auf die angegebene Weise keine merkbaren Differenzen bewirkte, also bei dieser Temperatur noch keine Base frei wird. Titirt wurde mit selbstbereiteter kohlenstofffrei aufbewahrter Natronlauge (nach dem Vorgange von KRAUS 1 g auf 1000 cem), das Resultat der Säurebestimmung wurde, wie bei DE VRIES, auf 10 g der Frischsubstanz umgerechnet. Die Zahlen geben also an, wie viel Milligramm Natron durch 10 Gramm Substanz gesättigt werden. Als Indikator diente Phenolphthalein, und zwar 16—20 Tropfen, wodurch die Farbenänderung stets genügend scharf eintrat, auch in sehr verdünnten Lösungen. Der erste Anfang der Röthung, der durch schwache organische Basen hervorgerufen wird, ist weniger gut zu brauchen; aber nach einigen Tropfen tritt mit der ersten Spur freier Natronlauge eine durchaus scharf kenntliche plötzliche Dunkelung der Röthe ein, die bei einiger Übung, wie vielfache Proben mit stets demselben Resultat lehren, nicht zu verkennen ist. Stark gerbstoffhaltige Pflanzen eignen sich überhaupt nicht zu dieser Untersuchung, ebenso wenig auch schleimige Säfte; viel Stärke enthaltende Theile erschweren gleichfalls die Genauigkeit, so dass neben der Vergleichung der verschiedenen Röthung zum Curcumapapier als Indikator Zuflucht genommen werden musste über dieses siehe DE VRIES a. a. O. p. 65). Stets ward gleich nach der Erwärmung titirt (bei Phenolphthalein kann man auch Gaslicht sehr gut benutzen), da in unseren verdünnten Flüssigkeiten (wegen Zuckergehalt und stickstoffhaltiger Substanz ein gutes Nährmaterial für Pilze) sich innerhalb 12 Stunden durch Bakterien deutliche Fehler einschleichen konnten (Tab. I, D), wie Kontrollversuche und mikroskopische Prüfung lehrten; bei DE VRIES war vermuthlich die stärkere Säurekonzentration der Bakterienentwicklung hinderlich.

Da die definitive, nicht die anfängliche Röthung als Endreaktion genommen wurde, entsprechen also die gefundenen Werthe nicht genau der freien Säure, sondern der Summa dieser und derjenigen, die an die schwachen organischen Basen gebunden ist, meist freilich nur ein kleiner Theil im Verhältnis zu ersterer. Da die organischen Basen an Quantität ziemlich konstant bleiben (wovon ich mich speziell für Bryophyllum auf ähnliche Weise überzeugte, wie es DE VRIES a. a. O. p. 64 für Echeveria und Rochea nachwies), so kam also kein Fehler in die relativen Verhältnisse, auf die es hier ja einzig ankommt. Dass Phenolphthalein auch durch freie Kohlen-

säure entfärbt wird, schadet hier nichts, da ja nach Obigem in beiden Flüssigkeiten keine messbare Kohlensäure vorhanden war.

Als Material dienten, wenn möglich, gleiche Blatthälften, meistens von Bryophyllum, wo nichts hinzugefügt, stets *B. calycinum* gemeint¹⁾, und falls mehrere Versuche neben einander zum Vergleich nöthig waren. Theile möglichst großer Blätter, für die Hauptvergleichsobjekte stets symmetrisch liegende Stücke. Die Blattspitze wurde, da sie, wie auch Kraus angiebt, bei Bryophyllum etwas säureärmer ist, möglichst vermieden, ev. mit der Basis zusammen zu unwichtigeren Kontrollversuchen gebraucht. — Seltener wurde zum gegenüberliegenden Blatte Zuflucht genommen, da hier schon stets einige Gefahr individueller Verschiedenheit vorliegt, zumal bei den Fetzpflanzen, wo jedes Blatt zugleich Reservestoffbehälter ist, und ein ziemlich selbständiges Leben führt, auch gerade deswegen ja die Säureschwankungen hier am bedeutendsten sein müssen, und die kleinen Expositions- und Temperaturverschiedenheiten, denen die gegenüberstehenden Blätter stets ausgesetzt sind, eventuell die Resultate illusorisch machen könnten. Früchte wurden stets halbirt, und die Schnittfläche zur Verringerung der Transpiration auf Glasplättchen gelegt. Blumenblätter wurden theils halbirt, theils abwechselnd zu den Vergleichsversuchen genommen. — Doch wird schon durch die unvermeidlichen Expositionsverschiedenheiten jeder Vergleich nur relative Genauigkeit besitzen, wie man schon erkennt, falls man zwei gleiche Bryophyllumblatthälften am gleichen Orte exponirt, und man am Ende des Versuches doch eine, wenn auch nur wenig verschiedene Säureabnahme findet. Gegen solche Fehler kann man sich, falls kleinere Differenzen in Betracht kommen, nur durch recht häufige Wiederholungen derselben Versuche schützen.

Konstatirung faktischer Säureabnahme im Lichte.

Wir hatten uns, wie oben erwähnt, zur Aufgabe gestellt, vor Allem den Einfluss des Assimilationsprozesses auf die Säurebildung und -Umwandlung zu studiren, und da dieser sich nur im Lichte abspielt, also vor Allem die Lichtwirkung. — Dass gewisse Pflanzen am Tageslichte entsäuert werden, ist längst bekannt; wenn schon der Geschmack und die intensive Färbung von Lakmus etc. am Morgen deutlich genug dafür spricht, dass die Hauptmenge der Säure keine in irgend welcher Form gebundene Kohlensäure sein kann, so mussten die Versuche von MAYER, dass mit Schwefelsäure aufgekochte Bryophyllumblätter nur sehr wenig Kohlensäure abgeben, jeden Zweifel heben; die Versuche, mit der Luftpumpe das Gas auszuziehen, sind weniger beweisend, da die Kohlensäure eventuell in

1) Die verschiedenen Theile desselben Blattes zeigen annähernd gleichen Säuregehalt (Tab. I E).

fester chemischer Bindung sich befinden könnte. Dagegen hat MAYER sowohl wie KRAUS die wirkliche Zu- und Abnahme der Säuren auch gewichtsanalytisch bestimmt; ferner sei noch angeführt, dass, falls die Säure Kohlensäure wäre, das Blatt unter günstigen Umständen sein doppeltes Volumen Kohlensäure verschlucken müsste. — Doch waren in allen bisherigen Säurebestimmungen (außer bei DE VRIES, der mit Curcuma titrirte) kleinere Fehler, durch Kohlensäure herrührend, nicht genügend vermieden, was bei unserer Methode der Fall sein dürfte. — Dass die Säureabnahme nicht auf Neutralisation beruht, hat DE VRIES sehr treffend auch theoretisch bewiesen (l. c. p. 52); Zufuhr anorganischer Basen war bei mir dadurch ausgeschlossen, dass die Blätter getrennt von der Pflanze exponirt wurden, die organischen Basen verändern sich, wie oben erwähnt, wenig an Quantität. Dass die Prozesse sich in den mit der Pflanze zusammenhängenden Theilen ganz ebenso abspielen, wie in den getrennten, beweisen vielfache Prüfungen (s. einzelne in Tabelle II, A), was übrigens auch schon die relative Selbständigkeit der Blätter bei diesen Pflanzen erwarten ließ.

Ansäuerung und Entsäuerung zwei fortwährend und gleichzeitig vor sich gehende Prozesse.

DE VRIES war der erste, der mit Entschiedenheit darauf hingewiesen hat, dass bei den Fettpflanzen¹⁾ die Entsäuerung nicht allein durch die Lichtwirkung veranlasst würde, sondern dass dauernde Dunkelheit (auch von KRAUS mehr beiläufig durch Versuche belegt) und besonders Wärme denselben Effekt hervorbrächten (s. auch Tab. II, B). Wie diese Entsäuerung im Dunkeln vor sich geht, welche Produkte gebildet werden, wurde nicht untersucht, ebensowenig bei der Lichtentsäuerung, bei der nur der Nachweis versucht wird, dass sie unabhängig von der Assimilation sei (s. unten). Wenn DE VRIES sich trotzdem zum Schlusse berechtigt glaubt, dass das Licht nur eine Beschleunigung der auch vom Licht unabhängigen Säurezersetzung veranlasst (p. 63), oder bestimmter (p. 3), »dass die Zersetzung der Säuren in den Fettpflanzen gar nicht vom Lichte verursacht wird«, so möchten wir dem gegenüber hervorheben, dass ja doch die Lichtentsäuerung ein von der Wärmeentsäuerung ganz abweichender Prozess sein könnte. Die interessanten, aus der Chemie herbeigeholten Fälle der Zersetzung organischer Säuren durch das Sonnenlicht geben, wie stets derartige Beispiele, nur Möglichkeiten. — Vor Allem ist aber von DE VRIES nicht einmal ein genügender Beweis erbracht, dass wirklich beständig in den Fettpflanzen ein Prozess der Entsäuerung vor sich geht. Da nur dann unsere Resultate ver-

1) Bei den Früchten war das Faktum der Entsäuerung bei der Nachreife im Dunkeln und namentlich in der Wärme in einzelnen Fällen schon beobachtet worden, und für Oxalis war die Säureabnahme in der Wärme durch MAYER wahrscheinlich gemacht.

werthbar sein werden, falls diese fundamentalen Fragen geklärt sein werden, müssen wir etwas auf dieselben eingehen. Dass die Entsäuerung auch in der Nacht nach vorhergehender Belichtung stattfindet, suchte DE VRIES durch nächtliche Erwärmung auf 45° zu beweisen, wodurch die sonst stattfindende Ansäuerung ganz oder fast aufgehoben wurde (p. 400); ein Faktum, das unzweifelhaft richtig ist (Tab. II, C), das aber ebenso gut dahin ausgelegt werden kann, dass bei der hohen Temperatur der Prozess der Ansäuerung leidet oder aufgehoben wird. — Zur Entscheidung dieser Frage wurden Versuche bei gewöhnlich vorkommenden Temperaturen angestellt, welche ergaben, dass das Maximum der Säurezunahme bei e. 43° (zwischen 40 und 45°) C. liegt (Tab. II, D), und die Kurve nach unten schnell, nach oben langsam fällt; bei 0° findet kaum mehr Säurezunahme statt, ebenso bei 38° C. Dass das Maximum so tief liegt, tiefer als das Maximum jedes bekannten, nicht durch eine Gegenwirkung kompensirten Lebensprozesses der Pflanzen (und dies bei einer Tropenpflanze), zeigt an, falls man nicht die unwahrscheinliche Annahme eines ganz exzeptionellen Prozesses machen will, dass in der That ein mit steigender Temperatur immer stärker zur Geltung kommender Prozess der Entsäuerung entgegenwirkt; also ist damit auch während der Zeit der Säurezunahme die Existenz des Entsäuerungsprozesses bewiesen. — Wir müssen also zwischen Entsäuerung und Säureabnahme einen scharfen Unterschied machen. Entsäuerung findet auch bei Säurezunahme statt; diese letztere ist nur die Resultante aus den gleichzeitigen Prozessen der Ansäuerung und der Entsäuerung. Bei welcher Temperatur das wirkliche Maximum der Ansäuerung (nicht der Säurezunahme) sich befindet, wird sich vielleicht durch eine ins Detail ausgearbeitete Temperaturkurve der Säurezunahme erweisen lassen, liegt aber unbedingt viel höher als 43° , und auch in den dreißiger Graden ist die Wirkung des Ansäuerungsprozesses noch merkbar.

Auch der umgekehrte Prozess der Ansäuerung ist nicht nur auf die Nacht beschränkt, und dauert am allerwenigsten genau eine Nacht, wie DE VRIES meint. (Auch hier müssen wir scharf zwischen Säurezunahme und Ansäuerung unterscheiden; wo man aber erstere findet, ist das Vorhandensein letzterer eo ipso bewiesen.) Bei der *Opuntia* z. B. dauert der Prozess der Säurezunahme, also erst recht der Ansäuerungsprozess, falls das Glied dunkel gehalten wird, nach unten zu besprechenden volumetrischen Verhältnissen zu urtheilen, 24—36 Stunden, kalt gehalten sogar 8 Tage und mehr; auch *Aloe arborescens* zeigte bei 48° am Morgen 43,2 Acidität, am nächsten Morgen (bis dahin dunkel gehalten) 47,8. — Bei *Bryophyllum* kann man den Prozess der Ansäuerung selbst im Lichte trotz der Säureabnahme beweisen, wenn man nämlich die Lichtentsäuerung durch ein einfaches Mittel beseitigt, worauf wir unten näher eingehen werden. — Auch an der dunkleren Zimmerseite kann man zuweilen am Tage den Säuregehalt von *Bryophyllum* etwas vermehrt finden, dasselbe wurde in farbigen

Glocken an einem dunkel bewölkten Tage am Fenster bemerkt. — Auch zeigt der Umstand, dass das Minimum der Säure nicht auf den Abend fällt, wie KRAUS angiebt, sondern auf den Nachmittag (Tab. II, F), wie MAYER, meine Versuche, DE VRIES ergeben, dass Licht und Säurebildung sich nicht ausschließen. Dass überhaupt die Säurezunahme nur eine gerade bestimmte Zeit dauern soll, ist nach dem Vorhergehenden schon undenkbar; wenn, wie wir sehen, die nächtliche Säurezunahme wirklich eine Resultante zweier sich entgegenwirkender Prozesse ist, von denen die eine bei höherer Temperatur das Übergewicht erlangt, wenn ferner auch bei gleichbleibender Natur der Prozess der Ansäuerung ein auch im Dunkeln schließlich abnehmender ist, so geht schon hieraus hervor, dass je nach der Temperatur die Säurezunahme bald früher, bald später ihr Ende finden muss. — Bei andauernder Dunkelheit erlangt der Säuregehalt eine gewisse Konstanz (Tab. II, G), wie DE VRIES zuerst beobachtete; und auch diese lässt sich nicht anders erklären, als durch einen Gleichgewichtszustand von Produktion und Konsumption; denn erstens ist völlig gleichzeitiges Aufhören beider entgegenwirkender Prozesse schon an sich undenkbar; zweitens ist es merkwürdig, dass beim langsamen Erlöschen der Lebensthätigkeit, beispielsweise durch allzulange Verdunkelung, der Säuregehalt sehr schnell sinkt, also das Gegentheil von Konstanz eintritt; und drittens ist die Thatsache sehr bemerkenswerth, dass der Gleichgewichtszustand je nach der Temperatur ein verschiedener ist (Tab. II, H), und zwar so, dass bei 35° während des Gleichgewichtszustandes weniger Säure gefunden wird, als bei 44°, und dass, wenn man ein vorher warm und dunkel gehaltenes Blatt in die kühlere Luft bringt, trotz langer Dunkelheit doch der Säuregehalt etwas zunimmt. Es sind die zwei entgegenwirkenden Kräfte während der Zeit der Säurekonstanz nicht sistirt, sondern nur im Gleichgewicht¹⁾.

Unaufhörlich finden also in den Blättern der Fettpflanzen zwei Prozesse statt, einerseits die Ansäuerung, andererseits die Entsäuerung; je nach Temperatur, Ernährungszustand, vorangegangener Beleuchtung überwiegt bald die eine, bald die andere, und als Resultanten werden sichtbar Säurezunahme oder Säureabnahme. Sobald längere Zeit die äußeren Einwirkungen sich gleichmäßig geltend machen, wird, so lange das Blatt keine inneren Störungen erleidet (durch Mangel an Nahrungsmitteln, bei jüngeren Blättern auch durch Wachstum), sich stets allmählich ein, wenn auch labiler, Gleichgewichtszustand herausbilden müssen. — Messbar für uns sind nur die Resultanten und jede Erscheinung lässt demnach an und für sich zwei Deutungen zu, was die Erforschung der wirkenden Momente recht erschwert; durch vielfache Variation der Bedingungen, indem man

1) Das Minimum bei der Lichtentsäuerung liegt noch tiefer als der Wärmegleichgewichtszustand. Ein Lichtgleichgewicht der Säure giebt es natürlich nicht, auch bei Unterbrechung der Lichtentsäuerung durch Verdunkelung ergiebt sich schon nach kurzer Zeit eine Säurezunahme (Tab. II, J).

sie bald der Entsäuerung, bald der Ansäuerung günstiger macht, wird man trotzdem langsam zu gesicherten Resultaten gelangen können.

Säureabnahme am Lichte.

I. Welche Pflanzen zeigen Säureabnahme am Lichte?

Im Vordergrund des Interesses steht jetzt die Frage: welche Pflanzen zeigen Säureabnahme am Lichte, welche nicht? Nach MAYER sind es nur die Fettpflanzen, nach G. KRAUS alle Pflanzen in geringerem oder höherem Grade; DE VRIES hat sich mit der Frage selbst nicht befasst; da aber Säureabnahme am Tage nicht ohne Säurezunahme in der Nacht denkbar ist, so muss, wo letztere nach DE VRIES fehlt, auch das Konstantbleiben der Säure im Lichte angenommen werden.

Was die Methode betrifft, so ist vor Allem darauf Gewicht zu legen, dass die Erwärmung durch die direkten Sonnenstrahlen vermieden wird, da, wie wir sahen, die Erwärmung außerordentlichstarke Entsäuerung bewirken kann.

In unseren Versuchen ward die Sonne durch Fensterrahmen oder Papier abgeblendet, meistens leicht bewölkte Tage ausgesucht, auch der Schneereflex häufig benutzt; außerdem ward auch für Reflex auf die Rückseite der Blätter gesorgt; — auch wurde nicht Morgens und Abends untersucht, sondern die Kontrollversuche wurden Morgens unter Pappzylindern im Übrigen genau denselben Bedingungen ausgesetzt, wie die belichteten Blätter, so dass selbst kurze Perioden direkter Besonnung keinen Fehler machten, da die Strahlen das Innere des schwarzen Pappzylinders nach Messungen stets noch ein wenig stärker erwärmten, als die frei exponirten Blätter. — Die Zahlen geben also nicht den Säureunterschied von Morgen und Abend an, wo ja neben der Lichtzersetzung noch die gewöhnliche allgemeine Säurezersetzung einherläuft, sondern den Unterschied von den Tag über dunkel gehaltenen und belichteten Blättern, wodurch also die allgemeine Säurezersetzung eliminirt ward, abgesehen davon, dass man dadurch auch bei der gleichzeitigen Verarbeitung der Blätter sie in jeder Beziehung gleichen Verhältnissen aussetzen konnte. — Dies ist besonders hervorzuheben gegenüber den Versuchen von KRAUS und DE VRIES, welche die Wärmewirkung der Sonnenstrahlen unberücksichtigt ließen (bei DE VRIES dadurch erklärt, dass er erst am Ende seiner Arbeit auf die intensive Wärmeentsäuerung aufmerksam wurde), weswegen beider Experimente in Bezug auf Entsäuerung im Lichte leider nur mit Vorsicht aufzunehmen sein werden, d. h. nur da ohne Nachprüfung Geltung haben, wo die gefundene Größe der Säuredifferenzen das muthmaßliche Fehlermaximum übersteigt.

Zu den Fettpflanzen wären als wesentlichste etwa zu rechnen die Crasulaceen, die Cacteen, die aloëartigen Gewächse, einige Euphorbiaceen, die

Stapelien, vielleicht einzelne Asclepiadeen, die Mesembryanthemum-Arten, auch einige Portulacaceen, vielleicht noch die fleischigen Compositen (Senecio und Kleinia-Arten). Untersuchen wir bei den Blättern, resp. den die assimilatorische Funktion übernehmenden Stengelgliedern die Säuremenge der belichteten und dunkel gehaltenen Theile (Tab. III, A), so finden wir bei den meisten eine deutliche starke Säureabnahme durch die Belichtung, nur bei einzelnen Arten keine oder nur eine geringe. Keine Säureabnahme zeigte vor Allem das großblättrige Mesembryanthemum linguiforme, außerdem Portulaca grandiflora (freilich ist hier der Säuregehalt wegen der schleimigen Beschaffenheit des Saftes nur schlecht zu bestimmen) und Kleinia articulata (für Mesembryanthemum und Portulaca wurde von DE VRIES das Analoge in Bezug auf Säurezunahme in der Nacht konstatiert; die von KRAUS konstatierte Säureabnahme am Tage für Mesembryanthemum maximum, albinotum, depressum muss wegen der oben angedeuteten Fehlerquelle zweifelhaft bleiben). Mesembryanthemum anthelminticum und multiflos schlossen sich hingegen den übrigen Fettpflanzen an, und auch Kleinia ficoides und in außerordentlich starkem Grade Senecio crassifolia zeigten Säureabnahme. Man ist also wohl berechtigt, diese Säureabnahme wirklich als eine allgemeine Eigenthümlichkeit der Fettpflanzen zu betrachten, und die entgegengesetzten Fälle als durch spezielle Ursachen bedingte Ausnahmen anzusehen.

Nach KRAUS soll nun diese Eigenschaft in allen Pflanzen in stärkerem oder geringerem Grade sich finden. Ich kann diese Verallgemeinerung nicht für richtig halten, und muss seine Resultate für gewisse Fälle eben dem Temperatureinfluss zuschreiben. — Bei einer ganzen Anzahl dünnblättriger Pflanzen konnten über die Fehlergrenze hinausgehende Unterschiede nicht aufgefunden werden. — Minimale Änderungen wären trotzdem natürlich möglich und sind vielleicht theoretisch anzunehmen, irgend ein sichtbarer Einfluss des Lichtes lässt sich aber häufig nicht konstatiren; wenn er für diese Fälle existirte, würde er hinter dem Einfluss der Temperatur und der inneren Kräfte verschwinden. — Auch DE VRIES konnte für eine Anzahl Pflanzen keine nächtliche Säurezunahme konstatiren, und eine sich täglich wiederholende Abnahme am Tageslicht ohne nächtliche Zunahme wäre ein Widerspruch. Neben den dickblättrigen oben angeführten Beispielen ohne Säureabnahme am Lichte seien hier eine Reihe dünnblättriger aus den verschiedensten Familien zitiert: Convallaria majalis, Amaryllis Johnsonii, Anthurium Scherzerianum, Nymphaea Lotus, Clusia rosea, Camellia japonica, Citrus aurantiacus, Allamanda sp., Nerium Oleander, Eucalyptus globulus, Eryngium spinosissimum, Begonia Warczewiczii, Cyclamen persicum, Aeschynanthus splendens, Ficus elastica und glabrata, Hedera Helix (?) (Tab. III, B). — Wo analoge Versuche bei diesen Pflanzen in der Nacht angestellt wurden, zeigte sich selbstverständlich auch keine Säurezunahme. — Kann man freilich bei einzelnen dieser Pflanzen einwerfen, dass der

geringe Säuregehalt keine Verminderung mehr zulasse, so ist zu bemerken, dass er fast überall größer ist, als bei den Fettpflanzen zur Zeit des geringsten Säuregehaltes, und manche Pflanzen trotz noch viel geringeren Säuregehaltes doch starken Säurewechsel zeigen; andererseits zeichnen sich verschiedene untersuchte Arten, *Begonia*, *Clusia*, *Citrus*, gerade durch eine außerordentliche Menge Säure aus.

Trotzdem ist die Lichtentsäuerung keineswegs auf die eigentlichen Fettpflanzen beschränkt, wir werden im Gegentheil bestimmte dünnblättrige Pflanzen kennen lernen, die gleichfalls dies Phänomen in hervorragendem Maße zeigen. Man findet alle Abstufungen; sich direkt anschließend an die Fettpflanzen, in Bezug auf die Quantität der zersetzten Säure wohl die meisten übertreffend, sind zwei Familien, wo man es wohl nicht erwarten würde, nämlich die *Bromeliaceen* und die *Orchideen*. — Von ersteren wurde untersucht (Tab. III, C): *Nidularia Mayendorffii*, *Tillandsia biflora*, *Aechmea Weilbachii*, *Hoplophytum grande*, *Bilbergia zebrina*, *Acanthostachys strobilaceus*, *Deyckia remotiflora*, *Ananassa sativa*, und ein Blick auf die Tabelle lehrt, was für außerordentliche Säureabnahmen im Lichte die meisten dieser Pflanzen zeigen.

Von den *Orchideen* seien erwähnt (Tab. III, D): die Blätter von *Maxillaria aromatica*, *Cymbidium chinense*, *Ornithidium densum*, *Oncidium* sp., *Vanilla planifolia*, *Cattleya* sp., und merkwürdigerweise bieten die knollenartigen Internodien eine relativ geringe Säureabnahme, z. B. bei *Acropegia Loddigesii*, *Maxillaria aromatica*. Neben *Ornithidium*, *Cattleya*, *Vanilla* mit dicken Blättern zeigen keine Säureabnahme *Oncidium*, *Cymbidium*, *Maxillaria* mit dünnen Blättern. Man erkennt auch aus einzelnen dieser Beispiele, dass ein schon außerordentlich geringer Säuregehalt am Morgen doch noch weitere Entsäuerung zulässt. — Die einheimischen Sumpforchideen wurden leider nicht untersucht, doch ist es kaum anzunehmen, dass sie bei ihrer verschiedenen Lebensart und Anpassung das Phänomen auch zeigen sollten.

Die übrigen untersuchten Familien zeigen nun meist eine viel geringere Säureabnahme, doch ist es nach Arten, ja vielleicht sogar individuell recht verschieden. — Es seien angeführt (Tab. III, E): *Haemanthus albus*, *Sanseveria fasciata*, *Pancreatum* sp., *Clivia nobilis*, *Tradescantia discolor* (zeigte ein anderes Mal nur einen kleinen Unterschied), *Phoenix dactylifera*, — *Saxifraga elatior*, *Polygonum platycladon*, *Grevillea robusta*, *Hakea laurina*, *Acacia falcata*, *Croton magnum*, *Xylophyllum angustifolium*, *Rhododendron arboreum*, *Olea europaea*, *Laurus nobilis*, *Ilex caprifolium*, *Pimentum vulgare*, *Franciscea* sp., *Norantea guianensis*, — *Pinus sylvestris*, *Podocarpus* sp., *Ceratozamia mexicana*, *Encephalartos horridus* — *Polypodium ireoides*.

Man sieht also, dass aus den verschiedensten Familien Vertreter diese Säureabnahme der Blätter am Lichte zeigen, und zwar *Dicotyledonen*,

Monocotyledonen, Gymnospermen, Cycadeen und Farne. — Es wird aber Jedem auffallen, dass die Pflanzen, welche diese Verhältnisse zeigen, eine gewisse gleichartige Vegetationsform darstellen, beruhend auf verschiedener, aber demselben Zweck zustrebender Anpassung. — Es sind mehr oder weniger alle Pflanzen mit speziellem Schutz gegen die Transpiration.

Bei den wirklichen Fettpflanzen liegt die Sache ja von vornherein klar; massige gedrungene Ausbildung, starke Cuticula, wenig Spaltöffnungen und schwach entwickeltes Intercellularnetz, bei einigen auch (Aloë, manchen Cacteen etc.) zentrales Wassergewebe, vereinigen sich, um es den Pflanzen zu ermöglichen, in sonnigen, heißen Gegenden mit nur zeitweiliger Bewässerung fürlieb zu nehmen oder gar lange Perioden der Dürre und Trockenheit zu überstehen (Mexikanische Steppenflora, Savannen von Venezuela, Kapflora). Neben diesen müssen auch die epiphytischen tropischen Bromeliaceen und Orchideen mit ihrem Wassergehalt haushälterisch umgehen, um die einzig durch Thau und Regen periodisch gelieferte Feuchtigkeit gegen die dort intensive Verdunstung zu schützen; sie haben zu diesem Zwecke einerseits spezielle Vorrichtungen erworben, zu Wasserbehältern umgestaltete Blattbasen (Bromeliaceen), knollenartig verdickte Glieder (Orchideen), andererseits wissen sie sich durch dicke Blätter, starke Cuticula, doppelte Epidermis (Orchideen), sklerotische Zelllagen unter derselben (Bromeliaceen), Beschränkung der Spaltöffnungen, Wachüberzüge, ferner auch durch Wassergewebe gegen größeren Verlust zu schützen.

Weniger gut geschützt sind die Blätter der Pflanzen mit knollen- oder zwiebelartig verdickten Rhizomen; z. B. die Amaryllideen, Liliaceen und andere Charakterpflanzen der Kapgegenden und der asiatischen Steppen. — Sie bringen während der Trockenperiode ihre Assimilationsprodukte in der Erde in Sicherheit, und opfern dann ihre entleerten Blätter; trotzdem finden auch hier die meist etwas fleischigen Blätter einen gewissen Schutz durch dicke Cuticula, geringere Häufigkeit der Spaltöffnungen und schwache Ausbildung des Intercellularsystems. — Auch die harten, lederartigen Blätter¹⁾ der Mittelmeerflora schützen sich durch dieselben Mittel gegen zu große Transpiration, namentlich durch sehr starke Ausbildung der Außenwand der Epidermis, indem auch hier wieder verdeckt liegende Spaltöffnungen, Wachüberzüge und sklerotische Elemente unterhalb der Epidermis hinzukommen, was gleichfalls bei den Nadelhölzern der Fall ist.

Alle diese Pflanzen sind es nun auch, welche die Säureabnahme im Lichte zeigen, und zwar kann man sagen, im Allgemeinen proportional den Schutzmitteln derselben gegen Transpiration. — Nur das Schutzmittel des Wassergewebes scheint hier nicht von Einfluss zu sein, wenigstens nicht bei Mangel anderen Schutzes, indem sowohl Pflanzen mit innerem stark

1) Nach WIESNER (Sitzungsber. d. Wien. Akad. Bd. 64 I p. 497) haben die immergrünen Blätter eine geringere Transpiration als die sich jährlich erneuernden.

ausgebildeten Wassergewebe (wie Mesembryanthemum, Kleinia), als auch mit äußerem (Tradescantia, Aeschynanthus, Begonia) trotzdem keine Lichtabnahme der Säure aufweisen. — Piperaceen taugen wegen undeutlicher Reaktion schlecht hierzu, zeigen jedoch keinenfalls große Differenzen trotz sehr starken Wassergewebes. — Diese scheinbare Ausnahme wird leicht erklärlich durch die Überlegung, dass das Wassergewebe ja kein Schutz gegen die Transpiration selbst ist, sondern nur als Wasserreservoir die Pflanze vor Austrocknung bewahrt. — Es würde zu weit führen¹⁾, wollten wir das, was eben in groben Umrissen gezeichnet wurde, jetzt für die einzelnen Fälle durchführen; soweit wir die Einzelheiten untersuchten, waren stets derartige Beziehungen deutlich nachweisbar, und auch die Gesammterscheinungen der angeführten Pflanzen sprechen zu deutlich, als dass man diese Beziehungen verkennen könnte. — Da eine Folge dieser Schutzmaßregeln naturgemäß eine verschieden große Widerstandsfähigkeit der abgeschnittenen Blätter gegen Austrocknung ist, so hat man denn im schnelleren und langsameren Welken einen zwar groben, aber im Ganzen genügenden²⁾ Maßstab für die größeren oder geringeren Anpassungen, und in der That ließ sich eine Proportion erkennen zwischen Widerstandsfähigkeit gegen das Welken und Säureabnahme im Lichte. Einzelne Schwierigkeiten bleiben immerhin, z. B. wird man von *Ficus elastica* nach der anatomischen Struktur wenigstens eine geringe Säureabnahme erwarten dürfen; jedoch kann es nicht in unserer Absicht liegen, ein völlig abgeschlossenes und lückenloses Bild dieser Beziehungen zu geben, dazu reichte die Zahl der Versuche nicht aus; es galt hier nur, im Gegensatz zu der früheren Ansicht, welche die Dicke der Organe in den Vordergrund stellt, auf die allgemeine Relation hinzuweisen zwischen Schutz gegen Transpiration und Säureabnahme im Licht.

II. Bedingungen der Lichtentsäuerung.

Verhalten chlorophyllloser Theile zur Lichtentsäuerung.

Bis jetzt haben wir nur grüne Theile untersucht; es fragt sich, wie verhalten sich die chlorophylllosen Organe? Die früheren Untersuchungen

1) Zur allgemeinen Bestätigung sei außer auf die anatomischen und pflanzengeographischen Handbücher hingewiesen auf Tschirch »Über einige Bezieh. des anat. Baues der Assimilationsorg. zu Klima u. Standort«. *Linnaea*, Neue Folge. Bd. IX. WESTERMAIER »Über Bau u. Funktion des pflanzl. Hautgewebesystems«. *Pringsh. Jahrb.* Bd. XIV. — VOLKENS »Beziehung. zu Standort u. anatom. Bau der Vegetationsorg.«. *Jahrb. d. kgl. bot. Gart. zu Berlin* III. 1884. — SCHIMPER »Die Epiphyten Westindiens«. *Bot. Zentralbl.* 1884. — P. KRÜGER »Oberirdische Vegetationsorg. der Orchideen in ihr. Bezieh. zu Klima u. Standort«. *Flora* 1883, und speziell E. PFITZER's Beiträge zur Kenntnis der Hautgewebe der Pflanzen (*Jahrb. f. wiss. Botanik* VIII).

2) Steifungseinrichtungen der Blätter verhindern häufig die äußeren Erscheinungen des Welkens, doch ist dann meist wenigstens eine geringe Einrollung sichtbar.

geben keinen Aufschluss über diese Frage. Es wurden untersucht Blüten, Früchte, farbige Blätter, außerdem von farblosem Gewebe Wurzeln und Knollen, Wassergewebe und etiolirte Theile.

Von Blüthen theilen (Tab. IV, A) wurden geprüft *Aloë latifolia*, *Amaryllis Johnsonii*, *Nidularia Mayendorffii*, *Cattleya* sp., *Cymbidium chinense* (hiervon auch der Blütenstiel) als Monocotyledonen, *Mesembryanthemum* sp., *Echeveria retusa*, *Sempervivum Wulfenii*, *Sempervivum Funkii*, *Sedum altaicum*, *Sedum roseum*, *Crassula* sp., *Cereus* sp., *Opuntia* sp., *Portulaca grandiflora*, *Helianthus annuus*, *Begonia* sp., *Saxifraga elatior*. Von Früchten (Tab. IV, B): *Aechmea Weilbachii*, *Echeveria retusa* (junge Kapseln), ebenso *Sedum roseum*, *Sedum altaicum*, *Opuntia Ficus indica*, Glaskirschen, Stachelbeeren, Zwetschen, Äpfel.

Farbige Blätter (Tab. IV, C): Rothe Schaubblätter von *Nidularia Mayendorffii*, rothe Blütenhülle von *Anthurium Scherzerianum*.

Wurzeln und Knollen (Tab. IV, D): *Sempervivum tectorum*, Kartoffel.

Chlorophyllfreies Wassergewebe (Tab. IV, E): *Aloë arbore-scens*, *Aloë xanthacantha*.

Etiolirte Pflanzen (Tab. IV, F): *Phaseolus multiflorus*, *Sempervivum tectorum*.

Alle diese Pflanzentheile ließen, falls die Wärmewirkung eliminirt wurde, keine oder höchstens einzeln nur eine unbedeutende, innerhalb der Fehlergrenze liegende Säureabnahme am Lichte erkennen. Namentlich bei den Fettpflanzen, Orchideen und Bromeliaceen, tritt der Unterschied zwischen den nicht grünen, ev. andersfarbigen Theilen und den chlorophyllhaltigen ausserordentlich prägnant hervor; man könnte den Einwurf machen, dass bei den Fettpflanzen die Blüten lange nicht in dem Maße gegen Transpiration geschützt seien, und dass dies, nicht der Mangel an Chlorophyll, der Grund der fehlenden Säureabnahme sei. Erstens ist in Bezug hierauf auf die Früchte (auch von *Opuntia*) zu verweisen, die sehr gut gegen Transpiration geschützt sind, zweitens auf die Knollen und Wurzeln. Am beweiskräftigsten dürften aber die rothen Schaubblätter von *Nidularia* sein, die nicht nur ganz ebenso gebaut sind wie die grünen, sondern auch allmähliche Uebergänge in die grünen zeigen, sodass oft die obere Hälfte des Blattes grün, die untere roth ist. Meist findet man dann noch einzelne Chlorophyllkörner in dem rothen Theile, aber im Verhältnis zum grünen Theil außerordentlich spärlich (nur in dem die Lakunen durchziehenden Schwammparenchym) und, wie es scheint, auch etwas verschrumpft; auch diese rothen Theile zeigen im Verhältnis zur grünen Spitze nur eine geringe Säureabnahme im Lichte. Gleichfalls beweiskräftig dürfte sein, dass kirschgroße, intensiv grüne Früchte von *Citrus* im Gegensatz zu den übrigen Früchten eine deutliche Säureabnahme zeigten. — KRAUS giebt für etiolirte Keimpflanzen nach der Exposition eine Säureverminderung an, doch sind auch

hier seine Unterschiede sehr gering, und leicht durch Wärmeentsäuerung, sowie durch das Mittitriren der Kohlensäure bei den Dunkelpflanzen zu erklären. —

Verhalten im rothen und blauen Theile des Spektrums.

Ist es nach dem Bisherigen klar, dass die starke Lichtentsäuerung entweder mit der Chlorophyllfunktion selbst oder mit einer anderen, mit dieser parallel gehenden Funktion chlorophyllhaltiger Zellen in Verbindung stehen muss, so würde, falls auch die Entsäuerung wie die Chlorophyllfunktion durch die weniger brechbaren Strahlen des Spektrums begünstigt wird, dies sehr zu Gunsten einer ursächlichen Beziehung zwischen diesen beiden Funktionen sprechen. Die Versuche von KRAUS widersprechen völlig denen von DE VRIES, welcher letzterer behauptet, dass die Wirkung beider Theile des Spektrums die gleiche sei; doch zeigt die genau beschriebene Versuchsanstellung schon, dass hier die Wärme eine große Rolle spielen musste (am 3. August, in Kästen mit den Glasplatten nach oben, im Freien und Vormittags Sonne). Auch lassen farbige Gläser (namentlich die blauen) fast immer ein beträchtliches Quantum der Strahlen der auszulöschenden Hälfte durch, wie man sich spektroskopisch leicht überzeugen kann, Lösungen sind stets vorzuziehen; trotzdem zeigen von seinen 7 Versuchen 4 einen Unterschied in der Entsäuerung zu Gunsten der rothen Hälfte und nur bei zweien ist die Wirkung gleich. — KRAUS dagegen schließt aus seinen Versuchen, die Organe seien in Bezug auf die Entsäuerung dem allgemeinen Gesetze untergeordnet, »dass chemische (?) Wirkungen durch die rothe Spektrumhälfte leichter (?) erzeugt werden als durch die blaue.« Sie wurden an trüben Tagen angestellt, auch in doppelwandigen Glocken, waren also auch in dieser Beziehung bis auf die Nichtberücksichtigung der Kohlensäure korrekt, jedoch wurde leider bei zwei von den vier Versuchen der Saft durch Kochen gewonnen; also sind die Resultate unzuverlässig. Es war demnach Wiederholung mit Vermeidung der Fehlerquellen nothwendig. Die Versuche wurden unter farbigen, doppelwandigen Glocken hinter einem Südwestfenster angestellt, einzelne auch in Blechkasten, in welche vorn durch eine planwandige, mit farbiger Lösung gefüllte Flasche das Licht einfiel; die Lösungen wurden vorher spektroskopisch untersucht. Sonnenlicht wurde vermieden, nur in den kalten Monaten wurden die wenig wärmenden schiefen Strahlen nicht abgeblendet.

Die Versuche (Tab. V) zeigen, dass stets der rothe Theil des Spektrums stärker an der Entsäuerung betheiligt ist, als der blaue. Bei recht heller Beleuchtung (die meist absichtlich vermieden wurde) zeigten die Blatttheile im rothen Lichte eine fast ebenso starke Säureabnahme wie im weißen Tageslichte. Nur insofern zeigt sich eine Abweichung von der sonst durchgehenden Proportionalität zwischen Chlorophyllfunktion und Entsäuerung,

als der blaue Theil des Spektrums auf die Kohlensäurezersetzung nur einen außerordentlich geringen Einfluss ausübt, während sich doch eine ziemlich deutliche Säureabnahme auch in der blauen Spektrumbälfte beobachten lässt. — Zweifelsohne würde aber, falls nicht die Athmung die Kohlensäurezersetzung kompensirte, auch in dem ersteren Fall eine deutlichere Wirkung sichtbar werden. Zum weiteren Verständnisse dieser Verschiedenheit werden wir später von selbst gelangen.

Säureabnahme am Lichte bei Kohlensäuremangel.

Eine andere Methode, um die Abhängigkeit der Lichtzersetzung von der Assimilationsthätigkeit zu erweisen, wäre unter gewöhnlichen Umständen die Belichtung in einem kohlenstofffreien Raume. Die Methode ward von DE VRIES, VON KRAUS, in anderer Weise auch von MAYER angewandt, alle mit demselben Resultate, dass die Säureabnahme auch bei Abschluss von Kohlensäure vor sich gehe, was ich nach meinen Versuchen (Tab. VI) nur bestätigen kann. Doch ist der Schluss hieraus auf das Verhältnis von Entsäuerung zur assimilatorischen Funktion nichts weniger als zwingend, denn wenn z. B. bei der Säureabnahme sich Kohlensäure bildete, so wäre hierdurch eine beständige innere und zwar, wie wir unten sehen werden (vgl. auch die Zahlen MAYER's für die Volumenvermehrung im Lichte), beträchtliche Quelle von Kohlensäure geschaffen, welcher Stoff dann sogleich innerhalb des Blattgewebes verarbeitet würde. Zweifellos würde nur der allerkleinste Theil der so entstandenen Kohlensäure der Verarbeitung entgehen, aus den dicken, für Gase unwegsamen Blättern den Weg ins Freie findend; wir haben ja einen Maßstab daran, dass schon in den dünnen, viel Oberfläche bietenden Blättern anderer Pflanzen die Kohlensäure der Athmung am Tage größtentheils innerhalb des Blattes wieder verbraucht wird. — Nur für den Fall könnte man also aus dem Verhalten im kohlenstofffreien Raume zwingende Schlüsse ziehen, dass sich erweisen ließe, dass die Säuren bei ihrer Zersetzung keine Kohlensäure abspalten, was bis jetzt durchaus fraglich ist.

Wirkung kohlenstoffreicher Luft auf die Lichtentsäuerung.

Ein anderes Faktum dürfte aber im hohen Grade beweisend sein für Konstatirung einer engen Beziehung zwischen Assimilationsfunktion und Lichtentsäuerung. Dies ist nämlich der Einfluss eines größeren Kohlensäuregehaltes der Luft; es zeigt sich nämlich die auffällige Thatsache (Tab. VII, A), dass bei einem höheren Kohlensäuregehalt (der dazu nöthige Procentgehalt ist verschieden nach Spezies und, wie es scheint, nach Intensität der Beleuchtung) für gewöhnlich die Säureabnahme am Lichte nicht mehr statt-

findet, ohne dass anscheinend das Blatt wirklich gelitten hätte. — Bei 20 bis 25% Kohlensäure, einer Menge, die nach GODLEWSKI (Arbeiten des Würzburger Instituts Bd. I, Heft 3) auf die Assimilation noch kaum schädigend wirken soll, tritt das Faktum stets klar und deutlich auf, aber schon bei 10—12% ist die Abnahme bei Bryophyllum nur noch eine geringe. Lange Zeit hielten wir dies für eine spezielle Wirkung der Kohlensäure auf den Prozess der Entsäuerung, was zu manchen fruchtlosen Versuchen führte; später fanden wir aber, dass gerade bei den Fettpflanzen auch dieser Prozentgehalt genügt, um die Assimilation zu verhindern oder auf einen Bruchtheil herunterzudrücken, so dass die durch GODLEWSKI'S Experimente gebildeten Ansichten in Bezug auf Verhältnis von Kohlensäuregehalt und Assimilation einer bedeutenderen Modifikation bedürfen. — Dies wird im Anhang näher erörtert werden.

Um übrigens hier eine Beziehung zwischen assimilatorischer Funktion und Entsäuerung konstatiren zu können, müssen wir zuerst beweisen, dass hier wirklich eine Hinderung der Entsäuerung vorliegt; dass hier also erstens keine Kohlensäureabsorption im Spiel ist, zweitens keine chemische Bindung aufgenommener Kohlensäure, drittens, dass hier keine Kompensation durch geförderte Säureproduktion in Betracht kommt, endlich viertens, dass die Pflanzentheile nicht im Allgemeinen gelitten haben.

1. Dass hier keine in Betracht kommende Absorption vorliegt, ist einerseits schon durch die angewandte Methode (s. oben) ausgeschlossen, andererseits, wie oben bewiesen, durch Geschmack, Curcumapapier, Auspumpen der Blätter und kurzes Aufkochen; Erwärmen auf dem Wasserbad, dann unter Luftpumpe längere Zeit Kochen; durch Fällung des Filtrates mit Baryt und Untersuchung des Niederschlages auf Kohlensäure. Beweiskräftig dafür ist auch, dass Bryophyllumblätter in der Nacht in kohlen-säurereicher Luft nicht mehr an Säure zunehmen, als in gewöhnlicher Luft (Tab. VII, B), was bei eventueller Absorption der Fall sein müsste. — Auch lässt sich aus Bryophyllumblättern, die in 25% Kohlensäure dem Lichte exponirt waren, am Abend durch Kalkwasserzusatz mehr in Wasser lösliches Calciumsalz einer organischen Säure gewinnen, als nach einfacher Belichtung der Blätter. Die Blätter (38 g) wurden in zwei Theile getheilt und auf die bekannte Weise exponirt. Verrießen und 4½ Stunde auf dem Wasserbade ergaben sie beim Titriren aliquoter Theile ein Säureverhältnis von 39,8 : 84,7 (in kohlen-säurehaltiger Luft). Mit Kalk neutralisirt und dann filtrirt (Entfernung phosphorsaurer und eventuell kohlen-sauer Salze) wurde durch Alkohol-fällung erhalten 0,246 und 0,359 g Calciumsalz; also Differenz 0,113 g (nach der Berechnung aus dem verschiedenen Titer brauchte die Differenz nur 0,097 g zu betragen); also jedenfalls ein bedeutender Säureunterschied, der die Fehler (in verschiedenem Verhältnis mit niedergerissenen Substanzen) jedenfalls weit übersteigt.

2. Dass hier keine Aufnahme und vielleicht chemische Anlagerung von

Kohlensäure im Spiele war, wird dadurch bewiesen, dass dann auch die Säureabnahme in der Wärme oder bei längerem Verweilen im Dunkeln durch Kohlensäure gehindert werden müsse, was für alle Fälle, wo das Blatt nicht sichtbar gelitten hat, nicht geschehen ist (Tab. VII, C). Selbstverständlich vermögen auch tote Blätter keine Kohlensäure anzulagern (Tab. VII, D). Auch müsste nach halbbeendeter Säureabnahme am Lichte durch Zufuhr von Kohlensäure in diffusem Lichte der Säuregehalt wieder stark gesteigert werden, was auch nicht der Fall ist (Tab. VII, E); der Säuregehalt vermehrt sich in diesen Fällen nur ganz langsam, ungefähr wie sonst in der Nacht; also langsam im Vergleich mit der Schnelligkeit der Entsäuerung im Lichte, während eine Anlagerung, wenn sie die Säureabnahme kompensieren soll, eine gleiche Intensität besitzen müsste.

Häufig findet man, dass bei einem stärkeren Kohlensäuregehalt der Luft die Säuremenge des Blattes am Nachmittage größer ist, als am Morgen (Tab. VII, F), was also bei Ausschluss der eben widerlegten Möglichkeit beweist, dass auch am Tage Säurebildung stattfindet (und auf diesen Beweis wurde oben schon verwiesen).

3. Man könnte wohl hierdurch auf den Gedanken kommen, dass die Kohlensäure einen begünstigenden Einfluss auf die Säurebildung habe, und dass also durch die stärkere Ansäuerung die Lichtentsäuerung kompensiert würde. Doch dann wäre es wunderbar, dass die Säurekompensation schon gleich in der ersten Stunde der Lichtwirkung beginnen (Tab. VII, G), und also genau der Lichtentsäuerung parallel gehen soll. Auch zeigt sich in kohlenstoffsäurereicher Luft sowohl im blauen wie im rothen Spektrumtheile eine ungefähre Säurekonstanz (Tab. VII, H), man müsste also unter der Annahme einer Kompensation folgern, dass auch die Ansäuerung in kohlenstoffsäurereicher Luft durch das gelbe Licht im Gegensatz zum blauen begünstigt wird, was recht unwahrscheinlich ist. Entscheidend dagegen ist einerseits das Fehlen des Kohlensäureeinflusses während der Entsäuerung durch andauernde Dunkelheit oder durch Wärme, und andererseits das Verhalten der nicht chlorophyllhaltigen Theile, die in kohlenstoffsäurereicher Luft keine Säurevermehrung zeigen (Tab. VIII).

4. Wichtiger ist die Diskussion der Frage, ob die Kohlensäure in dem angewandten Verhältnis nicht vielleicht eine allgemein schädigende Wirkung auf die Lebensprozesse der Fettpflanzen ausübt. In der That weisen einzelne Thatsachen, die SAUSSURE schon anführt, darauf hin, dass diese Pflanzen weniger Widerstandsfähigkeit zeigen, als die anderen, und einzelne Versuche an Bryophyllum bei gleichem Kohlensäuregehalt wie oben in größerer Wärme (35°) zeigen, dass die Pflanze bei längerer Dauer in der That hierdurch leidet; Injektion der Intercellularen, schließlich Missfärbung der Blätter und Hinderung der Entsäuerung sind die sichtbaren Zeichen. Bei gewöhnlicher Temperatur hingegen zeigen sich alle diese Merkmale schädigender Wirkung nicht; so z. B. nimmt die Säure in der Nacht in einer

42% kohlenensäurehaltenden Luft ebenso beträchtlich zu wie sonst; nach längerem Aufenthalt in kohlenäurereicher Atmosphäre zeigt sich Licht- und Wärmeentsäuerung, ebenso Dunkelansäuerung in gewohnter Weise (Tab. IX, A); auch leidet die Athmung (gemessen durch die expirirte Kohlenensäuremenge) während des Aufenthalts in 46% CO² nicht (Tab. IX, B); 25—30% Kohlensäure beeinträchtigt dagegen die Säurezunahme in der Nacht manchmal, aber nur wenig, auch scheint Aloë arborescens recht empfindlich gegen kurzen Aufenthalt in 75% CO² zu sein (Tab. IX, C). — Gegen die Ansicht, dass Kohlensäure gerade im Lichte die ganze Pflanze stark schädige, spricht der Umstand, dass nach Lichtexposition in einer Atmosphäre von 25% Kohlensäure die Pflanze sich in der Wärme in gewohnter Weise entsäuert (Tab. IX, A); ebenso, falls man nach einigen Stunden Belichtung in kohlenäurereicher Luft die Pflanze wieder in gewöhnlicher Luft dem Tageslichte aussetzt. Auch wurde eine Pflanze in ca. 20% kohlenensäurehaltiger Luft längere Zeit gehalten; in der ersten Woche, wo dreimal die Luftmischung erneuert wurde, zeigte sich weder Injektion noch Welken; es sprossen sogar in der feuchten Atmosphäre vom Stengel eine Anzahl bis centimeterlanger Würzelchen aus; auch in der zweiten Woche war die Pflanze noch ziemlich gesund, nur wurden die Blätter schlaff, und fingen am Ende derselben an zu kränkeln, so dass bis Mitte der dritten Woche die vom Schimmel bedeckten, injicirten Blätter abfielen, ein Resultat, das aber auch durch die der Quecksilberdämpfe halber nöthige Feuchtigkeit und Wassersättigung der Atmosphäre, oder durch die dauernde Hinderung der assimilatorischen Funktion hervorgebracht sein kann. — Jedenfalls sieht man also hieraus, dass die Hinderung der allgemeinen Lebensprozesse auch bei Bryophyllum durch ca. 20—25% Kohlensäure eine nur ganz allmähliche ist, indem Athmung, Wachsthum, Turgor, Säurezunahme im Dunkeln etc. in der ersten Zeit nicht merklich leiden.

Nur die Assimilation wird schon durch einen Kohlensäuregehalt von 42% außerordentlich gehindert, ja meist völlig gehemmt, und dasselbe ist der Fall mit der Lichtentsäuerung; eine Parallelität, welche namentlich in Anbetracht des Umstandes, dass diese Hinderung der Entsäuerung nur dort in Erscheinung tritt, wo auch die assimilatorische Funktion thätig sein kann, deutlich auf eine Zusammengehörigkeit dieser beiden Funktionen hinweist. Da aber nach Allem, was wir wissen, nicht angenommen werden kann, dass die assimilatorische Thätigkeit von der Entsäuerung am Lichte abhängt, kann man eben nur das Umgekehrte für möglich halten, oder muss beide Funktionen von derselben Ursache abhängig sein lassen.

Um die Resultate des Abschnittes II zu rekapituliren, so beweist die Nichtentsäuerung chlorophyllloser und etiolirter Theile, dass die Entsäuerung keine allgemeine Lichtwirkung auf die Pflanzen (resp. dicken Organe derselben) ist; die schwächere Wirkung der stärker brechbaren Hälfte des Spektrums auf die Entsäuerung beweist, dass hier keine auf das Plasma

chlorophyllhaltiger Zellen beschränkte chemische Reizwirkung des Lichtes anzunehmen ist, während umgekehrt das Verhalten der nicht chlorophyllhaltigen und etiolirten Theile, sowie das Verhalten der grünen Theile in farbigem Lichte und in kohlenensäurereicher Luft beweisen, dass die Säureabnahme im Lichte einerseits nur in chlorophyllhaltigen Zellen vor sich geht, andererseits mit der assimilatorischen Funktion in direktem Zusammenhang steht, wogegen aus der Lichtentsäuerung in kohlenensäurefreier Luft ein ernster Einwand nicht herzuleiten sein dürfte.

III. Verhältnis von Lichtentsäuerung zur Assimilation.

Die Frage, ob die Säuren direkt in den Assimilationsprozess hineingezogen werden, kann zweierlei Bedeutung haben. Einerseits wäre es denkbar, dass der wie gewöhnlich verlaufende Kohlenensäureassimilationsprozess von den Säuren unabhängig ist, dieselben aber auf irgend eine Weise in den Prozess hineinzieht, wogegen entschieden die Thatsache spricht, dass auch in kohlenensäurefreiem Raum die Entsäuerung beträchtlich vor sich geht, obgleich hier ja der die Säuren ev. hineinreißende Prozess im Anfang ganz fehlt und später doch nur von verhältnismäßig geringer Energie sein kann (s. oben). Die andere Möglichkeit ist die, dass die Säure selbst den Stoff für den Assimilationsprozess bietet, also die Kohlenensäure gewissermaßen vertritt, und die Entsäuerung demnach als intramolekulare Assimilation aufzufassen wäre, sei es, dass die Säure als solche verarbeitet würde, sei es, dass nur die von der Säure abgespaltene Kohlenensäure dazu verwendet wird. Im ersteren Falle würde dann die Säure im Assimilationsprozess die Kohlenensäure vertreten, doch ist dies schon deshalb unwahrscheinlich, da dann doch auch das farbige Licht bei der Entsäuerung in ähnlichem Verhältnis wirken müsste wie bei der Kohlenensäurezerlegung, was nach obigem nicht ganz der Fall ist. Wenn man aber eine vorherige Kohlenensäureabspaltung irgend welcher Art aus der Säure annehmen will, so hätte man zwar einen Zusammenhang zwischen Entsäuerung und Assimilation, doch würde derselbe nicht zur Erklärung der Frage dienen können, warum ohne Assimilation keine Entsäuerung stattfindet. — Abgesehen davon würde nach allen diesen Erklärungen das verschiedene Verhalten von Fett- und gegen Transpiration geschützten Pflanzen gegen andere völlig unverständlich bleiben.

Der zweite Fall, dass die beiden Funktionen von einander unabhängig sind, aber von ein und derselben Ursache abhängen, ist kaum denkbar, weil ja alles, was die assimilatorische Thätigkeit aufhebt oder nicht in Existenz treten lässt, auch die Entsäuerung verhindert, also eine entschiedene Abhängigkeit der Entsäuerung von der Assimilation vorhanden ist.

Es bleibt nur die Annahme, dass die Entsäuerung im Lichte

zwar in den Assimilationsprozess verflochten ist, aber in mehr indirekter Weise.

Zu erörtern wäre nun vor allem die Möglichkeit, dass durch die Assimilation in Folge der Bildung leicht verbrennlicher Kohlehydrate der gesammte Stoffwechsel erhöht wird, was ja in der That vielfach konstatiert ist, und dass eine Folge hiervon auch die stärkere Säurezersetzung sei. Dagegen spricht 1) das Verhalten im blauen Licht, 2) die sofort in der ersten Stunde beginnende Säureabnahme (Tab. II, E, F), 3) das Aufhören der Säureabnahme kurz nach künstlicher Verdunkelung (Tab. II, I), 4) müsste, wie wir unten sehen werden, durch stärkeren Stoffwechsel auch die Säureproduktion vermehrt und daher umgekehrt eher eine Art Ausgleich herbeigeführt werden; ferner 5) fällt das Minimum der Säure und der Anfang der Säurezunahme gerade auf den Nachmittag (Tab. II, F), wo die stärkste Assimilation gerade gewesen ist und man deshalb auch den größten Stoffwechsel erwarten sollte, 6) entscheidend spricht wieder das Verhalten im kohlenstofffreien Raume (Tab. VI) dagegen, auch ist 7) die begrenzte Verbreitung der Lichtentsäuerung nicht damit in Einklang zu bringen. — Also die Vermehrung der Kohlehydrate durch den Assimilationsprozess wird schwerlich die Ursache der rapiden Säurezersetzung sein.

Einfluss des Sauerstoffes auf die Säureabnahme im Lichte.

Untersuchen wir jetzt den bei der Assimilation gebildeten Sauerstoff in seiner Wirkung auf den Entsäuerungsprozess. In der That finden wir durch die Annahme, dass dieser Sauerstoff die Ursache der Entsäuerung ist, alle aufgezählten Schwierigkeiten beseitigt. Die sofort bei der Beleuchtung beginnende Säureabnahme, das Aufhören derselben kurz nach der Verdunkelung, das Verhalten im blauen Lichte im Gegensatz zum gelben, und auch die verhältnismäßig starke Wirkung des blauen Lichtes auf die Entsäuerung ist leicht verständlich, ferner der geringe Unterschied, den direkte Besonnung (bei Ausschluss der Wärme) macht im Verhältnis zum hellen Tageslicht (Tab. II, E); dann auch die Beschränkung der Säureabnahme auf die chlorophyllhaltigen Theile; auch das Verhalten in kohlenstofffreiem Raume ist verständlich (da bei der Entsäuerung sich in den Zellen Sauerstoff bildet, nach MAYER, siehe unten). Endlich spricht das biologische Vorkommen der Säureabnahme im Lichte mit Entschiedenheit für diese Erklärung.

Es sind lauter Pflanzen mit ausgeprägten Schutzmitteln gegen Transpiration und implicite demgemäß gegen Gasaustausch; starke Cuticula, relativ geringe Zahl der Spaltöffnungen, dickes Gewebe, Kleinheit der Inter-cellularen, doppelte Epidermis, Sklerenchymunterlage derselben sind, wie oben erörtert, die Hauptmomente. Dagegen zeigen die Pflanzen, die durch

Wassergewebe gegen Austrocknung geschützt sind, ohne zugleich bedeutendere Anpassungen für die Verminderung des Gasaustausches zu besitzen (Kleinia und Mesembryanthemum-Arten), die Säureabnahme im Lichte nicht.

Lichtentsäuerung bei Ausschluss freien Sauerstoffes.

Dass in der That in den Fettpflanzen relativer Sauerstoffmangel ist, erkennt man daran, dass man ein Produkt der intramolekularen Athmung, nämlich Alkohol, in denselben, wenn auch nur in geringer Menge, nachweisen kann. In der That zeigt das Destillat des vorher alkalisch gemachten Saftes von Bryophyllum und Sempervivum mittels der LIEBEN'schen Jodoformreaktion, des Benzoylchlorids und der Essigsäureätherreaktion, auch durch schwachen Aldehydgeruch nach Behandlung mit chromsaurem Kali die Anwesenheit von etwas Alkohol an. Man ist zu dieser Annahme um so mehr berechtigt, da in demselben Destillate Acetaldehyd, welches auch die LIEBEN'sche Reaktion zeigt, nicht durch den Silberspiegel nachgewiesen werden konnte, womit jedoch die Möglichkeit spurweiser Anwesenheit nicht geleugnet werden soll. Auch die Säuren, von denen einzelne gleichfalls die LIEBEN'sche Reaktion geben, waren durch vorherige Neutralisation aus dem Destillate ausgeschlossen. — Es sei hier auch auf GUTZEIT's (Üb. d. Vorkommen des Äthylalkoh. im Pflanzenr. Dissert. 1875; »Beiträge zur Pflanzenchemie 1879«) Nachweis von Alkohol in den unreifen Früchten von *Heracleum giganteum*, *Pastinaca sativa* und *Anthriscus cerefolium* hingewiesen, welche Früchte gewisse Analogie mit den dicken Theilen der Fettpflanzen und namentlich mit den ja auch Lichtentsäuerung zeigenden Früchten von *Citrus* besitzen. Auch zeigen die Analysen der aus den Fettpflanzen (*Cactus*) ausgepumpten Luft (*Recherches chimiques* p. 68) deutlich genug einen stark verringerten Sauerstoffgehalt; auch ich konnte trotz für den Sauerstoffkonsum der Pflanze ziemlich ungünstiger Bedingungen aus *Opuntia Tuna* kaum 12% Sauerstoff enthaltende Luft durch Auskochen gewinnen.

Da sich die Früchte in Bezug auf Schutz gegen Transpiration den Fettpflanzen ziemlich gleich verhalten, so ist es interessant, auf die verschiedenen Untersuchungen der Gase in denselben hinzuweisen. So fand FRÉMY 1844 (*Comptes rendus* t. 19 p. 784, *Recherches chimiques sur la maturation des fruits*) in der Luft aus reifen Äpfeln keinen Sauerstoff, in grünen 5% der Luft, in reifen Birnen 2%, in grünen 5%, in Weintrauben keinen Sauerstoff. Auch CAHOURS und CHATIN (beide *Comptes rendus* t. 58) fanden in verschiedenen untersuchten Früchten (*Orange*, *Citron*, *Granate*, *Apfel*) keinen Sauerstoff, obgleich der Saft 2—41% Gas enthielt; ebenso fand BENDER (*Chem. Ber.* VIII, 1875) in der Luft aus Äpfeln nur 0—2% Sauerstoff, alles Versuche, wogegen die abweichenden Resultate von LIVACHE (*Ann. chim. phys.* 1877 5. série, t. 12, p. 434), der in der Luft aus Früchten,

die er unter Alkohol auspresste, keine Spur (??) Kohlensäure fand (vergl. die entgegengesetzten Resultate von SAUSSURE, *Recherch. chim.* p. 68 Anm.), nicht in Betracht kommen können. Ferner fand auch HEINTZ (*Bot. Jahresber.* 1873 p. 360, aus d. *Zeitschr. d. Vereins für d. Rübenzuckerind.*) in Rüben keinen freien Sauerstoff und ST. PIERRE und MAGNIEN (*Ann. chim. phys.* 5 s. t. 9, 1876 p. 131) fanden schon die Luft in den Coluteahülsen sauerstoffarm (nur 9%). — Ebenso fand BOUSSINGAULT die Luft in verschiedenen Pflanzenorganen nur aus Stickstoff und Kohlensäure bestehend (*Agronomie, Chim. agric.* III p. 378, *Ann. chim. phys.* 4 s. t. 13 1868) und LAVES, GILBERT und PUGH (*Phil. transact.* II, 1861, p. 486, nach BÖHM zitiert) fanden in der im Dunkeln aus Zweigen ausgesaugten Luft bisweilen sogar weniger als 1%. Mag für diese letzteren Fälle auch BÖHM's Einwand (*Versuchsstat.* XXI p. 374), dass die Kohlensäure ev. erst während des Versuches gebildet werden könnte, einige Berechtigung haben, so kann doch während des schnellen Kochens der wenig widerstandsfähigen Blätter und Früchte höchstens eine minimale Menge Sauerstoff verbraucht werden (siehe übrigens auch BÖHM's eigene Zahlen mit weit ungünstigeren Pflanzentheilen, nämlich Syringazweigen, und bei minimaler Athmung bei — 2°. *Tab. I. u. II* p. 378).

Wenn nun überhaupt irgendwo in der Pflanze Sauerstoffmangel eintritt, so werden davon die vermuthlich in der Vakuolenflüssigkeit gelösten Säuren am ersten betroffen werden. Offenbar werden sie nur in geringer Menge in die äußeren Theile der Protoplasmaschicht hinein diffundiren können, wie daraus hervorgeht, dass hier die gegen minimale Säuremengen so empfindlichen Chlorophyllkörner liegen, die sich in unseren säurereichen Pflanzen sofort bräunen, falls man die Widerstandsfähigkeit des Protoplasmaschlauches gegen Diffusion auf irgend eine Weise aufhebt. Es geht hieraus hervor, dass die Zersetzung der Säuren, wenn überhaupt im Plasmanschlauch, besonders im inneren Theile desselben wird vor sich gehen müssen, der durch den stets Sauerstoff konsumirenden äußeren Protoplasmatheil in Bezug auf Sauerstoffzufuhr noch viel ungünstiger gestellt ist als letzterer. — Bei vielen Pflanzen, Cacteen etc., wird auch der Schleim nicht ohne Bedeutung sein können, da er nicht nur die Verdunstung des Wassers hindert, sondern auch dem Gasaustausch vielleicht ein wirksames Hindernis (wenn auch nur innerhalb der einzelnen Zellen) entgegensetzt. Es zeigt sich dies an der Schwierigkeit, aus dem Cactusschleim durch Kochen die eingeschlossenen Luftblasen zu entfernen. Sobald nun die Pflanze beleuchtet wird, wird jedes Chlorophyllkorn zu einer Sauerstoffquelle innerhalb des Plasmas; der Mangel an Sauerstoff hat aufgehört und die Zersetzung der Säuren beginnt. Wird die Luft mit Kohlensäure bereichert, so hört die Assimilation auf, die Sauerstoffquelle versiegt und die Säurezersetzung lässt nach.

Dass Sauerstoff von direktem oder indirektem Einfluss auf die Ent-

säuerung im Lichte ist, erkennt man auch daran, dass die Lichtensäuerung in Wasserstoffgas (Tab. X, A) und im luftleeren Raume (Tab. X, B), in ausgekochtem Wasser (Tab. X, C) und in Paraffineinbettung (Tab. X, D) nicht so vollständig und schnell vor sich geht wie in gewöhnlicher Luft. Dass überhaupt die Säure bei Sauerstoffmangel abnimmt, dürfte im ersten Augenblicke vielleicht befremden; doch nehmen wir überhaupt nur eine Spur freien Sauerstoffes an, beispielsweise aus intramolekular ausgeathmeter Kohlensäure durch Assimilation in Freiheit gesetzt, so kann diese Spur verwendet werden, um Säure zu zersetzen, wobei wieder Sauerstoff frei wird (entweder als solcher, oder aus Kohlensäure durch Assimilation frei gemacht), um dann denselben Prozess wiederholen zu können. Es würde auch der Theil des Sauerstoffes, der zu anderen Funktionen, beispielsweise zu normaler Athmung verwandt wird, doch durch die Assimilation der dabei gebildeten Kohlensäure wieder sofort frei werden; sodass also der im Anfang vorhandene Sauerstoff schon allein förmlich fermentativ wirken müsste; in unserem Falle aber vermehrt sich, wie die volumetrischen Verhältnisse zeigen, mit jedem Molekül zersetzter Apfelsäure auch die Sauerstoffmenge um ein Molekül, sodass nach einiger Zeit überhaupt kein Sauerstoffmangel mehr sein wird.

Wie der Sauerstoff bei diesem Prozesse wirkt, ist schwer zu entscheiden. Man könnte sich denken, dass er nur den allgemeinen Stoffwechsel förderte und die verstärkten Lebensprozesse dann die Zersetzung der Säuren bewirkten (etwa dadurch, dass sie die Affinitäten der Säurebestandtheile zu einander lösten?); andererseits ist auch eine direkte Oxydation denkbar. Doch hiervon weiter unten. Soviel ist jedenfalls klar, falls die Beziehung der Säureabnahme am Lichte zu der assimilatorischen Funktion nur auf der Säureproduktion letzterer beruht, so kann die Säure, wie es ja auch chemisch und, wie wir später sehen werden, physiologisch unwahrscheinlich ist, nicht direkt Sauerstoff abspalten; da ja sonst auch in den chlorophylllosen Theilen (Früchte, Nidulariablätter) eine stete Sauerstoffquelle gegeben wäre, welche am Lichte Säureabnahme hervorrufen müsste.

Über den allgemeinen Prozess der Entsäuerung und den Einfluss des Sauerstoffes auf denselben.

I. Bei Fettpflanzen.

Dass auch der allgemeine Prozess der Entsäuerung kein rein chemischer, sondern mit dem Leben in Beziehung stehender ist, erkennt man daran, dass nach Tödtung der Blätter durch 80°, durch Aether oder durch Chloroform die Entsäuerung (beispielsweise in der Wärme bei 35°) aufhört, ev. einer ganz langsamen Säureabnahme Platz macht (Tab. XI, A).

Dass der Prozess der Säureabnahme in der Wärme nicht in 12% Kohlen-

säure enthaltender Luft gehindert wird, wie es bei der Säureabnahme im Lichte der Fall war, wurde schon oben gezeigt. Dagegen ist die Abnahme von der Gegenwart des Sauerstoffs in hohem Maße abhängig. In Wasserstoff nimmt beispielsweise die Säure meistens in der Wärme gar nicht ab (Tab. XI, B), und dasselbe ist der Fall im luftleeren Raume (Tab. XI, C). — Freilich kann man hier bestimmt erweisen, dass eine Schädigung der Blätter vorliegt, denn über kurz oder lang injiciren sich die Blätter und werden schließlich missfarbig, abermals ein Zeichen, wie wenig Widerstandsfähigkeit die Fettpflanzen gegen gewisse Einflüsse besitzen; trotzdem müsste man, da das Absterben doch nicht plötzlich und sofort stattfindet, immerhin eine merkbare Säureverminderung erwarten. Aber auch in gewöhnlicher Temperatur zeigten die Blätter bei längerem Aufenthalt in Wasserstoff nur geringe Säureabnahme, obgleich sie diese Versuchsbedingungen weit besser ertragen. — Falls man, um die Luftzufuhr zu vermindern, die Blätter in Paraffin einbettet (Tab. XI, E), indem man die gerade schmelzende Masse mit einem Pinsel aufträgt, was z. B. von Bryophyllum ganz gut ertragen wird (Beweis: nicht Eintreten der Injection und des charakteristischen Geruches, Säureabnahme eingebetteter Blätter am Licht, Wiederaufnahme der gewöhnlichen Lebensfunktionen nach der Befreiung von dem Paraffin [Tab. XI, E]), so findet in der Wärme nur eine geringere Säureabnahme statt¹⁾. — Auch wenn man die Blätter in destillirtes ausgekochtes Wasser legt, und dann die gegen Luftzutritt abgesperrten Gläser einer Temperatur von 35° aussetzt, wird die Säure nur in geringem Grade zersetzt; falls man aber Luft durchleitet, zeigt sich wieder eine stärkere Entsäuerung (Tab. XI, D). Alle diese Versuche lassen jedoch noch die Möglichkeit offen, dass die Säurekonstanz bei Abschluss von Sauerstoff nicht der verhinderten Entsäuerung, sondern einer durch die besonderen Bedingungen vermehrten Ansäuerung zuzuschreiben ist, doch ist diese Annahme einerseits an und für sich sehr unwahrscheinlich, zumal da dann die Ansäuerung eine außerordentliche Intensität erreichen müsste, um die Wärmeentsäuerung zu kompensiren, andererseits wurden zu den Versuchen Blätter genommen, welche die Nacht über dunkel gestanden hatten, die ja dann keine bedeutende Säureproduktion mehr zeigen, und zugleich wegen des Säurereichthums für unsere Versuche recht geeignet sind. Auch müsste unter der Annahme einer Kompensation in unseren Versuchen bei gewöhnlicher Temperatur, wo ja die Entsäuerung viel schwächer ist als bei höherer Temperatur, eine bedeutende Säurevermehrung auftreten, was nicht der Fall ist. — Es wird also der allgemeine Entsäuerungsprozess durch Sauerstoffentziehung gehindert resp. sehr geschwächt.

Andererseits wird der Prozess der Entsäuerung dadurch begünstigt, dass man die Hindernisse gegen den Sauerstoff-

1) Zur Sicherheit wurde das Paraffin auf dem Wasserbade erwärmt, es blieb neutral.

eintritt etwas vermindert, indem man z. B. mit scharfem Messer die Blätter in kleine centimeterlange und $\frac{1}{2}$ — $\frac{1}{3}$ Centimeter breite Stückchen zerschneidet, und dann der Wärme aussetzt (Tab. XI, F). Die Stückchen verfärben sich nicht, also ein Zeichen, dass sie nicht absterben (vorher durch Erhitzung getödtete verfärben sich nach kurzer Zeit). Der beim Zerschneiden auf die Unterlage ev. austretende oder am Messer haften bleibende Saft muss selbstverständlich mit verarbeitet werden; die Nichtzersetzung der in diesem Saft befindlichen, übrigens fast zu vernachlässigenden Säuremenge könnte höchstens das Resultat minder prägnant machen; andererseits lassen sich von den Schnittflächen nicht die Bakterien völlig abhalten, doch greifen diese ja nur die verletzten Zellen an, sodass sich diese beiden kleinen Fehler wohl theilweise kompensiren werden (vergl. ferner Tab. XIV, G'). Als diese kleinen Schnittchen ihrerseits wieder in Paraffin eingebettet, also wieder dem Sauerstoffzutritt etwas entzogen wurden, verminderte sich die Säure in der Wärme natürlich weniger als ohne Einbettung (NB. keine Injektion der Intercellularen und keine Verfärbung). — Dass die Säureabnahme in der Wärme in einem dampfgesättigten Raume minder bedeutend gefunden wurde, als in einem durch etwas Schwefelsäure trocken gehaltenen (Tab. XI, E) (in welchem letzterem das Blatt selbstverständlich langsam welkte, sodass man also das entgegengesetzte Resultat hätte erwarten sollen), ist wohl auf denselben Umstand zurückzuführen, dass unter den letztgenannten Bedingungen der Sauerstoff der Atmosphäre mehr und leichter Zutritt fand.

Wir sehen also, dass die verschiedensten Gründe dafür sprechen, dass auch die vom Lichte unabhängige Entsäuerung von Bryophyllum (und demnach wohl auch der anderen Fettpflanzen) durch Luftzutritt gefördert, durch Sauerstoffentziehung vermindert wird.

II. Säureabnahme im Dunkeln bei den Pflanzen überhaupt.

Die Untersuchungen des vorigen Abschnittes beschränken sich nur auf die Frage: erstens, zeigen alle Pflanzen diese Säureabnahme im Dunkeln oder in der Wärme, und zweitens, zeigt sich auch bei diesen eine derartige Abhängigkeit der Entsäuerung von dem Sauerstoff?

In Betreff der ersten Frage hat DE VRIES außer Fettpflanzen Begonia, Vitis, Portulacaarten, Rheum, Oxalis untersucht, und hier in der That, namentlich in der Wärme deutliche Säureabnahme gefunden; für Oxalis ist dies auch von MAYER angegeben; für Begonia konnte auch ich diese Abnahme bestätigen, ebenso fand ich in der Wärme eine Abnahme für Mesembryanthemum, Lilium candidum, eine geringe bei Clusia rosea und bei Cyclamen persicum; dagegen keine bei Citrus aurantiacus, Hedera Helix, Francisca sp. (stets wurden die Blätter untersucht, Tab. XII, A). Sehr bedeutende Säureabnahme zeigten ferner die Früchte: Zwetschen, Aepfel, Stachelbeeren,

an gewöhnlicher Temperatur langsam (Nachreife), in der Wärme sehr schnell (Tab. XII, C). — Es zeigten auch etiolirte *Sempervivum*-blätter, obgleich schon ziemlich säurearm, eine deutliche Abnahme in der Wärme, dagegen zeigen die Blütenblätter keine über die Fehlergrenze hinausgehenden Unterschiede, was bei *Lilium candidum*, *Sempervivum angustifolium*, *Sedum roseum*, *Echeveria retusa*, *Mesembryanthemum grandiflorum*, *Helianthus annuus*, *Nymphaea alba* und bei weißen Rosen geprüft wurde (Tab. XII, B); auch Kartoffeln und *Sempervivum*-wurzeln (Taf. XII, D) zeigten keine bestimmten Unterschiede. Man erkennt aus allen diesen Fällen, dass von einem allgemeinen Gesetze der Säureabnahme in der Wärme nicht gesprochen werden kann. Es ist ja die Abnahme die Resultante aus zwei sich entgegensetzenden Prozessen, und es kommt ganz auf die Stärke der Ansäuerung an, ob Säureabnahme zur Erscheinung kommen wird oder nicht. — Im Allgemeinen ersieht man aus den angeführten Fällen, dass die Säureabnahme in der Wärme an die Gegenwart irgend welcher Schutzrichtungen gegen die Transpiration nicht geknüpft ist und ebensovienig an die Chlorophyllfunktion. — Soll ein energischer Lebensprozess längere Zeit anhalten, so ist ein größerer Vorrath an verathembarem Material erforderlich, und so ist es leicht erklärlich, dass die dünnen, wenig Vorrathsstoffe besitzenden Blütenblätter keine merkliche Säureabnahme zeigen, dagegen die zuckerreichen Früchte in so hohem Maße. Die Knollen und Wurzeln dagegen besitzen zwar genügend Reservematerial, aber nicht in einem direkt verbrennbaren Zustande, und deshalb auch nur einen weniger intensiven Stoffwechsel. Man wird also vielleicht das Richtige treffen, wenn man annimmt, dass durch die in der Wärme gesteigerten Lebens- und Athmungsprozesse ein größerer Theil der Säure in den Stoffwechsel hineingezogen wird, als bei gewöhnlicher Temperatur.

Da man die Wärmeentsäuerung auch bei Pflanzen trifft, die für gewöhnlich keinen Sauerstoffmangel leiden dürften, so ist also jedenfalls ein eventuell durch die Wärme geförderter Gasaustausch und Sauerstoffzutritt nicht die Ursache der Säureabnahme, was wir ja bei der Lichtentsäuerung doch fraglich ließen. — Ob dagegen, wie bei der Licht- und mehr oder weniger auch bei der Wärmeentsäuerung der Fettpflanzen, so auch überhaupt Sauerstoff zur Entsäuerung nöthig ist, wurde an Früchten, namentlich an Äpfeln untersucht. Es stellte sich heraus, dass auch in Wasserstoff, einer Kohlensäure, im luftleeren Raume sowohl in der Wärme als auch bei gewöhnlicher Temperatur die Säureabnahme vor sich ging (Tab. XII, F). Damit stimmt auch überein, dass durch Cacaobutter und Paraffin, zur Abhaltung des Sauerstoffes der Luft, sowohl in der Wärme wie in gewöhnlicher Temperatur sich die Säureabnahme der Früchte nicht aufhalten ließ, ebensovienig durch Luftabschluss mittels ausgekochten Wassers oder Quecksilbers (Tab. XII, F). — Dagegen wird durch Zerstückelung des Apfels in

kleinere Theile die Entsäuerung in gewöhnlicher Temperatur sehr befördert (Tab. XII, F). Von Bakterien und Hefe konnte hier diese rapide Abnahme (in 2 Tagen) nicht herrühren; auch waren solche mikroskopisch nur ganz einzeln nachweisbar; im Gegentheil verhielten sich die Früchte vollkommen in Färbung, Geruch, Geschmack, Konsistenz wie frische, obgleich gerade bei den Früchten Fäulnis und Gährung so charakteristische Umwandlungen hervorrufen. Auch zeigten in Kontrollversuchen durch Erwärmen auf 80 ° getödtete, dann zerstückelte und offen dem Zimmerstaub ausgesetzte Früchte in gleicher Zeit keine Säureabnahme. — Kohlensäure scheint in der Wärme hinderlich¹⁾ auf die Entsäuerung der Früchte zu wirken, was wohl der allgemeinen Schädlichkeit dieses Gases zuzuschreiben ist; da Wasserstoff nur wenig hemmend auf die Entsäuerung in der Wärme wirkt im Gegensatz zur Luft. — Dieser Unterschied zwischen Früchten und Fettpflanzen, die stärkere Abhängigkeit der Säureabnahme von Sauerstoff bei den Fettpflanzen, die geringere bei den Früchten, lässt sich wieder leicht auf allgemeine Lebensprozesse zurückführen, indem bei den Fettpflanzen die intramolekulare Athmung, wie wir unten sehen werden, recht gering ist, während sie bei den Früchten, wie häufig erwiesen, recht stark ist. GAUTIER (s. chem. Centralbl. 7. Jahrg. 1876 p. 533) wies in normalen Früchten in dem Saft von 300 g Äpfeln schon gegen 0,8% Alkohol nach, und nach längerem Verweilen in Wasserstoff oder Stickstoff ist der Alkoholgehalt noch weit größer. Bei den Früchten wird also die bei diesem Prozess frei werdende Energie leicht die Säuren in den Stoffwechsel hineinziehen können, während die schwache Energie der intramolekularen Lebensprozesse der Fettpflanzen der Hälfte der Affinitäten des atmosphärischen Sauerstoffs bedarf. Analogieen bei den Gährungspilzen (s. unten) werden zur Erläuterung dieser Verhältnisse beitragen.

Um die letzten Resultate in Bezug auf den Einfluss des Sauerstoffs auf die Entsäuerung zusammenzufassen, so fanden wir, dass bei den chlorophyllhaltigen Theilen der Fettpflanzen sowohl Licht- als auch allgemeine Entsäuerung an die Gegenwart von Sauerstoff gebunden ist, während die Entsäuerung der Früchte sowohl in der Wärme wie bei gewöhnlicher Temperatur wohl durch Sauerstoff gefördert wird, aber auch ohne Sauerstoff vor sich geht.

Über den allgemeinen Prozess der Ansäuerung.

I. Über den Einfluss des Zuckergehaltes auf denselben.

Haben wir uns bisher nur mit der Entsäuerung befasst, so ist es jetzt unsere Aufgabe, auch die des Merkwürdigen so viel enthaltende Ansäue-

1) Die Säurekonstanz in Kohlensäure in der Wärme ist abermals ein Beweis gegen merkbare Hefe- oder Bakterienbildung.

rung der Fettpflanzen im Dunkeln näher ins Auge zu fassen. Nach DE VRIES ist die Ansäuerung vorläufig als eine Reizwirkung der vorangegangenen Beleuchtung aufzufassen, also als eine photochemische Inductionswirkung. Auch ist nach ihm die Säurezunahme keine Wirkung der vorhergegangenen Assimilation, denn auch in kohlenstofffreiem Raume am Tage der Sonne ausgesetzte Blätter zeigen die nächtliche Produktion, was ich bestätigen kann (Tab. XIII, A). Wenn hierbei die Möglichkeit der Bildung von Assimilationsprodukten aus der von der Säure ev. abgespaltenen Kohlensäure noch Zweifel lassen kann, so sprechen um so entschiedener seine Versuche hinter blauem Glase, wo die Assimilation doch jedenfalls recht vermindert ist. Doch da in seinen Versuchen auch hinter blauem Glase die Säure außerordentlich abnahm, was wir oben auf die Wärme zurückzuführen suchten, und hierbei ein Uebergang der Säuren in Kohlehydrate nicht ausgeschlossen ist, so könnte die nächtliche Säureproduktion ja eine Folge der Anhäufung dieser Kohlehydrate sein. Es findet aber auch bei Ausschluss der Wärmewirkung der Sonne und bei demgemäß nicht merkbarer Säureabnahme in blauen Glocken dennoch in der folgenden Nacht Säurezunahme statt (Tab. XIII, B), ebenso falls man ein durch Wärme stark entsäuertes Blatt Tags dem blauen Lichte aussetzt, wo ja doch Säureumwandlung in Kohlehydrate völlig ausgeschlossen ist. — Ob die Säureproduktion durch Assimilations-thätigkeit gefördert wird, lässt sich durch die wenigen in Bezug hierauf angestellten Versuche kaum definitiv entscheiden, wenngleich sie sämtlich dafür sprechen, auch gehört ja diese Erörterung nur indirekt in unsere Fragestellung hinein. — Es sind jetzt in der Literatur soviel zerstreute Bemerkungen zu finden über eine nicht mit Assimilation zusammenhängende Lichtwirkung eigenthümlicher Art auf Wachsthum,¹⁾ Keimung,²⁾ Fruktifikation,³⁾ Stoffwechsel und Athmung,⁴⁾ dass das Gebiet wohl einer gründlichen, kritisch-experimentellen Bearbeitung bedürfte. Auch unsere besprochene Wirkung des Lichtes auf die nächtliche Säurezunahme gehört hierher, und dürfte verständlicher werden durch die Beobachtung, dass Bryophyllum am Abend mehr reducirenden Zucker enthält als am Morgen, und nicht nur in gewöhnlicher Atmosphäre, sondern auch in kohlenstofffreier Luft, nach MAYER (Kleine Beiträge zur Frage der Sauerstoffausscheidung in den Crassulaceenblättern. Landw. Versuchsstation. 1883 p. 222) und KRAUS (l. c.). Wenn MAYER diese Zuckerproduktion mit der Abnahme

1) Schon ziemlich gründlich in der Literatur behandelt.

2) Von SENEBIER, INGENHOUS, DE CANDOLLE, SAUSSURE, MEYEN, CIESLAR etc. mit ganz verschiedenen Resultaten.

3) Namentlich bei Pilzen. BREFELD, KLEIN.

4) Meist eine Beförderung der Athmung constatirt CANOURS (Blumen, Früchte), SAIKIEVICZ, CAUVET (Wurzeln), LORY (Orobanchen), PANCHON (keimende Samen) (dagegen WOLKOFF und MAYER, BONNIER und MANGIN, DETMER, WILSON), MIKOSCH und STÖHR (Chlorophyllbildung), BÖHM (Stärkewanderung).

der Säure im Lichte in Verbindung bringt, so wird dies unten erörtert werden, schließt aber durchaus nicht die Annahme aus, dass eben diese Zucker- vermehrung wiederum die Ursache der nächtlichen Säureproduktion ist. Doch auch während der Belichtung der vorher entsäuerten Pflanzen in blauen Glocken, wobei die Säuremenge sich annähernd konstant erhält, konnte ich in einem vorläufigen Versuche eine Vermehrung des Zuckers am Abend konstatiren, welcher dann ja auch die Säurezunahme in der Nacht folgte. — Es dürfte demnach, vorbehaltlich detaillirterer Versuche, die Behauptung kaum zu gewagt erscheinen, dass die Ursache der nächtlichen Säurebildung in der durch das Licht (auch durch die blaue Spektrumlhälfte) vermehrten Zuckerbildung zu suchen sei. — Warum die Beleuchtung den Zucker vermehrt, ist unklar (NB. für die Fälle, wo wie hier Assimilation ausgeschlossen ist); da aber der Zucker wie in obigem Falle nicht aus der Säure entstehen kann, ist sein Ursprung wohl jedenfalls in den massig angehäuften unlöslichen Kohlehydraten zu suchen, und demnach ist eine durch das Licht vermehrte Fermentwirkung nicht unwahrscheinlich.

Wenn die starke Säureproduktion in der Nacht mit der durch das Licht vermehrten Zuckerproduktion in Verbindung steht, so ist dadurch nicht im geringsten erwiesen, dass nun die Säure auch direkt aus dem Zucker entstände. Wir kennen den außerordentlichen Einfluss des Traubenzuckers auf die Energie der Lebenserscheinungen der Organismen, speziell auf die Athmung; wir wissen z. B., wie nach Fütterung mit Kohlehydraten der Stoffwechsel der Thiere steigt, obgleich sie daneben ja in ihren Fettslagen Reservestoffe zur Verbrennung genug besitzen. Ebenso zeigen die mit Stärke angefüllten Speicherorgane und Reservestoffbehälter nur eine geringe Athmung; wird aber der Zuckergehalt vermehrt, so wird dadurch auch die Athmung verstärkt, wie MÜLLER-THURGAU in seiner Arbeit über das Süßwerden der Kartoffel nachwies (Auszug Bot. Centralbl. 1882 No. 6); wird dieser Zucker durch längeres Verweilen in höherer Temperatur aufgebraucht, so zeigt die Kartoffel bei niedriger Temperatur eine geringere Athmung als ohne Erwärmung vorher. — Ueberall wird durch Erwärmung oder anderweitig periodisch gesteigerten Stoffwechsel schließlich die Intensität der Athmung vermindert, ohne dass die Reservestoffe erschöpft zu sein brauchen, und die Assimilation wirkt überall fördernd auf den Stoffwechsel, selbst dort, wo, wie bei Bryophyllum, von Stärkemangel keine Rede sein kann (vgl. namentlich BORODIN's verschiedene Arbeiten). — Auch Rohrzucker ist an sich, ebenso wie die Stärke, zur dauernden Unterhaltung der Athmung ungeeignet, und so finden wir z. B. nach BALLAND (Comptes rendus t. 83 1876 p. 916), wenn die Agaven ihre einzige Periode energischer Lebens- thätigkeit, nämlich die Zeit des Blühens beginnen, dass der Rohrzucker in dem Verhältnis, als man sich in der Blattrosette dem Blütenstiele nähert, um so mehr zu Gunsten des Invertzuckers zurücktritt. Auch in den ja

gleichfalls schnell wachsenden Früchten tritt viel Invertzucker auf. PETIT (sur le sucre contenu dans les feuilles du vigne. Journ. pharm. chim. 1874 p. 44) wies in den Blättern des Weines $\frac{1}{2}$ bis $\frac{1}{4}$ des Zuckers als Rohrzucker nach, während sich in den Früchten nur Invertzucker findet. — Aus all diesen Belägen geht hervor, dass durch die Zuckeranhäufung der Stoffwechsel gesteigert wird, und dies könnte also auch indirekt die Säurevermehrung befördern.

Ist die Zuckervermehrung im Lichte und demgemäß die Säurebildung in der Nacht in gewissem Sinne unabhängig von der Assimilation, so dürfte doch ev. beides durch die assimilatorische Funktion gefördert werden. Doch ist in Betracht zu ziehen, dass die Wirkung der Assimilation nur bis zu einem gewissen Punkte reicht, da stärkere Assimilation wohl kaum mehr den Zucker, sondern nur die unlöslichen Reservestoffe vermehren dürfte. BORODIN (Untersuch. tib. Pflanzenathm. 1884) hat gezeigt, dass auch die Athmungsintensität durch Assimilation nur bis zu einem gewissen Grade gesteigert werden kann. Hierdurch wird erklärlich, dass die nächtliche Säurezunahme im Großen und Ganzen nicht der Intensität und Dauer des Lichtes parallel geht, worauf schon DE VRIES hingewiesen hat und was ich völlig bestätigen kann. Auch die schon oben erwähnte Thatsache, dass das Säureminimum nicht auf den Abend, sondern auf den Nachmittag fällt, würde durch die Annahme des Einflusses des Zuckers auf die Produktion der Säure leicht verständlich sein, gleichviel welchen Einfluss wir der Assimilation auf die Bildung des Zuckers zuschreiben.

Noch eine andere Erscheinung würde durch unsere Hypothese eine ungezwungene Erklärung finden. Bryophyllum hat, wie die meisten Pflanzen, auch seine Ruheperiode, wo das Wachstum fast ganz sistirt ist; auch scheint sich nach den erhaltenen Zahlen die Athmung in der Zeit zu verringern. Obgleich nun die Blätter mit viel Stärke angefüllt sind, ist doch die nächtliche Säureproduktion eine sehr geringe, so dass, während im Sommer am Morgen die Blätter durchschnittlich 90—100 zeigen, und dass um 8 $\frac{1}{2}$ bis 9 Uhr, wo also das Licht schon etwas gewirkt hat, im November ein Gehalt von 40—60 das Mittel ist, obgleich die Nachmittagswerthe im Sommer eher geringer sind als im November, und im Sommer doch auch im Gewächshause die größere Wärme in der Nacht der Produktion hinderlich ist. Die Kürze des Tages und die dadurch bedingte Verringerung der Assimilation kann nicht die Ursache der geringen nächtlichen Säureproduktion sein, da im Sommer schon 6 Stunden abgeblendetes Sonnenlicht genügen, um eine sehr kräftige Säureproduktion hervorzurufen. Mit der Annahme, dass sich im Herbst diese Blätter nach Art der Knollen und sonstiger Reservestoffbehälter verhalten, dass die Umwandlung der Stärke in Zucker (vielleicht durch geringere Fermentwirkung, die ja überhaupt für Ruheperioden viel plausibles hat) und somit auch die Athmung etc. verringert wird, wären diese Erscheinungen sehr einfach erklärt.

Ist die Säurebildung direkt oder indirekt vom Zucker abhängig, die Säurezersetzung nicht oder vielleicht weniger, so ist damit auch völlig die langsame Entsäuerung bei andauernder Dunkelheit erklärt. Der disponible Zucker nimmt bei längerer Verdunkelung ab, die Produktion desselben deckt nicht den Konsum, folglich auch die Bildung der Säure nicht den Konsum derselben, es muss demnach der fortwährende Säureverbrauch schließlich das Uebergewicht erlangen (je nach Spezies und Umständen früher oder später), bis endlich der Stoffwechsel derartig erlahmt, resp. das vorhandene Säurequantum derart verbraucht ist, dass jetzt das oben besprochene Gleichgewicht zwischen Produktion und Konsum der Säure sich geltend macht.

Es werden diese Erwägungen genügen, um zu zeigen, dass die von uns gesetzte Möglichkeit, dass die nächtlich gesteigerte Säureproduktion mit einer durch das Licht geförderten Zucker vermehrung in Zusammenhang steht, viel Wahrscheinlichkeit für sich hat. Der exakte Beweis würde eine umfassendere Untersuchung erfordern.

II. Einfluss des Sauerstoffes auf die Säureproduktion.

Von besonderer Wichtigkeit für uns ist der Einfluss des Sauerstoffes auf die nächtliche Säureproduktion. Vor allem ist zu konstatiren, in Uebereinstimmung mit KRAUS und im Gegensatz zu MAYER, dass in Wasserstoff die Produktion ganz außerordentlich geschwächt, fast aufgehoben wird (Tab. XIV, A). Nur dadurch, dass MAYER keine Vergleichsversuche daneben in Luft anstellte, konnte er zu seiner Ansicht gelangen, dem Sauerstoff keine Bedeutung bei der Säureproduktion zuzusprechen. — Dasselbe Resultat ergaben Versuche im luftleeren Raume (Tab. XIV, B). Ebenso wird in destillirtem ausgekochtem Wasser bei luftdichtem Verschluss keine Säureproduktion konstatirt (Tab. XIV, C). Dass die Säureproduktion auch durch größere Mengen Kohlensäure bis 25% in der Luft nicht wesentlich beeinträchtigt wird, wurde schon oben durch Beispiele erläutert. Ebenso findet natürlich Säurevermehrung statt, falls man Kohlensäure ausschließt, und durch Kalilauge die sich bildende möglichst entfernt.

Wir sehen also, dass das Bryophyllumblatt zur Säureproduktion des Sauerstoffes bedarf. Doch scheint der Bedarf gering zu sein und ein Ueberschuss scheint sogar hindernd zu wirken, da er ja, wie wir oben sahen, die Entsäuerung befördert. Falls man die Luft durch Wasserstoff verdünnt, findet sogar eine größere Produktion statt als in gewöhnlicher Atmosphäre (Tab. XIV, E), doch hat natürlich die Verdünnung ihre Grenze; so genügt z. B. schon Luftabschluss durch Paraffin, um die Säureproduktion zu beschränken (Tab. XIV, D). In reinem Sauerstoff ist die Produktion etwas geringer als in gewöhnlicher Luft (Tab. XIV, F). Auffallender ist die Verminderung, falls man der atmosphärischen Luft durch Schnitte Zugang ver-

schafft (Tab. XIV, S' u. G'). Als die so zerschnittenen Stücke dagegen in Paraffin eingebettet wurden, wodurch ja wieder Verringerung des Luftzutrittes herbeigeführt wurde, produzierten die Stücke mehr Säure als die der Luft zugänglichen nicht eingebetteten Stücke (hierdurch ist die pathologische Wirkung des Zerschneidens eliminirt). Auch durch Abziehung der Epidermis von *Echeveria* (was sich bei *Bryophyllum* leider nicht ausführen ließ) wurde dem Sauerstoff der Zutritt erleichtert und es zeigten demgemäß die so behandelten Theile der Blätter einen geringeren Säurezuwachs als die mit Epidermis bekleideten (Tab. XIV, H); pathologisch dürfte das Epidermisabziehen kaum wirken, von injizirten Intercellularen, Verminderung des Turgors etc. bemerkt man nichts, auch zeigen gleich behandelte Blätter beispielsweise im Lichte fast genau gleich starke Säureabnahme als die anderen (Tab. XIV, H') (siehe auch Wärmetabelle).

Noch sei angeführt, dass bei einigen Blättern von Pflanzen ohne Säureperiodizität durch theilweisen Abschluss der Luft durch Cacaobutter oder Verringerung des Partiärdruckes des Sauerstoffes durch Wasserstoff der Säuregehalt etwas gesteigert werden kann (Tab. XIV, D' u. E). Die Säurezunahme liegt wohl oberhalb der Fehlergrenze, doch ist sie kaum prägnant genug, um hierdurch zu sicheren verallgemeinernden Schlüssen gelangen zu können.

Aus der besprochenen Abhängigkeit der Säureproduktion vom Sauerstoff der Luft nun zu schließen, dass die Säurebildung ein Nebenprodukt der Athmung ist, wie KRAUS thut, wäre jedenfalls verfrüht, denn es braucht ja der Sauerstoff nur indirekt zu wirken, dadurch, dass er die Lebensprozesse fördert, welche die Bildung der Säure bewerkstelligen: eine Ueberlegung, die KRAUS in Bezug auf die Entsäuerung am Lichte einige Zeilen später selbst macht, in Bezug auf die Produktion dagegen gar nicht erwähnt.

Beziehung des Säurewechsels zu den volumetrischen und chemischen Veränderungen der sie umgebenden Atmosphäre.

I. Kritik der Saussure'schen Kohlensäureabsorptionshypothese.

Bis jetzt ist nur die Thatsache bekannt, und zwar von SAUSSURE bei *Opuntia* aufgedeckt, von MAYER für *Bryophyllum* näher untersucht, dass die Fettpflanzen am Tage mehr Sauerstoff aushauchen als sie Kohlensäure aufnehmen. Außerdem geht noch aus MAYER's Tabellen hervor, dass *Bryophyllum* nachts das Volumen der umgebenden Luft verringert, ohne dass diese Thatsache näher berücksichtigt wird: während SAUSSURE für *Cactus* und andere Fettpflanzen auch hierauf schon klar hinweist; auch wurde dies durch GRISCHOW, sowie durch DÉNÉRAIN und MOISSAN (Ann. se. 1874) bestätigt. SAUSSURE hat bekanntlich angenommen und auch zu beweisen gesucht,

dass der Grund dieser Erscheinung absorbirte Kohlensäure sei, indem des Nachts die ausgeathmete Kohlensäure noch vor ihrem Austritt aus den Zellen absorbirt würde; schon nach GRISCHOW »eine Meinung, die noch lange nicht erwiesen ist, und ebensoviel wider wie für sich hat.« SAUSSURE vermochte auch nicht, eine nur halbwegs genügende Menge durch Auspumpen aufzufinden, er fand nur (p. 69) $\frac{1}{50}$ des eingeathmeten Sauerstoffs als Kohlensäure wieder, und MAYER hat nachgewiesen, dass auch durch Koehen mit Schwefelsäure oder durch Erhitzen mit darauf folgendem Auspumpen keine irgend wie erhebliche Menge von Kohlensäure auffindbar sei. Wenn auch diese Versuche, obgleich wenig an der Zahl und in den Einzelheiten nach unseren jetzigen Erfahrungen zur strengen Entscheidung nicht sehr günstig ausgewählt, doch wohl die Sache entscheiden dürften, so ist es trotzdem in Anbetracht der Wichtigkeit dieser Frage, zumal da MAYER und SAUSSURE mit verschiedenem Materiale arbeiteten, wünschenswerth, auch SAUSSURE's indirekte Gründe für seine Ansicht zu erörtern. Es ist leicht zu beweisen, dass gerade seine Hauptgründe bei unserer jetzigen Kenntnis der Gasdiffusion als unlogisch in sich zusammenfallen, wofür natürlich SAUSSURE kein Vorwurf zu machen ist, während die übrigen Gründe höchstens Bewiesenes bestätigen können, ohne selbst Beweiskraft zu besitzen. So wird p. 78 darauf Werth gelegt, dass ein im Rezipienten mit Kohlensäure gesättigtes Stück von Opuntia in Luft seine Kohlensäure abgibt, im Rezipienten sich wieder sättigt, abermals in Luft die Kohlensäure abgibt etc., ein Prozess, zu dessen Erläuterung das mit Kohlensäure gesättigte Wasser herbeigezogen wird. Wie ist es aber möglich, dass ein Körper, der seine Kohlensäure an die Luft abgibt, sie nicht noch viel eher an einen luftleeren Raum abgeben soll, und doch konnte er mit der Luftpumpe der Pflanze nur minimale Kohlensäuremengen entziehen. Andererseits heißt es, dass das Kalkwasser in einem Rezipienten in Gegenwart der Opuntia im Dunkeln sich nicht mit einem Niederschlag bedeckt; ist es denn aber möglich, dass ein Körper, der an die doch immerhin etwas Kohlensäure enthaltende Atmosphäre von seiner Kohlensäure abgibt, in einer ganz kohlenstofffreien Luft dieselbe bewahrt? Außerdem, warum gab denn das Opuntiglied am nächsten Tage im Lichte einen Theil seiner Kohlensäure an das Kalkwasser ab? — Auch wäre es nach unseren jetzigen Kenntnissen undenkbar, dass die gleiche Pflanze, die in gewöhnlicher Atmosphäre viel Kohlensäure absorbiren soll, in Wasserstoff keine Kohlensäure zurückzuhalten vermag, obgleich die Pflanze hierbei nachweislich Kohlensäure ausscheidet (l. c. p. 70, in der Nacht $\frac{1}{3}$ bis $\frac{1}{4}$ des Volumens) und nicht leidet, da sie nachher in der Luft sofort wieder inspirirt, was SAUSSURE dadurch zu erklären sucht, dass »die Kohlensäure nicht durch den Druck zurückgehalten wird, welchen die Lebenskraft darauf ausüben kann« (p. 80). — SAUSSURE's Thatsachen sind unzweifelhaft größtentheils richtig und stimmen auch, soweit sie kontrollirt wurden, größtentheils mit unseren Erfahrungen überein, nur die Verallge-

meinerungen und Schlüsse sind unrichtig. Die Abgabe von Kohlensäure einer im Rezipienten gesättigten *Opuntia* an die Luft bezieht sich nicht auf die ganze Inspiration, sondern nur auf die wirklich absorbirte, und hauptsächlich auf die in den Intercellularen befindliche Kohlensäure, wie auch nach SAUSSURE die *Opuntia* in diesem Falle im Rezipienten nur ein Viertel ihres Volumens inspirirt, während sie sonst bis $4\frac{1}{4}$ des Volumens aufnimmt. Ein Viertel des Volumens wird wohl auch so ungefähr das Maximum der Absorptionsfähigkeit der Fettpflanzen für Kohlensäure sein, für den Fall, dass sich die Pflanze in reiner Kohlensäure befindet. Bei unseren Versuchen, wo nach längerem Verweilen der *Opuntia* in engem abgeschlossenen Raum (also Anreicherung der Kohlensäure bis auf höchstens 20%) die Luft erneuert wurde, zeigte sich in den ersten zwei Stunden eine Volumvermehrung der Luft von nur $\frac{1}{10}$ bis $\frac{1}{20}$ des Volumens der *Opuntia*, während hierauf die Inspiration wieder die Oberhand erlangte. — Dass die von der Pflanze gebildete Kohlensäure nur zu einem sehr geringen Theil absorbirt werden kann, zeigt sich evident auch in folgendem Versuche. Ein *Opuntia*stück wurde bei 13° in abgeschlossener Atmosphäre längere Zeit verdunkelt, wobei sich natürlich eine deutliche Inspiration zeigte; am fünften Tage war der Sauerstoff aufgezehrt und sofort trat in Folge intramolekularer Athmung eine sichtbare Expiration zu Tage, die bei Erneuerung der Luft wieder einer Inspiration Platz machte. Wäre die Inspiration Folge der Kohlensäureabsorption, so hätten wir hier den sonderbaren Fall, dass die Pflanze die bei normaler Athmung gebildete Kohlensäure festzuhalten, die weit geringere Menge (siehe unten) der intramolekular erzeugten Kohlensäure dagegen nicht zu binden vermag. — Ferner konnten wir, im Gegensatz zu SAUSSURE, bei *Opuntia* selbst in der ersten Nacht nach vorangegangener Belichtung durch Barytwasser stets eine Ausscheidung von Kohlensäure konstatiren. — Endlich tritt bei *Opuntia* in höheren Temperaturen (35°) an Stelle der Inspiration eine sichtbare Expiration, genau wie bei *Bryophyllum* (siehe unten); es kann demgemäß ebensowenig hier wie bei *Bryophyllum* von bedeutender Kohlensäureabsorption die Rede sein. Gelten aber nur die gewöhnlichen Regeln über Kohlensäureabsorption, so zeigen BORODIN'S »Untersuchungen über Pflanzenathmung 1884« (p. 44), dass die Aufnahme der Kohlensäure aus der Atmosphäre außerordentlich schnell vor sich geht, in der ersten halben Stunde rapid und schon nach einer Stunde meistens fast beendet ist, während bei *Bryophyllum*blättern in 40% Kohlensäure enthaltender Luft sich nach einer halben Stunde noch fast keine Volumenänderung zeigte; ferner zeigten *Bryophyllum*blätter, unter verschiedenen Bedingungen einer 25% Kohlensäure enthaltenden Atmosphäre ausgesetzt, keine größere Inspiration, als unter gleichen Bedingungen in gewöhnlicher Luft, was bei bedeutender Absorption hätte der Fall sein müssen. Endlich kann auch der Quantität nach die Absorption selbst in reiner Kohlensäure, sogar in lufttrockenen Samen, wo sie außerordentlich

hoch ist, nicht mit der Inspirationsgröße der Fettpflanzen in einer fast kohlenstofffreien Atmosphäre verglichen werden, indem die Absorption meist nur ein Viertel oder noch weniger des Volumens der Pflanzentheile beträgt, nur selten bis zur Hälfte hinaufgeht, während bei den Fettpflanzen eine Inspiration von $1\frac{1}{4}$ Volumen keine Seltenheit ist. Wir werden demnach gewiss noch viel zu hoch greifen, falls wir die durch Absorption in gewöhnlicher, nur wenig Kohlensäure enthaltender Luft verursachten Fehler auf ein Fünftel des Volumens als Maximum taxiren. Verringert wird der Fehler bei unseren Versuchen noch dadurch, dass vor den Nachtversuchen die Blätter erst einige Zeit, ca. $\frac{3}{4}$ Stunden verdunkelt wurden, so dass sie sich etwas mit Kohlensäure sättigen konnten, während bei Tagversuchen die Blätter vorher ca. $1\frac{1}{2}$ Stunden belichtet wurden, so dass Ausgleich einerseits durch Diffusion, andererseits durch Assimilation möglich war. Uebrigens wurden dieselben Resultate gefunden, wenn mit einem Bryophyllumblatt gearbeitet wurde, das vorher $2\frac{1}{2}$ Stunden in einer 50% Kohlensäure enthaltenden Luft sich sättigen konnte. — Bei einer Anzahl von Versuchen war schon von vornherein die Möglichkeit auch einer ganz kleinen Fehlerquelle durch Absorption ausgeschlossen, z. B. wenn mit gesättigten Blättern im Dunkeln operirt wurde.

II. Parallelität zwischen Säureabnahme und Volumenzunahme der Atmosphäre am Tage und umgekehrtes Verhalten in der Nacht.

Die Thatsache, dass Fettpflanzen am Tage ihre Atmosphäre vermehren (Tab. XV, A), in der Nacht dagegen dieselbe vermindern (Tab. XVI, A), wurde auch durch sämtliche von mir angestellte Versuche bestätigt, und zwar für Bryophyllum, Aloë arborescens und, was mir besonders wichtig zu konstatiren scheint, in bedeutendem Maße auch bei der Bromeliacee *Hoplophytum grande*, mit zwar steifen, aber dünnen Blättern, die keinesfalls im strengen Sinne zu den Fettpflanzen gerechnet werden darf (Tab. XV, A). Es sei hier bemerkt, dass die Größe des volumetrischen Ausschlages genau parallel geht der Differenz zwischen Säureminimum und Säuremaximum, sodass in den dunklen Novembertagen, zugleich die Ruheperiode von Bryophyllum, neben geringer Säureabnahme auch nur kleine volumetrische Differenzen zu erzielen waren, wieder ein Beweis gegen den Einfluss der Kohlensäureabsorption. — Auch lässt sich die Parallelität darin durchführen, dass auch das volumetrische Maximum genau wie das Säureminimum auf die Nachmittagsstunden fällt, wie man z. B. aus der Versuchsreihe 3) pag. 279 bei MAYER ersehen kann, wo schon zwischen 12 Uhr 20 Min. und 1 Uhr 30 Min. das Volumen wieder abnimmt. Auch bei Aloë arborescens nahm das Volumen schon zwischen 4 Uhr und 3 Uhr 30 Min. wieder ab (Tab. XV, B), wenn auch wenig. Aus den verschiedensten Versuchen von MAYER, DE VRIES und mir erkennt man ferner, dass die Volumenzunahme genau so wie auch

die Säureabnahme in den ersten Stunden intensiverer Belichtungen bei weitem am größten ist.

Eine andere Parallelität, die außerordentlich prägnant hervortritt, zeigt sich in dem Verhalten der Pflanzen in einer 42% Kohlensäure enthaltenden Luft am Tageslichte. War oben bewiesen, dass die Entsäuerung dadurch gehemmt wird, so sehen wir hier, dass die Volumenzunahme unter denselben Bedingungen verringert wird (Tab. XV, C). *Hoplophytum* ist widerstandsfähiger gegen Kohlensäure, assimilirt in 9% und sogar 44% Kohlensäure noch recht stark, entsäuert sich deshalb auch noch unter diesen Bedingungen und vermehrt das Volumen der Atmosphäre beträchtlich (Tab. XV, D); bei 25% Kohlensäure entsäuert sie sich kaum mehr und auch das Volumen vermehrt sich nur wenig. — Bei *Aloë arborescens* scheint schon bei 40% Kohlensäure die Volumenzunahme sehr verringert zu sein.

In der Nacht übt, wie schon oben bemerkt, Kohlensäure keinen bedeutenden Einfluss auf die nächtliche Säurevermehrung aus, und ebenso wenig wird die Inspiration beeinflusst; auch zeigte ein *Bryophyllum*blatt, das sich am Abend 2 $\frac{1}{2}$ Stunden in 50% Kohlensäure befand, trotzdem in der Nacht beträchtliche Inspiration. — Wir haben oben gesehen, dass reiner Sauerstoff die Säurezunahme in der Nacht um etwas verringert. Dasselbe sehen wir auch volumetrisch, die Inspiration ist ein wenig kleiner, obgleich die Kohlensäureathmung durch Sauerstoff wie sonst, so auch bei *Bryophyllum* ein wenig gefördert wird (Tab. XVI, B).

III. Parallelität zwischen Säureabnahme und Volumenzunahme bei längerer Verdunkelung, resp. Erwärmung.

Eine weitere Parallelität zwischen Säureab- und Volumenzunahme zeigt sich bei längere Zeit verdunkelten *Bryophyllum*blättern. Wie bei denselben nach einer Nacht an Stelle der nächtlichen Säurezunahme eine ganz langsame Säureabnahme sich geltend macht, so zeigt sich hier auch eine langsame Volumenvermehrung und zwar auch, wenn man der Luft, mit welcher man die eine Nacht dunkel gehaltenen Blätter umgiebt, 42 bis 46% Kohlensäure zusetzt (Tab. XVII, A). Falls Absorption die Ursache wäre, müsste sich das Volumen verringern. — SAUSSURE hat bei *Opuntia* diese Erscheinung nicht beobachtet, er giebt an, dass nach geschehener Inspiration das Volumen lange Zeit (so lange er beobachtete) unverändert geblieben sei. Vermuthlich wird GRISCHOW Recht haben, wenn er diese Konstanz aus der Schädigung durch die sich anhäufende Kohlensäure erklärt, denn in der That scheint nach gelegentlichen Versuchen *Opuntia* wie auch *Aloë* gegen Kohlensäure sehr empfindlich zu sein. Vielleicht auch dürften die kleinen Differenzen, um die es sich hier handelt, SAUSSURE bei seinen breiten Gefäßen entgangen sein; andererseits ist es aber auch möglich, dass es sich bei der *Opuntia* auch mit der Entsäuerung in längeren

Dunkelperioden anders verhält. — Es ist ja kein zwingender Grund vorhanden, dass, so lange noch überhaupt Reservestoffe vorhanden sind, die Entsäuerung schneller vor sich gehen soll, als die Ansäuerung. Dass es bei Bryophyllum und Echeveria so ist, beweist nichts für die übrigen Fetzpflanzen. SAUSSURE giebt ja auch für Opuntia eine Inspirationsperiode von 36 Stunden an, und in meinem Versuche bei 13° währte sie sogar 8 Tage und mehr, und dies würde ja nach der hier entwickelten Anschauung einer Säurezunahme von derselben Dauer entsprechen. Wir sehen also, bei Opuntia sind die entsäuernden Kräfte im Verhältnis zu den ansäuernden geringer als bei Bryophyllum, so dass ein länger dauernder Gleichgewichtszustand sehr wohl möglich ist. Die Säureverhältnisse im speziellen bei Opuntia klar zu legen, wird schwer sein, da man des schleimigen Inhaltes wegen mit unserer Methode keine so genauen Resultate zu erzielen vermag, wie sie für diese Fragen unerlässlich sind. — Aloë arborescens zeigte nach unseren Versuchen eine Inspirationsdauer von c. 24 Stunden, und auch dann zeigte sich das Volumen nach 12 weiteren Stunden nicht verändert. Auch Echeveria metallica zeigte zwischen der 12. und 36. Stunde der Verdunkelung (ein anderes Mal zwischen der 24. und 36. Stunde) nur eine sehr geringe Volumenvermehrung.

Weit klarer (wie ja auch bei der Säureabnahme) zeigen sich alle diese Verhältnisse in der Wärme, wo sich eine schnelle und bedeutende volumetrische Zunahme zeigt, entsprechend einer schnellen und bedeutenden Säureabnahme (Tab. XVII, B). Falls man dagegen die durch Licht entsäuerte Pflanze einer Temperatur von 35° aussetzt, so verursacht sie kaum eine volumetrische Aenderung, ebenso wie auch die Säure nicht mehr abnehmen kann. — In der Wärme wirkt die Kohlensäure öfters schädigend auf die Säureabnahme, und in denselben Fällen findet dann auch nur eine kleine Volumenvermehrung statt (Tab. XII, C), während, wo Kohlensäure nicht schädigend wirkt (Tab. XVII, B), auch fast dieselbe Volumenvermehrung sich einstellt wie ohne Kohlensäure (was abermals gegen Absorptionswirkung spricht). Wie aber bei der Entsäuerung schließlich in der Wärme ein Gleichgewichtszustand herbeigeführt wird, so auch in den volumetrischen Verhältnissen. Nach Erwärmung von 32 Stunden wurde das Blatt mit neuer Luft umgeben; nach der Absorptionshypothese hätte das Blatt (das ja vorher in der mit Kohlensäure angereicherten Atmosphäre sich befand) hier von seinem Vorrath abgeben müssen; aber es zeigte sich keine Volumenverminderung, obgleich eine außerordentliche Menge Kohlensäure ausgeathmet wurde.

IV. Inspirirt wird Sauerstoff, expirirt Kohlensäure.

Dass sich die nächtliche Inspiration auf Sauerstoff bezieht, erkennt man leicht daran, dass einerseits die Pflanzen auch in kohlensäurefreiem Raume kräftig inspiriren, andererseits auch in reinem Sauerstoff diese Erscheinung

zeigen. — Das am Licht expirirte Gas besteht lediglich aus Sauerstoff, wie MAYER nachwies. Die in der Wärme und im Dunkeln expirirte Gasmenge ist reine Kohlensäure, wie man es ja auch nicht anders erwarten kann. Es ist hiermit jedoch noch nicht direkt bewiesen, dass die Abspaltung nicht als Sauerstoff geschieht, der dann in der Athmung sofort verbraucht würde. Diese Ansicht einer intramolekularen Sauerstoffquelle, die wegen der Aehnlichkeit mit der Pasteur'schen Gährungshypothese etwas bestrickendes hat, dürfte aber doch nicht ernstlich aufrecht zu erhalten sein: denn während bei der Gährung bei Abschluss von Sauerstoff die Kohlensäurebildung, also nach der Pasteur'schen Ansicht die intramolekulare Sauerstoffentstehung unbehindert vor sich geht, fanden wir ja oben, dass beim Aufenthalt der Fettpflanzen in Wasserstoff die Säure nicht zersetzt, also die Sauerstoffquelle nicht benutzt wird, und gerade hier würde sie von Werth sein. Ein Erklärungsversuch dieser Abweichung dadurch, dass in Wasserstoff die nöthige Energie zur Zertrümmerung der Säure fehle, wäre in diesem Falle hinfällig, da der Beginn der Sauerstoffabspaltung im ersten Moment gesichert wäre durch noch vorhandene Spuren Sauerstoff, durch die im Anfang ja noch energischen Kräfte, sowie durch die dazu kommenden Kräfte der intramolekularen Athmung, während hierauf ja wieder neuer Sauerstoff zur Fortsetzung des Prozesses durch Abspaltung sich bilden würde. Es würde sich ein genau analoger Prozess in Wasserstoff in der Wärme entwickeln müssen, wie wir ihn am Tageslicht in Wasserstoff sich wirklich abspielen sehen, wo die Entsäuerung, wenn auch etwas vermindert, fortschreitet durch den abgespaltenen oder aus abgespaltenen Kohlensäure sich bildenden Sauerstoff. Da also ein solcher Prozess in der Wärme nicht eintritt, vielmehr die Fettpflanzen in Wasserstoff keine Säureverminderung aufweisen, so werden wir uns also bei der Entsäuerung durch Wärme für direkte Kohlensäureabspaltung entscheiden müssen, zumal da auch chemische Gründe zu Gunsten dieser Ansicht sprechen. Die Säuren sind so einfache Körper, dass sie, falls sie zerfallen, wohl stets Kohlensäure liefern; auch beim Kochen mit Schwefelsäure, auch in zugeschmolzenen Glasröhren mit Wasser, ja schon bei einfachem längeren Kochen spurweise entwickeln sie Kohlensäure; am Lichte mit Sauerstoffüberträgern werden sie langsam zu Kohlensäure oxydirt. Auch stimmen die Durchschnittszahlen der Volumenvermehrung (resp. -verminderung) (als Kohlensäure berechnet) und der verschwundenen, resp. gebildeten Säure (als Apfelsäure berechnet) ziemlich gut zu dem verlangten Verhältnis 4 : 3 (Tab. XV, A; Tab. XVI, A). — Falls aber in der Wärme und im Dunkeln sich von der Säure Kohlensäure abspaltet, so würde es unnatürlich sein, wollten wir ohne Grund für die Entsäuerung im Lichte einen ganz anderen Prozess mit direkter Sauerstoffabspaltung gelten lassen; dass der Versuch von MAYER, wonach die am Lichte ev. ausgeschiedene und durch Barytwasser aufgefangene Kohlensäure in keinem Ver-

hältnis steht zu dem expirirten Sauerstoff, keine Beweiskraft hat, wurde schon oben erörtert.

V. Volumetrische Verhältnisse bei der intramolekularen Athmung.

Ueber die Athmung in indifferenten Gasen ist in Bezug auf unsere Frage wenig zu sagen. Hier kann natürlich von Inspiration nicht die Rede sein, da ja kein Sauerstoff vorhanden ist; im Gegentheil muss sich hier das Volumen stets durch intramolekular erzeugte Kohlensäure vermehren. Doch scheint diese intramolekular ausgeathmete Kohlensäure (Tab. XVIII, B¹) bei Bryophyllum außerordentlich gering zu sein verglichen mit der normalen Athmung (Tab. XVIII, A). In 46 Stunden produzierten Bryophyllumblätter in Wasserstoff ca. $\frac{1}{3}$ der sonst ausgeathmeten Kohlensäure, nach vorhergegangener Beleuchtung in 44 Stunden ca. die Hälfte (Tab. XVIII, B²). Echeveria metallica (Tab. XVIII, B³) zeigte in 24 Stunden dasselbe Verhältnis; wie sich aber diese Differenz auf die einzelnen Stunden vertheilt, eine an und für sich wichtige Frage, wurde, da sie zu weit von unserer Fragestellung abführt und nur mit großem Materialaufwand und anderem Apparate zu entscheiden ist, nicht weiter untersucht. Mangel an wirklichem Reservematerial konnte unmöglich in 24 Stunden eintreten, da die Blätter der Fettpflanzen ja zu gleicher Zeit Reservestoffbehälter sind; und auch in Bezug auf das durch die Fermente für die Athmung leicht zugänglich gemachte Material (speziell Zucker) waren die für sauerstoffhaltige und sauerstofffreie Luft bestimmten Blatttheile ja vorher gleich gestellt. — Es zeigen demgemäß volumetrische Messungen in der Zwischenzeit während des Versuches nur ein ganz langsames allmähliches Sinken der auf eine Stunde berechneten Volumenzunahme, woraus zu schließen ist, dass schon in den Anfangsstunden zwischen der in normaler und intramolekularer Athmung produzierten Kohlensäure eine Differenz stattfindet, dass demnach hier die durch intramolekulare Athmung für die Fettpflanzen gewonnene Energie eine im Verhältnis zu anderen Pflanzen und zur normalen Athmung geringe ist, was zum Verständnis der Säureverhältnisse von Wichtigkeit sein wird. — Auch hier dürfte Kohlensäure, bis zu einem gewissen Grade zugeführt, nicht sehr schädigend wirken, was daraus hervorgeht, dass die Volumenvermehrung in Wasserstoff im Dunkeln mit oder ohne Kohlensäure nicht sehr differirt. — Dagegen hat vorherige Beleuchtung natürlich auch hier auf die Kohlensäureabgabe einen begünstigenden Einfluss, wie ein Beispiel von Echeveria zeigt, wo der vorher belichtete Blatttheil mehr Kohlensäure abgab, als der vorher verdunkelte (Tab. XVIII, B¹); da der vorher belichtete Theil jedenfalls mit Kohlensäure ungesättigt, der verdunkelte gesättigt war, so würde man, falls einigermaßen erhebliche Kohlensäureabsorption stattfände, umgekehrt bei dem belichteten Blatte eine geringere Kohlensäureabgabe erwarten, als bei dem verdunkelten.

Diese Beispiele werden zur Genüge zeigen, dass wir es hier mit einer bis ins einzelne gehenden Parallelität zwischen Säureabnahme und Volumenzunahme einerseits, Säurezunahme und Volumenabnahme der umgebenden Luft andererseits zu thun haben; eine Parallelität, die nach obigem soweit geht, dass, falls man z. B. die Säureabnahme am Licht (ohne die Gesamtfunktionen zu stören) künstlich verhindert (durch Einfluss der Kohlensäure), auch die volumetrische Vermehrung ausbleibt, welches Faktum aufs Bestimmteste anzeigt, dass hier nicht nur eine zufällige Parallelität, sondern eine Kausalität vorliegt. Ebenso können wir ja auch umgekehrt durch Inhibition der Sauerstoffaufnahme (also der Volumenverminderung) die Säurevermehrung hindern.

VI. Beziehungen zwischen volumetrischen Verhältnissen und Säuregehalt bei den Pflanzen im Allgemeinen.

Ist demnach also der innige Zusammenhang zwischen Volumen- und Aciditätsänderung bei den einem periodischen Säurewechsel unterliegenden Pflanzen nicht von der Hand zu weisen, so wird andererseits vielleicht auch ein großer Theil der in der Athmungslitteratur bekannten Beispiele, wo der Athmungsquotient $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} < 1$ ist, auf Säurevermehrung innerhalb der Pflanze zurückzuführen sein. Die Verminderung des Volumens der Atmosphäre bei der Keimung auch nicht ölhaltender Samen (DÉHÉRAIN et LANDRIN, Recherches sur la germinat. p. 364 ff., BORODIN a. a. O.) ist sicher theilweise der Säurezunahme zuzuschreiben, da in der That z. B. in je 40 keimenden Erbsen in 36 Stunden die Säuremenge sich von 27,4 auf 35,0 vermehrt; SCHULZE und UMLAUF (Unters. üb. einige chem. Vorg. bei d. Keim. d. gelb. Lupine p. 840) fanden freilich in einem Versuch bei keimenden Lupinen sogar eine bedeutende Säureverminderung, doch wurde in der Arbeit diese Frage nur ganz nebensächlich behandelt, und ist dies Resultat bei der starken Neubildung saure Reaktion zeigender Zellen a priori unwahrscheinlich. Neben dem von uns angenommenen Verbrauch des Sauerstoffs zur Säurebildung kommt in Bezug auf die Volumenverminderung der Atmosphäre wohl nur noch die Bildung von Wasser und ev. von Amidosäuren nebst Derivaten in Betracht, falls man von einer ev. bei der Keimung gesteigerten Absorptionsfähigkeit für Gase absehen will (DÉHÉRAIN und LANDRIN vermochten aus den Keimlingen selbst mit der Luftpumpe nicht die Differenz herauszusaugen). — Ferner ist es eine allgemeine, mit der absoluten Säurezunahme der Pflanzen beim Wachsen in Übereinstimmung stehende Beobachtung, dass stark vegetirende Theile den kleinsten Quotienten $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ besitzen; BONNIER und MANGIN (Ann. sc. nat. 1884, 3 Arbeiten) fanden den Quotienten für junge Pflanzentheile kleiner als für ältere; die schnell

wachsenden Pilze zeigten durchschnittlich 0,6 als Quotienten, schon GRISCHOW wies Volumenverminderung bei Amanita nach; aber auch bei Zwiebeln in ihrer Entwicklung ist nach ST. ANDRÉ (BIEDERM. Centralbl. 1877 p. 270) und bei Wurzeln nach DÉHÉRAIN und VESQUE (Ann. sc. nat. VI 1876 p. 327 und Compt. rend. t. 84, 1877, p. 959) und GRISCHOW (Phys. chem. Unters. üb. d. Athm. 1849) $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} < 1$. In Bezug auf beblätterte Zweige werden

SAUSSURE'S und GRISCHOW'S Resultate durch die feineren Methoden BONNIER'S und BOUSSINGAULT'S, die für kurze Zeiten den Quotienten meist gleich 1 fanden, richtig gestellt; nur die dickblättrigen Pflanzen, sowie die gegen Transpiration geschützten Bromeliaceen und Orchideen (siehe oben), zeigen bei der Verdunkelung einen kleineren Quotienten als 1, und aus anderem, aber analogem Grunde wird sich ohne Zweifel auch ein solcher bei ölhaltigen Blättern nachweisen lassen; dasselbe zeigen die Nadelhölzer nach DÉHÉRAIN und MOISSAN (Compt. rend. t. 78, 1874), BOUSSINGAULT (Compt. rend. t. 53, 1861 Pin. maritime; Ann. chim. phys. 4 s. t. 3, 1868 p. 304 Pin. pinsapo) und BORODIN; BONNIER und MANGIN fanden sogar den Quotienten $= \frac{4}{5}$. Das Ver-

halten der Algen, die nach BONNIER und MANGIN einen viel kleineren Quotienten haben als 1, ist in Bezug auf Säureschwankungen schwer zu untersuchen. Dass bei den ausgewachsenen Pflanzentheilen, d. h. solchen, die nicht auf Kosten früher angehäufter Reservestoffe leben, wie z. B. bei den Blättern, diese Quotienten nicht immer konstant bleiben können, d. h. mit anderen Worten, dass die Volumenverminderung während der Verdunkelung durch den umgekehrten Prozess bei Licht ausgeglichen werden muss¹⁾, wo dann also $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} > 1$ sein muss, wurde für die Fettpflanzen bewiesen, und geht auch schon überhaupt aus der einfachen Berechnung hervor, wie viel Sauerstoff sich sonst allmählich anhäufen müsste, ohne dass eine irgend genügende Verwendung vorstellbar wäre. Die Verbrennung des Wasserstoffes in den organischen Verbindungen zu Wasser kann nämlich keinen dauernden Sauerstoffverbrauch bedingen, da ja der Wasserstoff sämtlich durch Wasser oder sehr sauerstoffreiche Verbindungen (Säuren und Salze) geliefert wird. Sollte irgendwo der Wasserstoff in relativ sauerstoffarmen Verbindungen (Fette, Lignin, Eiweiß, Terpene) auftreten, so würde bei der Bildung dieser Stoffe ein gleiches Äquivalent Sauerstoff zur Volumenvermehrung frei werden, als bei der schließlichen Verbrennung der umgebenden Luft entzogen wird; die aber überall in erster Linie in Betracht kommenden Kohlehydrate spielen wegen des regelmäßigen Verhältnisses der Zahl von Wasserstoff- und Sauerstoffatomen in Bezug auf Volumenver-

1) Es ist demnach bei volumetrischen Untersuchungen stets die Beleuchtung als Faktor in Betracht zu ziehen.

mehrung oder -verminderung gar keine Rolle. Es muss also bei den ausgewachsenen Pflanzentheilen, wo $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} < 1$ ist, eine Periodizität der Volumenschwankungen existiren; für einen großen Theil der Fälle konnten wir dieselbe auf die Säureschwankungen zurückführen, andere müssen nothwendigerweise ebenso mit dem Auftreten und Verschwinden von Öl und Fetten zusammenhängen, bei einem ev. noch bleibenden Rest werden andere Gründe zu suchen sein. — Für *Pinus Pinaster* wird unsere Annahme einer Periodizität durch DÉHÉRAIN und MOISSAN bestätigt, die bei längerer Verdunkelung Volumenvermehrung konstatariten; in Bezug auf höhere Temperaturen möchte das Wachsthum des Quotienten $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ trotz der Mangelhaftigkeit der Arbeiten von DÉHÉRAIN und MOISSAN, sowie von MOISSAN allein, mehr Wahrscheinlichkeit für sich haben, als die auffallende Konstanz von $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ bei allen Temperaturen (BONNIER und MANGIN), wovon ja unsere Erfahrungen bei den Fettpflanzen so außerordentlich abweichen würden.

In einzelnen Fällen lässt sich auch außerhalb der Reihe der Fettpflanzen Zusammenhang zwischen Volumänderung und Aciditätswechsel als fast sicher annehmen; so z. B. fand SAUSSURE (Ann. chim. phys. t. 19, 1821. De l'influence des fruits verts sur l'air etc.), dass unreife, also grüne Trauben eine viel größere (über dreimal so große) nächtliche Inspiration zeigen als reife, bei nur wenig größerer (noch nicht das doppelte ausmachender) Athmung. Ebenso sollen reife Trauben stets, falls längere Zeit untersucht, mehr Kohlensäure abgeben, als sie Sauerstoff aufnehmen, womit ja der abnehmende Säuregehalt der Nachreife in Einklang steht (St. PIERRE et MAGNIN, Compt. rend. t. 86, 1878 p. 494). Vielleicht verhalten sich auch die grünen Erbsenschoten in Bezug auf die Säureverhältnisse wie die Fettpflanzen, indem SAUSSURE bei ihnen eine starke nächtliche Inspiration nachwies.

Fassen wir noch einmal die Ergebnisse dieser Betrachtung zusammen, so kann der Sauerstoff, um den sich die die Pflanzen umgebende Atmosphäre verringert, zu verschiedenen Oxydationen verbraucht werden. Er kann 1) den Wasserstoff der Verbindungen zu Wasser oxydiren, wobei nur dann eine Volumenverminderung entstehen kann, falls die Pflanze vorher reich war an sauerstoffarmen Körpern, Fette, Harn, Proteinstoffe, bei deren Bildung hingegen eine entsprechende Volumenvermehrung auftreten müsste; hierzu würde ein Beispiel bilden die nächtliche Athmung ölhaltiger Blätter. 2) kann der Sauerstoff sauerstoffarme Körper in sauerstoffreichere verwandeln, speziell in Kohlehydrate, wovon ein prägnantes Beispiel die Keimung ölhaltiger Samen ist. 3) der Sauerstoff kann die Kohlehydrate oder sauerstoffärmere Körper in sehr sauerstoffreiche verwandeln, wobei nur die organischen Säuren ernstlich in Betracht kommen dürften; hierher gehört die

nächtliche Säurebildung der Fettpflanzen. Sind in einer Pflanze sauerstoffarme Körper nur in unbedeutender Menge vorhanden, oder zeigt die Quantität derselben keine Veränderung, trotz merklicher Volumenverminderung der umgebenden Atmosphäre, so haben wir es ohne weitere Prüfung mit dem Falle 3) zu thun, NB. falls speziell Absorptionserscheinungen ausgeschlossen sind; wir würden es also dann mit Volumverminderung in Folge von Säurevermehrung zu thun haben.

Wahrscheinlichkeit der direkten Abspaltung von Kohlensäure aus den Säuren.

Ob der Zusammenhang zwischen Volumveränderung und Säurewechsel ein direkter oder indirekter ist, lässt sich nicht ohne weiteres entscheiden; ist man auch geneigt anzunehmen, dass das Gas sich direkt von der Säure abspaltet, welche Ansicht auch MAYER ohne weiteres vertrat, so wäre es doch möglich, dass die Kohlensäure sich von einer anderen Verbindung abspalte und die Säure, oder vielleicht nur der Sauerstoff derselben, zur direkten oder indirekten Regeneration dieses Stoffes diene. Dies letztere könnte auf dreierlei Weise geschehen: entweder könnte die Säure reduziert werden und der auf diese Weise gewonnene Sauerstoff analog dem atmosphärischen Sauerstoff (ohne dass er überhaupt jemals in Freiheit zu treten braucht) in den regulären Stoffwechselprozess eintreten; dagegen spricht, wie oben erwähnt, die Beständigkeit der Säure bei intramolekularer Athmung; oder es könnte sich die sauerstoffreiche Säure mit einer sauerstoffarmen Materie zu einem Körper von mittlerem Sauerstoffgehalt verbinden, und von diesem dann direkt oder indirekt Kohlensäure abgespalten werden, wobei natürlich wieder ein sauerstoffarmer Körper entstehen müsste: dies ist deshalb unwahrscheinlich, weil solche sauerstoffarme Körper (ätherische Öle, Fette, Harze, auch Gerbstoffe) den Fettpflanzen meistens fehlen; auch wäre dann der Einfluss der Lichtwirkung, der Kohlensäure im Lichte, und vieles andere unerklärlich. Oder es könnte endlich in demselben Maße, als von einem Körper Kohlensäure abgespalten wird, Säure oder ein Spaltungsprodukt derselben (beispielsweise Kohlensäure) wieder hineintreten, oder wenigstens in die Kette der genetisch aufeinander folgenden Körper: aber auch diese Erklärung wird Schwierigkeiten haben, wegen der bis ins Detail gehenden Parallelität und Kausalität von Volumenvermehrung und Säureverminderung; für jedes neu eintretende Molekül müsste auf der andern Seite genau wieder ein Molekül austreten: würde letzteres eine kurze Zeit lang nicht geschehen, so müsste sich ein eigenthümlich sauerstoffreicher, chemisch bisher nicht aufgefundener, unbekannter Körper anhäufen. Würde dagegen das Umgekehrte eintreten, sich Kohlensäure abspalten, ohne Ersatz durch die Säure, so hätten wir eine von Säurezersetzung unabhängige Volumvermehrung, was bei den

Fettpflanzen nie beobachtet werden konnte. Die Beziehungen zwischen Säure und abgespaltener Kohlensäure sind nach allen Erfahrungen viel inniger als die zwischen Sauerstoff und Kohlensäure im Athmungsprozess, wo so viele Erfahrungen darauf hinweisen, dass der Prozess trotz der gegenseitigen Abhängigkeit von Sauerstoff und Kohlensäure seine Mittelstufen und Nebenprodukte hat. — Es bleibt nur noch die Möglichkeit der direkten Abspaltung von Kohlensäure aus den Säuren, die theoretisch und chemisch mindestens ebenso wahrscheinlich ist, wie die aus irgend einem anderen Körper. Wenn wir demnach auch keinen strengen Beweis für die direkte Abspaltung von Gas (Kohlensäure) aus der Säure haben, und der Natur der Sache nach wohl auch nicht haben können, so ist dies die einzige ungezwungene und alle Schwierigkeiten hebende Erklärung für die bis ins einzelne gehende Abhängigkeit der Volumvermehrung von der Säurezersetzung.

Für die Beziehungen zwischen Sauerstoffaufnahme und Säurezunahme sind fast dieselben Ueberlegungen maßgebend. Zerspaltung irgend welcher Stoffe in sauerstoffreiche Säuren und sauerstoffarme Körper (beispielsweise Oxyphensäure, wie C. Kraus annimmt) wäre nur mit der Inspiration vereinbar unter sofortiger Weiteroxydation des sauerstoffarmen Körpers; bei Entziehung von Sauerstoff müsste derselbe sich aber dann anhäufen und die Säure zunehmen; was den Thatsachen widerspricht. Gegen vorhergehenden Eintritt des Sauerstoffes in einen anderen Körper und erst spätere Abspaltung der Säuren im Laufe des Stoffwechsels würde für's erste noch die fehlende Kenntnis eines solchen sauerstoffreichen Zwischengliedes sprechen; doch könnte ja diese Zwischenstufe ein nur wenig stabiler Körper sein, der sich nicht anhäuft. Vor allem sind einer solchen Annahme keine so engen Beziehungen zwischen Inspiration und Säurezunahme im Wege, da hier nur das eine Faktum des gemeinschaftlichen Auftretens dieser Erscheinungen bekannt ist; auch theoretische Betrachtungen würden eher für als gegen diese Annahme sprechen (z. B. die nahen Beziehungen zwischen Apfelsäure und Asparagin; das Auftreten der Säuren als Zersetzungsprodukte der Eiweißkörper; die Wahrscheinlichkeit, dass Kohlehydrate irgendwie an der Zusammensetzung der Eiweißkörper betheiligt sind etc.); die entgegengesetzte Annahme, dass die freien Kohlehydrate sich einfach zu Säuren oxydiren, ist andererseits freilich chemisch auch recht gut denkbar, so dass die Frage, ob die Säure durch direkte oder indirekte Oxydation entsteht, zweifelhaft bleiben muss, während die C. Kraus'sche Annahme sehr wenig Wahrscheinlichkeit hat. Großen Werth wird die Lösung, ob direkte oder indirekte Oxydation hier stattfindet, kaum besitzen; da die eventuellen Zwischenglieder zwischen Sauerstoffanlagerung und Säureabspaltung nur wenig beständige Körper im Stoffwechsel sein können.

Art der Betheiligung des Sauerstoffes bei der Säurezerspaltung.

Wichtiger ist die Frage, die schon oben angeregt wurde, ob bei der Säurezersetzung der Sauerstoff als Oxydationsmittel direkt betheiligt ist, oder ob er nur durch Vermehrung der Energie des Stoffwechsels die Säurezerspaltung bewirkt. Trotz vieler Mühe ist es mir nicht gelungen, irgend eine wirklich völlig entscheidende Thatsache für eine dieser Möglichkeiten festzustellen. Chemisch sind gewiss beide Ansichten vorstellbar; völlige Oxydation zu Wasser und Kohlensäure einerseits, Spaltung, vielleicht mit Hilfe des Wassers, andererseits, wobei als Endprodukt dann Kohlensäure, sowie ein wieder Zucker lieferndes Material entstände. Milchsäure dürfte dies Produkt kaum sein, schon weil sie nach MAYER in Bryophyllum nicht nachweisbar ist. Denkbar und chemisch sehr möglich wäre hier eine Entstehung von Aldehyd, welcher auch bei der Behandlung von Apfelsäure mit Schwefelsäure, ebenso auch von Gährungsmilchsäure neben Ameisensäure entsteht; auch wies BOURGOIN bei der Elektrolyse (Ann. chim. 4 sér. 44 p. 434) neben einer Spur Essigsäure viel Aldehyd nach (andererseits CO^2 , O, CO). Es stimmen außerdem beide Ansichten zu der Beziehung zwischen Säureverbrauch und Volumvermehrung im Lichte, indem nach beiden Annahmen für jedes zersetzte Apfelsäuremolekül eine Volumenvermehrung um ein Sauerstoffmolekül auftreten muss; das eine Mal einfach Abspaltung von 1 Mol. CO^2 , welches durch Assimilation durch 1 Mol. O^2 ersetzt wird; das andere Mal Oxydation durch 3 Mol. O^2 zu 4 Mol. CO^2 (entspr. 4 Mol. O^2) + 3 Mol. H^2O .

Trotzdem möchte man auch von rein chemischem Gesichtspunkte aus, in Anbetracht der leichten Oxydationsfähigkeit der Säuren (schon durch Sauerstoffüberträger im Lichte, siehe DE VRIES) der Oxydationsannahme den Vorzug geben, zumal da hier ja die in chemischer Beziehung sehr energisch wirkenden Lebensprozesse noch durch die Gegenwart von genügendem Sauerstoff im status nascendi (durch die Assimilation) unterstützt werden. — Auch lassen die Fettpflanzen, falls man ihre Lebensprozesse durch Wärme zu steigern sucht, in Wasserstoff oder in luftleerem Raum keine Säureabnahme erkennen, was kaum allein einer Schädigung zugeschrieben werden darf. Auch wäre nach der Spaltungshypothese eine längere Nachwirkung nach der Verdunkelung zu erwarten, da die gesteigerten Lebensprozesse nicht so plötzlich wieder erlahmen dürften. Andererseits lässt sich bei Früchten (namentlich in der Wärme) und bei Gährprozessen eine Säureabnahme ohne Sauerstoff sicher erweisen, so dass also in manchen Fällen die Energie der Lebensprozesse auch ohne Sauerstoff stark genug sein kann, um die Säure zu zersetzen.

Möglichkeit der Entstehung von Kohlehydraten aus Säuren.

Das Wachstum von Schimmelpilzen auf reinen organischen Säuren oder deren Salzen beweist unzweifelhaft, dass auch Kohlehydrate aus den Säuren entstehen können. Auch für Früchte liegt nahe, anzunehmen, dass ein Theil der Säuren in Kohlehydrate umgewandelt wird; die obigen Untersuchungen zeigen, dass es in den Früchten für glatte Oxydation des verbrennbaren Materiales an Sauerstoff fehlt; ohne Sauerstoff werden trotzdem die Säuren in den Früchten zerspalten, folglich ist anzunehmen, dass auch bei dem normalen ungenügenden Sauerstoffzutritt derartige Zerspaltungsprozesse thätig sein werden. — Auch zeigt gerade zur Zeit der stärksten Säureabnahme der Zucker die geringsten Verluste, da wir aber sonst wissen, dass die Säurezersetzung von der Stärke des Stoffwechsels abhängig ist, so würde also der Zucker hier zur Zeit eines besonders starken Stoffwechsels am wenigsten affizirt werden, was durch Annahme einer Regeneration des Zuckers aus den Säuren leicht verständlich sein würde. Auch ist es sehr möglich, dass die Aenderung des Verhältnisses der Zuckersorten zu einander (zu Gunsten der Laevulose) gerade während der Periode der starken Säurezersetzung vielleicht zu letzterer in naher Beziehung steht. Wenn auch die Quantitäten der gebildeten Laevulose größer sind als die der gleichzeitigen Säureabnahme, so ist wieder darauf hinzuweisen, dass die Säurezersetzung weit größer ist, als die Säureabnahme, die nur die sichtbare Resultante zweier entgegengesetzter Prozesse darstellt.

Bei *Bryophyllum* wurden die verschiedensten Versuche angestellt, ferner auch bei *Funaria hygrometrica*, in etiolirten oder entstärkten Blättern durch Ernährung mit Säuren oder deren Salzen im Dunkeln Entstehung von Stärke nachzuweisen. Während die daneben befindlichen, mit Zuckerlösung ernährten Stücke die Stärkebildung außerordentlich klar zeigten, wurde bei Ernährung mit Säuren nie eine Spur gefunden. Leider kann man freilich auch keine genügende Konzentration der Säuren und Salze herstellen, sowohl wegen direkter Schädigung als auch wegen Aufhebung des Turgors. Aber auch nach etwaiger Beseitigung dieser Schwierigkeiten dürfte es zweifelhaft sein, ob die Säurezersetzung schnell genug von statten gehen würde, um dabei Material zur Ablagerung in den Zellen zu liefern.

Wie dem auch sei, soviel ist jedenfalls sicher, bei *Bryophyllum* ist Sauerstoff nöthig zur Zersetzung der Säuren; da wir aber überall, wo Säure bei Gegenwart von Sauerstoff zersetzt wird, wenigstens neben einer Spaltung auch eine starke Oxydation wahrnehmen und annehmen dürfen, so werden wir uns auch hier für eine solche entscheiden, dabei der Möglichkeit Raum gebend, dass ein Theil vielleicht bei diesem Prozesse wieder in Kohlehydrate umgewandelt wird.¹⁾

1) Hier ist die Stelle, darauf hinzuweisen, dass LIEBIG bei Behandlung von Apfel-

Namentlich auch die unten näher zu besprechende Thatsache, dass die Pilze bei genügender Sauerstoffzufuhr auch Säuren verarbeiten, die sie als Nährstoffe gar nicht brauchen können, spricht recht gewichtig für die Annahme einer Oxydation. Bei einer Oxydation so einfacher Körper wie unsere organischen Säuren ist kaum eine andere Möglichkeit denkbar, als die Verbrennung zu Kohlensäure und Wasser, und diese werden wir demnach auch für die Fettpflanzen anzunehmen haben.

Zersetzung von aussen gegebener Säure durch die Pflanzen.

Die Fettpflanzen verbrauchen aber nicht nur die Säure ihrer eigenen Zellen, sondern sie sind auch im Stande, aus einer sie umgebenden ganz schwach sauren Lösung die Säure verschwinden zu machen; Bryophyllumblätter in Lösungen von Apfelsäure von $4\frac{1}{2} \text{ ‰}$ ¹⁾ bewirkten nach 6 stündiger Belichtung eine deutliche und in allen Versuchen unverkennbare, wenn auch natürlich absolut genommen nicht sehr bedeutende Verminderung der Acidität der Lösung²⁾ (Tab. XIX, A); es wurde z. B. häufig während der täglichen Exposition 2—3 mg zugegebene Säure durch 1 g Bryophyllumblatt zersetzt. Auch beim Dunkelstellen der Blätter in gleichen Lösungen verminderte sich die Säure ein wenig, aber in viel geringerem Maße als bei Belichtung (Tab. XIX, B); selbstverständlich muss die Kohlensäure bei der Titrirung entfernt werden, was durch längere Erhitzung auf dem Wasserbade, selten durch Aufkochen der Lösung geschah, nachdem die Blätter so lange abgespült waren, bis das Spülwasser dauernd neutral wurde. — Dass die Säure wirklich verbraucht und nicht etwa aufgespeichert wurde, ersieht man aus der Säurezersetzung in einem auf Apfelsäure schwimmenden Blattstück von Bryophyllum, welches 1 g wog und 7,1 mg Säure enthielt (nach einer Kontrollbestimmung), wovon es 3,9 mg am Lichte zersetzte, nur 0,4 mg weniger als ein auf destillirtem Wasser schwimmendes gleich großes und gleich exponirtes Nachbar-Blattstück; während dieser Zeit hatte es aber noch obendrein 1,9 mg der Apfelsäure in der Lösung zersetzt. Würde das

säure mit Braunstein im Destillat Aldehyd nachweisen konnte; also trotz Oxydation doch auch Abspaltung eines vermuthlich assimilirbaren Körpers. Auch ERLÉNMEYER (Ber. d. chem. Ges. 1877 p. 634) denkt sich die Oxydation der Oxysäuren zu den nächst niederen Fettsäuren und Kohlensäure derart, dass sich die Oxysäuren zunächst in Ameisensäure und das Aldehyd der Fettsäure spalten, und diese dann erst weiter oxydirt werde.

1) Viel stärkere Lösungen darf man wegen der großen Empfindlichkeit der Pflanzen gegen freie Säuren nicht nehmen; schon bei unserer Konzentration starben sie meist nach 3—6 Tagen.

2) In Bezug auf die Versuche STUTZER'S (Versuchsstat. Bd. 21 1877), die Ähnliches beweisen sollen, kann ich mich nur der berechtigten Kritik SCHMÖGER'S (Ber. d. chem. Ges. 1879) anschließen.

Blatt diese ganze Säure nur aufgespeichert haben, so hätte es von seiner eigenen Säure 4,5 mg mehr zersetzen müssen als das auf destillirtem Wasser befindliche Stück. Noch klarer spricht ein mehrtägiger Versuch mit täglich erneuerter Lösung, wo am Ende das Blatt weniger Säure enthielt, als es im Ganzen der Lösung entzogen hatte; das Blatt enthielt am Anfang des Versuches 45,3 mg Säure, am Ende 4,8 mg und hatte außerdem noch 42,6 mg Apfelsäure der Lösung zersetzt. Durch die tagelang sich fortsetzende Abnahme der Acidität der Lösung (Tab. XIX, A, B) wird auch bewiesen, dass hier keine ev. Neutralisation der Säure durch irgend welche inkrustirende Substanzen der Zellwände, z. B. kohlensauren Kalk, vorliegen kann, im übrigen eine Fehlerquelle, die ganze Reihen meiner Versuche mit Wasserpflanzen werthlos gemacht hat; auch hört die Säurezersetzung auf, sobald man das Blatt tödtet, oder es durch längere Fortsetzung des Versuches schließlich leidet. Um die Zersetzung der Säure durch das Licht an sich zu eliminiren, wurde stets mit Kontrollversuchen gearbeitet, bei welchen die Lösung ohne Pflanzen genau den gleichen Bedingungen ausgesetzt wurde. Die starke Säurezersetzung am Lichte könnte der Wirkung des im Assimilationsprozesse entwickelten Sauerstoffes außerhalb des Blattes zugeschrieben werden; jedoch zeigt selbst die leicht oxydirbare Oxalsäure allein bei genau gleicher Exposition mit fortwährender Durchleitung von Luft in unseren Versuchen stets beträchtlich geringere Entsäuerung (Tab. XIX, D); es scheint demnach, dass die Säure erst ins Innere des Blattes dringt, bevor sie im Stoffwechsel der Pflanze zersetzt wird.

Auch andere Pflanzen (Tab. XIX, A, C, D) mit Säureperiodizität (*Aechmea*, *Maxillaria*), sowie auch ohne dieselbe (*Mais*, *Kürbis*, *Polypodium*), mit viel Säure (*Clusia*) oder wenig (*Nerium*) zeigten diese Säureverminderung; auch wurde sie bei Oxalsäure konstatiert (Tab. XIX, D); so dass es eine allgemeine Erscheinung zu sein scheint, dass die Pflanzen eine gewisse Menge von außen gegebener leicht oxydirbarer Säure (nam. im Licht) zu zersetzen im Stande sind, was mit unserer Auffassung über die Bedeutung der Säuren auch völlig im Einklang steht.

Schlussbetrachtungen: Über die Stellung der Säuren im Stoffwechsel.

Werfen wir nun zum Schluss noch einen Blick auf das Verhältnis der Säuren der Fettpflanzen zum Stoffwechsel als Ganzem. Da die Säurebildung mit einem Oxydationsprozess in Zusammenhang steht, so dürfen wir dieselbe folglich wohl dem allgemeinen Athmungsprozess unterordnen; da der Entsäuerungsprozess mit Kohlensäureabspaltung endet, so dürfen wir die Säuren keinesfalls als ein Exkret, höchstens als ein Nebenprodukt des Athmungsprozesses betrachten. Wir finden aber, dass bei *Bryophyllum* fast die Hälfte des aufgenommenen Sauerstoffes zur Bildung von Säure verwandt werden kann; auf 0,90 kbcm Volumenverminderung wurde zu gleicher Zeit

0,94 kchem CO² ausgeschieden, dabei war hier die Säurevermehrung noch gar nicht hervorragend; in günstigen Sommersversuchen wird zweifellos das Verhältnis noch weit mehr zu Gunsten der Inspiration ausfallen. Bei *Opuntia* würde sogar, nach beiläufigen Beobachtungen SAUSSURE's zu schließen, fast der ganze eingenommene Sauerstoff zur Säurebildung verwendet werden können, sodass also die Menge des Sauerstoffs, der auf dem Wege zur Kohlensäure die organischen Säuren als Mittelstufe passirt, mindestens 4 mal so groß sein müsste, wie diejenige, welche sogleich zu Kohlensäure verbraucht wird. In meinen Versuchen mit einer anderen *Opuntiaspezies* wurde ca. $\frac{1}{3}$ des eingenommenen Sauerstoffes als Kohlensäure wieder ausgegeben, doch könnte *Opuntia ficus indica* ein passenderes Objekt sein. GRISCHOW's Ansicht, dass auch *Crassula*, *Sedum*, *Stapelia* lange Zeit Sauerstoff einathmen, ohne merkliche Mengen Kohlensäure auszuhauchen, ist sicher unrichtig. Jedenfalls müssen wir aber zugeben, dass der Ausdruck Nebenprodukt der Athmung in unserem Falle für die Säure keinesfalls passt. Aber auch der Ausdruck Durchgangsstufe oder Zwischenprodukt der Athmung ist nicht korrekt. Besser wird man thun, das Wort Athmung aus dem Spiel zu lassen, und die Säuren der Fettpflanzen einfach aufzufassen als Produkte unvollständiger Oxydation.

Man wird die Stellung der Säuren vielleicht annähernd richtig auffassen, wenn man die Vorgänge bei der Verbrennung der Steinkohlen sich vergegenwärtigt. Bei ungenügendem Sauerstoffzutritt treten unvollständige Verbrennungsprodukte auf, die bei späterem weiterem Sauerstoffzutritt größtentheils wieder weiter verbrannt werden. Auch diese Produkte unvollständiger Verbrennung kann man im Allgemeinen keinesfalls als Zwischenstufen der Oxydation auffassen, dazu gehört eingehendes Studium jedes einzelnen Körpers, und oft wird man überhaupt zu keinem Resultat kommen. Es giebt verschiedene derartige Produkte, die einen treten häufiger auf als die anderen; die einen sind gegen weitere Verbrennung widerstandsfähiger als andere. Genau so ist es mit den organischen Säuren in den Pflanzen; bald treten sie in dieser Form auf, bald in jener, bald werden sie weiter oxydirt, bald entziehen sie sich der Oxydation (z. B. durch Neutralisation, Krystallisation). Einige Säuren oxydiren sich innerhalb der Pflanzen leicht (z. B. Apfelsäure), andere nur schwierig (Oxalsäure). Bald erscheinen sie in größerer Menge (bei unvollständigem Sauerstoffzutritt, Fettpflanzen), bald nur sehr spärlich (bei gut durchlüfteten Pflanzentheilen). Dabei darf man nicht vergessen: die Säuren sind ein Produkt des Stoffwechsels. Wo großer Umsatz ist, da ist auch viel Gelegenheit für ihre Bildung, wo nur träger Austausch, da ist die Wahrscheinlichkeit ihrer Bildung verringert, und außerdem wird dort der zugeführte Sauerstoff noch eher zu völliger Oxydation hinreichen. Wo andererseits sehr starker Stoffwechsel ist, da wird auch bei Mangel an Sauerstoff durch die inneren Oxydations- und Spaltungsprozesse die Menge der Säure verringert.

Vielleicht wird nach diesen Gesichtspunkten das Auftreten und Verhalten der Säuren auch für Pflanzen ohne periodischen Säurewechsel verständlich. Vor allem ist von den übrigen viel stabileren Säuren (Oxal-, Wein- und Citronensäure) die Apfelsäure zu trennen; sie ist die häufigste aller Säuren, in mehr als 200 Pflanzen konstatiert (HUSEMANN) (d. h. fast überall, wo man sie suchte), und speziell diejenige, deren Quantität raschem Wechsel unterliegt.¹⁾ Da die Apfelsäure so leicht zersetzlich ist, wird man sie auch nie in dünnen, dem Luftzutritt offenen Organen in größerer Menge angehäuft finden, während die übrigen Säuren auch dort häufig in Menge erscheinen. Die Apfelsäure tritt besonders auf, einerseits in gegen Sauerstoff ziemlich abgeschlossenen Organen mit nicht zu starkem Stoffwechsel (z. B. Blätter der Fettpflanzen), andererseits in sehr schnell wachsenden Organen, namentlich, wenn sie auch etwas gegen den Luftzutritt geschützt sind (junge Früchte); wird der Schutz gegen Luftzutritt bei den wachsenden Früchten vollständiger, so wird auch die Säure durch die gesteigerte Produktion immer mehr zunehmen bis zu einem Maximum, wo mit dem Aufhören des Wachstums und der Zuleitung plastischer Stoffe in die Frucht auch die Möglichkeit einer gleich starken Säurebildung ein Ende findet. Aus den vorhandenen Kohlehydraten wird noch stets eine gewisse Quantität Säure gebildet werden müssen, doch wird auch bei dem starken Stoffwechsel der Früchte eine große Quantität Säure konsumirt, die schließlich die Produktion übersteigt; mit dem allmählich sich verlangsamenden Stoffwechsel nähert sich die Frucht dagegen immer mehr der Grenze, wo der aufgenommene Sauerstoff genügt, um die verschiedenen Oxydationen vollständig ausführen zu können, von welchem Punkte an die Säurebildung und demgemäß auch die Säurequantität der Frucht schnell sinken muss. Diese theoretisch hergeleitete Säureperiode findet sich, wie die vielfachen Beobachtungen der Pomologen lehren, bei reifenden, apfelsäurereichen Früchten, speziell Kernobst, verwirklicht. Bei den verhältnismäßig lange grünen Weintrauben wird die in dem lebhaften Stoffwechsel des ersten Stadiums gebildete Apfelsäure bald zersetzt, die sich dann bildende Weinsäure wird zum Theil allmählich als Weinstein gebunden, anderentheils zersetzt sie sich außerordentlich langsam (vgl. die Fachliteratur).

Auch die Beobachtungen über Säurevertheilung in den verschiedenen Organen werden hiernach verständlicher (vergl. KRAUS l. c.). In den Wurzeln findet sich am wenigsten Säure, da dort der geringste Stoffwechsel stattfindet, ebenso ist das Wassergewebe der Blätter weit säurereicher als das grüne Gewebe. In den jüngsten Internodien, wo der größte Stoffwechsel

1) Im Thierkörper wird die Apfelsäure zu Bernsteinsäure reduziert, ebenso ist bei Asparaginfütterung nach HILGER Bernsteinsäure nachweisbar; die meisten übrigen Säuren gehen größtentheils in den Urin über, falls sie nicht als Alkaliverbindungen eingeführt werden, in welchem Falle sie zu kohlensauren Salzen verbrannt werden (VIERORDT, Grundz. d. Physiol. des Menschen, p. 214).

herrscht, ist nach KRAUS relativ am meisten Säure; auch scheinen die Samen beim Keimen ihre Säure zu vermehren (s. oben). Ebenso fand ich die Blüthen meist säurereicher als die Blätter, diese aber, wie auch KRAUS angiebt, säurereicher als die Stengel. Nur bei den Fettpflanzen übertreffen die gegen Sauerstoffzutritt geschützten Blätter mit schwachem Stoffwechsel an Säurereichthum die Blüthen. Wo Blätter dauernd sehr säurereich sind, hat man es stets mit im Stoffwechsel schwerer zersetzbaren Säuren zu thun (Oxalis, Begonia—Oxalsäure, Citrus—Citronensäure, Clusia—Weinsäure?). Auch die Wasserpflanzen sollen besonders säurereich sein (SCHUMACHER), wie auch einzelne Untersuchungen meinerseits bestätigen; dies ist vielleicht eine Folge des mäßigen Sauerstoffzutrittes, oder auch durch den intensiven Stoffwechsel veranlasst. — Auffallend und näherer Untersuchung bedürftig ist dagegen eine Bemerkung WIESNER's (Untersuch. üb. d. herbstl. Entlaub. der Holzgew. Sitzsb. d. Wien. Akad. 1874 Bd. 64 1. Abth. p. 485), der die vergilbten und herbstlich gerötheten Blätter auch absolut, auf gleiche Gewichtsmenge und Trockensubstanz bezogen, säurereicher ¹⁾ fand als die grünen.

Als im Gesamtdurchschnitt gültige Regeln der für die Säurevertheilung maßgebenden Faktoren kann man anführen:

Die Säureproduktion ist proportional

- 1) der Intensität des Stoffwechsels,
- 2) dem Schutze gegen Sauerstoffzutritt;

der Säurekonsum ist proportional

- 1) der Intensität des Stoffwechsels,
- 2) der Zugänglichkeit für den atmosphärischen Sauerstoff,
- 3) der Temperatur.

Die Säureerscheinungen bei den Pilzen.

Das Verhalten der Pilze wurde schon kurz berührt. Genaue Untersuchungen über das Verhalten der Säuren im Lebensprozesse der Pilze konnten nicht in unserer Absicht liegen, und würden auch bei den vielen methodischen Schwierigkeiten eine besondere umfangreiche Arbeit erfordern. Nur hier und da wurden Kontrollversuche gemacht, oder Spezialfragen selbständig untersucht; im übrigen wird es für unsere Zwecke genügen, zerstreute Bemerkungen zu sammeln, um ein leidliches Gesamtbild der Prozesse zu erhalten.

Dass die Pilze Säure bilden, ist bekannt; nur eine einzige lehrreiche Ausnahme ist neuerdings durch HOPPE-SEYLER bekannt geworden (Zeitschr. f. physiol. Chemie VIII p. 225), der zeigte, dass bei steter Gegenwart von

¹⁾ Möglicherweise in dem analogen Verhalten schlecht genährter Gährungspilze eine Erklärung findend (s. unten).

indifferentem Sauerstoff bei der Fäulnis nur Kohlensäure, Ammoniak und Wasser auftreten,¹⁾ eine Thatsache, die deutlich zeigt, dass auch bei den Pilzen Säure nur als unvollständiges Oxydationsprodukt zu betrachten ist. Von dem Säurevorkommen in den größeren Pilzen kann man sich durch die Reaktion leicht überzeugen (vergl. auch G. KRAUS l. c.); häufig treten selbst Oxalatkristalle in ihrem Zellsaft auf (HAMLETH und PLOWRIGHT wiesen in 26 Fällen bei Basidio- und Gastromyceten Oxalsäure nach; 1877).

Bei Gegenwart von Sauerstoff werden die meisten organischen Säuren (Wein-, Apfel-, Citronensäure) leicht von Pilzen, beispielsweise Schimmelpilzen verbrannt; selbst bei der Oxalsäure konnte ich fast vollständiges Verschwinden konstatiren, als fertige Penicilliumkulturen gut ausgewaschen (bis das Filtrat keinen Zucker mehr enthielt) auf eine reine 1,5‰ige Säure gesetzt wurden; während das daneben stehende Kontrollgefäß eine starke Fällung mit Kalkwasser gab, war hier nur eine Spur bemerkbar, wohingegen bei dem vorhergegangenen Aufkochen eine deutliche Menge Kohlensäure auftrat; da die Oxalsäure kein Nährstoff sein kann (vergl. NÄGELI, Untersuch. üb. niedere Pilze), brachte es selbstverständlich die Kultur auch nicht zur Fruktifikation. Bei Hefe hatten gleiche Versuche in offenen Gefäßen kein Resultat; es fragt sich aber, ob der zu den sich senkenden Hefezellen gelangende Sauerstoff genügen konnte, um die Verbrennung der Säure zu veranlassen. Auf Oxalsäure ausgesäte Schimmelsporen haben bei meinen Versuchen nie gekeimt (ebenso auch nicht bei NÄGELI, Untersuch. üb. nied. Pilze p. 5, der auch auf oxalsaurem Ammoniak keine Spaltpilzoxydation beobachtete), dagegen will BLASS (Üb. d. Schimmelbildg. in d. wässerig. Lösg. der org. Säur. Arch. f. Pharm. 1873 p. 306) in einer 0,4% Oxalsäure enthaltenden Lösung nach mehreren Monaten ganz geringe Flocken beobachtet haben; doch können Verunreinigungen im Spiel gewesen und kann die Säureabnahme ebensogut durch Licht hervorgerufen sein, denn auch die nebenstehende gekochte Lösung zeigte Säureabnahme. Dagegen scheint WERNER (Arch. f. Pharm. 1872) die Oxalsäureverarbeitung durch Schimmel schon beobachtet zu haben, doch war auch bei ihm Lichtwirkung und Luftoxydation nicht ausgeschlossen. BÉCHAMP (Comptes rend. 1870 u. 71 p. 69) hat ebenfalls Schimmelpilze und Bakterien in einer 3,3% Lösung von oxalsaurem Ammon gefunden (0,08 g Trockensubstanz), ferner etwas Alkohol und Essigsäure, sowie eine stark alkalische Reaktion, was alles ziemlich beweisend wäre, wenn er nicht gleich darauf in destillirtem Wasser Alkohol nachgewiesen hätte. Die geringsten Verunreinigungen können hier kleine Fehler hervorrufen, doch ist es freilich durchaus nicht ausgeschlossen, dass ein klein wenig der in der That verarbeiteten Oxalsäure wieder in einen aufbaufähigen Körper sich um-

1) Selbstverständlich wohl abgesehen von der minimalen Säurevermehrung infolge etwaiger Zahlzunahme der Bakterien.

wandelt. Von einiger Bedeutung für diese Möglichkeit ist BERTHELOT's Beobachtung, dass bei der Oxydation zweibasischer Säuren durch Kaliumpermanganat auch einbasische Säuren entstehen (Ann. chim. phys. 4 sér. t. 15 1868 p. 367); bei der Malonsäure entsteht Essigsäure, analog würde aus Oxalsäure Ameisensäure entstehen, die leicht spurweise zu Formaldehyd reduziert werden könnte. Andererseits führt Wasserstoff im Entstehungszustande die Oxalsäure in Glycolsäure und Essigsäure, also in Nährstoffe über, und dass Pilze selbst bei Luftzutritt ohne Nahrungsaufnahme in ihrem eigenen Lebensprozess wenigstens spurweise reduzierende Stoffe entwickeln, ist nicht unwahrscheinlich.

Essigsäure, Apfelsäure, Citronen- und Weinsäure werden nicht nur von den Schimmelpilzen verbrannt, sondern sie wachsen sogar auf ihnen mäßig gut (ZÖLLER, Journ. f. Landw. 1874 p. 284 ü. Ernährg. und Stoffbildg. d. Pilze; vergl. auch NÄGELI), auch keimen sie auf denselben, jedoch, wie verschiedene meiner Versuche bestätigten, nur bei Zutritt von Sauerstoff; Aussaaten von *Penicillium* auf Apfelsäure in Wasserstoff keimten nicht, und ebensowenig brachten es fertige Kulturen, auf Apfelsäure in Wasserstoff gebracht, zur Fruktifikation. Analoges Verhalten fand ich, in Uebereinstimmung mit NÄGELI, auch bei Hefe.

Die Gährungserreger produziren alle als Neben- oder Hauptprodukt Säuren, meist solche der Fettreihe von der Essigsäure an aufwärts, außerdem namentlich Bernsteinsäure, alles Säuren, durch deren Spaltung nach BERTHELOT's thermochemischen Untersuchungen kein Gewinn an Energie erzielt werden kann. Sie sind zum Theil wohl als sekundäre Reduktionsprodukte aufzufassen, wenigstens lässt HOPPE-SEYLER (Arch. f. d. ges. Physiol. XII p. 15) durch den bei dem Gährungsprozess nascirenden Wasserstoff Milchsäure zu Propionsäure, Wein- und Apfelsäure zu Bernsteinsäure reduziert werden¹⁾, womit ja auch das Faktum der Reduktion von Apfelsäure zu Bernsteinsäure im Thierkörper übereinstimmt (s. oben). Hefe produziert bekanntlich Bernsteinsäure in ziemlicher Menge und daneben Spuren von Essigsäure (BÉCHAMP, Compt. rend. t. 56 p. 969; t. 88 p. 430, p. 719; DUCLAUX, Thèse présentée à la faculté d. sciences 1865), und zwar übt Sauerstoffzutritt auf die Menge der gebildeten Essigsäure wenig Einfluss

1) Auch in unreifen Trauben wurde die Anwesenheit von Bernsteinsäure konstatiert (BRUNNER und BRANDENBURG), ebenso in *Sapindus* und *Ceratonia*, von Apfelsäure begleitet. Da bekanntlich in den Früchten Gährprozesse thätig sind, so wird man auch dort die reduzierten Säuren der Gährthätigkeit erwarten dürfen, und in der That sind die Säuren der Fettreihe in den verschiedensten Früchten aufgefunden, z. B. Buttersäure in Tamarinden, *Sapindus*, *Ceratonia*, Ginkgofrüchten. Interessant und wohl nicht ohne Bedeutung ist die Parallelität und Gleichzeitigkeit des Verschwindens der Apfel- und Bernsteinsäure in den unreifen Trauben, ebenso dass auch die Essigsäure der gewöhnlichen Gährung ihr Analogon in der gleichfalls bald verschwindenden Glycolsäure der Trauben, sowie in der nach FAMINTZIN und andern ebenfalls bald verarbeiteten Oxalsäure findet.

aus, wie BÉCHAMP durch Kohlensäuredurchleitung einerseits und Wasserzersetzung durch den elektrischen Strom andererseits zu erweisen sucht; die Essigsäuremenge ist nach ihm mehr von der Temperatur und der Natur der Hefe abhängig. Ein in Bezug auf die Sauerstoffwirkung ähnliches Resultat erhielt ich bei Titrirung der ganzen Säuremenge; bei gleicher Menge Trockenhefe bildete sich bei gutem Luftzutritt 97,1 Säure, bei Luftverdrängung durch Wasserstoff 94,3; doch geht dies Resultat nur parallel der Thatsache, dass die Alkoholbildung durch Sauerstoffzutritt nicht vermindert wird.

Ob Milchsäure bei gänzlichem Abschluss von Sauerstoff durch Gährvorgänge entstehen kann, ist meines Wissens bis jetzt nicht konstatiert worden; es wäre dies noch bei der nicht-PASTEUR'schen Milchsäuregärung (die PASTEUR'sche Form ist von Sauerstoff abhängig), sowie bei den umgeschlagenen Weinen zu untersuchen, wo nach GAUTIER (Compt. rend. t. 86 p. 1336) und BALARD (Compt. rend. t. 53 p. 1226) Milchsäure auftritt. Ebenso tritt nach BÉCHAMP bei dem Umschlagen des Weines Tartronsäure, also auch eine Oxydsäure, auf; doch weiß man hier gleichfalls nichts über die Theiligung des Sauerstoffs. Beide Säuren sollen sich hier aus der Weinsäure bilden, und dürften sie vielleicht nur Zwischenglieder darstellen zu der gleichfalls in Menge auftretenden Essigsäure. — Auch Oxalsäure (wenigstens als Calciumsalz) wurde von LERMER bei der Gärung konstatiert, und GAUTIER und ETARD (Compt. rend. t. 94 p. 1357 u. 1598) wiesen auch bei der Fäulnis von Eiweißstoffen neben Buttersäure etc. sowohl Milchsäure als auch Oxalsäure nach, doch ist es nicht klar, ob und wie weit der Sauerstoff Zutritt hatte.

Apfel-, Wein- und Citronensäure wurden wohl nie bei den Gährvorgängen konstatiert, auch würden sie, falls sie überhaupt ohne Sauerstoffzutritt je gebildet würden, sofort bei dem starken inneren Stoffwechsel weiterer Zerspaltung, und selbst bei geschwächter Gährkraft mindestens einer Reduktion in Bernsteinsäure und Essigsäure anheimfallen. Beweis hierfür ist, dass, falls man diese Säuren gährenden Flüssigkeiten zusetzt, dieselben zum Theile verschwinden, so z. B. bei der Verminderung der freien Säure bei der Weinbereitung; nach BERTHELOT und FLEURIEN (Ann. chim. phys. 4. sér. 1865 p. 249) verminderten sich 10,0 g Säure nach 15 Tagen auf 5,8 g, welche Abnahme nur zum Theil in dem Auskrystallisiren des in alkoholischen Flüssigkeiten weniger löslichen Weinstein ihre Erklärung finden kann. — Ebenso wird auch nach POPOFF (Arch. d. ges. Physiol. X p. 142) ameisensaures Calcium durch Kloakenschlamm zersetzt (zu Wasserstoff und kohlensaurem Kalk); desgleichen nach HERTER essigsaurer Kalk mit Kloakenschlamm zu Kohlensäure und Sumpfgas.

Was die Bedingungen der Säurebildung bei den Gärungen betrifft, so ist vor allem auf die Arbeiten PASTEUR's hinzuweisen, dessen wiederholte Untersuchungen bewiesen haben, dass bei der Alkoholgärung die Säuren

vorzugsweise bei ungenügender Ernährung entstehen (unter anderen Ann. chim. phys. 3 sér. 58 p. 330), was BÉCHAMP (Compt. rend. t. 75 p. 4036 u. t. 88 l. c.) für die Essigsäurebildung bei der Alkoholgährung, A. SCHULTZ (Ann. d. Oenol. VII p. 445) für die Bildung flüchtiger Säuren durch den Kahmpilz, DUCLAUX (Encycl. chim. Chimie biolog. 1883) für die Oxalsäurebildung der Aspergillusrasen bei langsamer Vegetation noch näher ausführen; auch bei der Selbstgährung wies BÉCHAMP Essigsäure nach. Der innere Zusammenhang liegt nach dem oben für die höheren Pflanzen Gefundenen auf der Hand; die durch die äußeren Einflüsse geschwächten Pilze besitzen nicht mehr so starke Gährtüchtigkeit und Energie der Lebensprozesse, um im Stande zu sein, die im Laufe des Stoffwechsels sich fortwährend bildenden Säuren weiter zu zersetzen, weswegen diese sich anhäufen müssen.

Auch das nur sehr schwach gärende Penicillium soll nach BREFELD (Landw. Jahrb. V p. 299) in Wasserstoff neben etwas Alkohol auch einige Säure hervorbringen, welchen monatelang sich hinziehenden Prozess er mit dem recht umfassenden Namen einer langsamen Absterbenserscheinung bezeichnet; ebenso fasst er die Säurebildung auf, welche in Weintrauben in Wasserstoff vor sich gehen soll (?) (nur durch Geschmack geprüft, Fehlerquelle der Zuckerabnahme). Wichtiger ist die von BREFELD hervorgehobene Thatsache, dass die schlechter gärenden Pilze weniger Alkohol und Kohlensäure und mehr Säure hervorbringen (*Mucor*), was wieder auf eine gleiche Beziehung der Säure zur intramolekularen Kohlensäureexpiration hinweist, wie wir sie oben für die normale Athmung haben konstatiren können. Wie dort die ausgebildeten Fettpflanzen das äußerste Glied der Reihe darstellen, indem sie wenig Kohlensäure und viel Säure produziren, so ist es hier mit der Buttersäuregährung, bei der nur wenig Kohlensäure und Alkohol, dagegen eine große Menge Säure entsteht.

Dass bei Lüftung des gärenden Mostes der gebildete Wein weniger Säure enthält, was wiederholt konstatirt wurde (PETERSEN, Meddelels. fra Carlsb. Laborat. 1878), wird umgekehrt einer Förderung der Säurezersetzung zuzuschreiben sein, sei es durch Einleitung direkter Oxydation, sei es indirekt durch Verstärkung der Gährtüchtigkeit. Wir wissen ja auch im allgemeinen, dass mit Zutritt der Luft die bei den Gährungen gebildeten, schwerer zersetzbaren Säuren durch Pilze verarbeitet werden können, zum Theil sogar von denselben Pilzen, die sie bei der Gährung gebildet haben; dies ist z. B. für die Essigsäure, Bernsteinsäure, Buttersäure (PASTEUR, Compt. rend. t. 56 1863), Oxalsäure (s. oben) erwiesen; für die höheren Säuren der Fettreihe sind mir bestimmte Versuche in Bezug hierauf nicht bekannt, doch ist auch hier zweifelsohne das Gleiche der Fall.

Die sog. Oxydationsgährungen, wozu vor allem die Essigsäuregährung, sowie die PASTEUR- und BOUTROUX'sche Milchsäuregährung gehört (nach BOUTROUX bei beiden Gährungen vielleicht sogar derselbe Pilz), zeigen die meiste Analogie mit der Säureproduktion der höheren Pflanzen. Auch bei ihnen

ist die Säurebildung, wofür NÄGELI (Theorie der Gährung, p. 111 ff.) anatomische Gründe beibrachte, von einer beschränkten Sauerstoffzufuhr abhängig. Der Milchsäurepilz scheidet nur ein Viertel des aufgenommenen Sauerstoffes wieder als Kohlensäure aus, also ungefähr gleich viel wie *Opuntia* im Verhältnis zu der gebildeten Säure. Der Essigsäurepilz (*Mycod. aceti*) vermag bei Ermangelung besserer Stoffe und genügender Anwesenheit von Sauerstoff den Essig weiter zu oxydiren zu Kohlensäure und Wasser; dies beruht jedoch kaum auf einem etwaigen Wahlvermögen des Pilzes in Bezug auf die Nährstoffe, sondern wird einfach so zu erklären sein, dass Essigsäure zwar stets zersetzt wird, so lange aber Nährstoffe vorhanden sind, die bei der unvollständigen Zersetzung Essigsäure liefern können, wird die Säurezersetzung durch Säurebildung ausgeglichen; also eine völlige Analogie zu der Säurebildung der Fettpflanzen in der Nacht und der Säurezersetzung im Hungerzustande. — Nach DUCLAUX bildet auch *Aspergillus Oxalsäure*, falls man, nachdem der Pilz schon eine dicke Decke gebildet hat, die Flüssigkeit erneuert (*Encycl. chim. Chimie biolog.* p. 219); also, wie man sieht, dieselben Bedingungen des Sauerstoffmangels herstellt, wie sie bei der Essiggährung herrschen. Auch DUCLAUX schließt daraus: »l'acide oxalique représente le résultat d'une combustion imparfaite.«

Es würde also, falls unsere Auffassung die richtige ist, die Oxydationsgährung dem Lebensprozesse der Fettpflanzen viel näher stehen, als die übrigen Gährungen. Wie intramolekulare Athmung und wahre Gährung zusammengehören, so auch Oxydationsgährung und unvollständige Athmung. Würde man in einer Kultur von *Mycoderma aceti* zu gleicher Zeit grüne *Protococcaceen* kultiviren können, so würde auch hier das Phänomen nächtlicher Säurebildung und Entsäuerung am Lichte in Erscheinung treten müssen. Dass die eine Erscheinung Gährung genannt, die andere der Athmung substituirt wird, kann die Zusammengehörigkeit beider Prozesse nicht beeinträchtigen, da der Begriff Gährung keine fest umgrenzten Lebensprozesse umfasst, wie schon daraus ersichtlich ist, dass HOPPE-SEYLER, PFEFFER und SACHS den Begriff von eben so viel verschiedenen Gesichtspunkten aus definiren; nach PFEFFER's und wohl auch nach HOPPE-SEYLER's Definition würde die Säureproduktion der Fettpflanzen streng genommen auch zu der Reihe der Gährungserscheinungen gehören. Der Begriff Gährung ist eben wie so viele geschichtlich entstanden und hat sich den neuen Thatsachen nur künstlich accommodiren können, so dass SCHÜTZENBERGER das Richtige getroffen haben dürfte, wenn er in Bezug auf die Gährung behauptet (*Gährungserscheinungen* p. 2), »dass es keinen besonderen Werth mehr habe, die verschiedenen Reaktionen unter einem besonderen Namen zusammenzufassen.«

Anhang. Einfluss kohlenensäurereicher Luft auf die Assimilation bei Bryophyllum.

Dass die Kohlensäure in größerer Menge die Thätigkeit des Organismus beeinträchtigt, ist bekannt genug, schon SAUSSURE (Recherch. chim. 1804) hat wiederholt darauf hingewiesen: nach 7tägigem Aufenthalt der Versuchspflanze in 50 % CO² konstatierte er das Aufhören der Vegetation; bei 40tägigem Aufenthalt in 25 % CO² prosperirten sie wenig; 1/12 CO² soll jedoch in der Sonne nicht schädlich wirken. DÉHÉRAIN und MOISSAN (Ann. sc. nat. 1874) konstatierten Verlangsamung der Athmung durch Kohlensäure; ebenso BORODIN (Sur la respirat. des plantes 1875) Verlangsamung der intramolekularen Athmung im Gegensatz zu der Wasserstoffatmosphäre. BÖHM (Sitzgsber. d. Wien. Akad. 1874 p. 180) konstatierte Verzögerung der Keimung bei 5 % CO²; ähnliche Beobachtungen liegen vor von SAUSSURE und DÉHÉRAIN und SAUDRIN. Ferner fand BÖHM, dass in keimender Kresse schon durch 2 % CO² die Chlorophyllbildung verlangsamt, durch 20 % verhindert wird, und dass nach 2tägigem Aufenthalt in Kohlensäure die Pflanzen überhaupt nicht mehr ergrünen.

Auch in Bezug auf die Assimilation weisen verschiedene Versuche die Schädlichkeit der Kohlensäure, namentlich von GRISCHOW (Untersuch. über d. Athmg. 1819), BOUSSINGAULT (Agronomie t. 4 p. 286 u. Ann. chim. phys. 4 sér. 1868) und SCHÜTZENBERGER u. QUINQUAND (Compt. rend. 1873 t. 77 p. 272). BOUSSINGAULT zeigte, dass Blätter verschiedener Pflanzen in reiner Kohlensäure sehr wenig assimiliren, dagegen in 30 und auch noch in 40 % CO² außerordentlich stark. SCHÜTZENBERGER fand für Elodea das Maximum der Assimilation bei 5—10 % in Wasser aufgelöster Kohlensäure, bei 20 bis 30 % schon eine geringere, bei CO²-Sättigung des Wassers fast gar keine Assimilation. GODLEWSKI (Arbeit. d. bot. Inst. in Würzburg I p. 343) untersuchte die Frage eingehender und fand für Typha, Glyceria, Nerium Oleander die Optima zwischen 5—10 % CO² liegend, dabei auf den Einfluss der Intensität der Beleuchtung hinweisend; doch ist die Assimilation auch noch bei 20 % ziemlich stark. Dasselbe kann auch ich für Nerium Oleander bestätigen (Tab. XX, A), wo bei annäherndem Konstantbleiben des Gasvolumens (parallel gehend der Säurekonstanz, s. oben) bei 5—25 % CO² die Assimilationsdifferenzen nicht sehr bedeutend waren, während im Gegensatz dazu bei Bryophyllum die Assimilation schon bei 12 % sehr gering und bei 20 % minimal ist (Tab. XX, B). Hoplophytum grande scheint nach den wenigen angestellten Versuchen eine mittlere Stufe einzunehmen (Tab. XX, C); die Pflanze zeigt bei 10—15 % CO² eine eben merkliche Schwächung der Assimilation, Hand in Hand gehend mit einer nur geringen Verminderung

der Volumenzunahme der Luft am Lichte bei diesem Prozentgehalt an CO_2 , während bei 25% CO_2 die Volumenzunahme fast unterdrückt wird.

Man ersieht also hieraus, dass ebenso, wie das Assimilationsoptimum für verschiedene Pflanzen verschieden liegt, so auch die Schädigung der Assimilation durch einen bestimmten CO_2 -Gehalt der Luft je nach der Spezies einen sehr verschiedenen Grad erreicht, wobei *Nerium* und *Bryophyllum* wohl extreme Fälle vorstellen werden.

Diese Erscheinung ist insofern von einiger Bedeutung, als man fortan in Bezug auf die Wirkung der Kohlensäure die Erfahrungen bei einer Pflanze nicht mehr schlechtweg auf andere Pflanzen wird übertragen dürfen.

Tabelle I. Zur Methode.

A. Die Fettpflanzen halten etwas CO_2 absorbiert.

<i>Echeveria secunda</i>	vorher verdunkelt:	Acidität ¹⁾
3 g Substanz	1/4 St. auf Wasserbad	49,4
	1 1/4 » » »	46,6
<i>Echeveria secunda</i>	vorher verdunkelt:	
	20 Min. auf Wasserb.	58,2
	1 St. » »	52,5

B. Kochen vermindert die Säure.

<i>Bryophyllum</i>	1 1/2 St. auf Wasserbad, dann gleich	Acid.	33,5
	ebenso, dann 3 Min. stark gekocht		28,8
<i>Bryophyllum</i>	4 Min. aufgekocht		48,2
	1/2 St. »		8,0

Sempervivum flagelliforme Saft neutralisirt, dann 1/4 St. gek., nachher Alkaleszenz 4,8

Sempervivum tectorum 1 1/2 St. auf Wasserbad, Saft filtrirt, Filtrat sofort Acid. 24,5
aufgekocht 23,3

<i>Sempervivum tectorum</i>	Saft	gleich	40,4
	längere Zeit gekocht		4,7

C. 1 1/2 Stunden Erwärmung auf dem Wasserbade genügen zur Vertreibung der Kohlensäure.

25 kbcm Wasser mit etwa 4—5 mg darin gelöster Kohlensäure (nach Kontrollversuchen bestimmt) enthielten nach 1stündiger Erwärmung auf dem Wasserbad kaum 1/20 mg.

20 kbcm *Sempervivum*-Saft (mit 5facher Menge Wasser verdünnt) wurden nach 1 1/2stünd. Erwärm. auf d. Wasserbad durch 12,6 kbcm NaOH neutralisirt.

20 kbcm von demselben ebenso behandelten Saft nach CO_2 -Einleitung wurden nach 1 1/2stünd. Erwärm. auf d. Wasserb. durch 12,7 kbcm NaOH neutralisirt.

1) Acidität stets auf 10 g Frischsubstanz berechnet, in mg NaOH ausgedrückt.

Bryophyllum-Blatt (vorher in einer CO ² reichen Atmosphäre)	
je 1 g Frischsubst. 1 Stunde Wasserbad	Acidität 41,2
4 Stunden » » »	40,6

Nur bei (in unseren Versuchen gänzlich ausgeschlossener) völliger Sättigung des Wassers oder des verdünnten Saftes mit CO² sind 1½ Stunde wohl nicht ganz ausreichend zur völligen Vertreibung der CO².

25 kbcm Bryophyllumsaft, stark verdünnt, 1½ St. Wasserb.	Acid. 4,8
dito nach Sättigung mit CO ²	5,2

100 kbcm destill. H ₂ O, mit CO ² gesättigt, 40 Min. auf Wasserb.	Acid. 5,5
entsprechend 2,9 mg CO ² .	

Bryophyllum, vorher dunkel gehalten, also mit CO ² in Berührung gekommen,	
1½ Stunde auf Wasserbad	Acid. 42,2
dito, dann ½ St. unter der Luftpumpe bis zum Kochen erwärmt	42,8

D. Bei längerem Stehen des verdünnten Breies der verriebenen Pflanzen merkbare Säureabnahme und zwar durch Bakterienwirkung (Beweis: Verhinderung der Säureabnahme durch Chloroform und vorheriges Erhitzen auf dem Wasserbad, relative Unabhängigkeit von dem Lichte, Abhängigkeit von der Wärme, mikroskopischer Nachweis).

	Acidit.
Bryophyllum Saft gleich titrirt	47,3
Saft vorher 24 St. bei 35°	25,0
Bryophyllum Saft gleich titrirt	64,5
» hell stehen gelassen bis Abends	58,6
» kalt dunkel stehen gelassen 24 St. 16°	59,2
» warm » » » 35°	36,5
» ¼ St. Wasserbad, dann » » 22°	64,4
Bryophyllum-Saft 24 St. 35°	23,5
dito, mit Chloroform durchschüttelt	50,0
Sempervivum gleich titrirt	10,4
Saft 24 St. 35°	9,0
dito, mit Chloroform	9,7
Sempervivum-Saft. Filtrat Abends	4,5
nächsten Morgen	4,0
nächsten Abend	3,8
Bryophyllum bis 2 Uhr dunkel, dann verrieben	51,4
verrieben, aber bis 6 in d. Reibschale d. Sonne ausgesetzt	45,8

E. Die verschiedenen Theile desselben Blattes zeigen annähernd gleichen Säuregehalt.

	Acidit.		Acidit.
Bryophyllumblatt in 4 Theile getheilt	33,6	Bryophyllumblatt	45,3
nach Entfernung von Spitze	33,7	die beiden Hälften	45,4
und Basis	34,4		
	35,2		

Tabelle II.

A. Zum Abschnitt: Konstatirung faktischer Säureabnahme im Lichte.

Bryophyllum, ganze Pflanze dem Lichte exponirt, Morgens	54,8
Nachmittags	26,0
Bryophyllum, ganze Pflanze der Wärme ausgesetzt, vorher	48,3
48 Stunden 35° nachher	45,1

Zum Abschnitt: Ansäuerung und Entsäuerung zwei gleichzeitig vor sich gehende Prozesse.

B. Bestätigung von DE VRIES' Wärme- und Dunkelentsäuerung der Fettpflanzen.

		1)	2)	3)	4)	5)
Bryophyllum	Morgens	81,7	53,4	48,1	51,3	49,4
	20 St. 35° dunkel	29,0	26,9	19,0	26,3	28,8
Bryophyllum	morgens	61,9				
	12 St. 18° dunkel	59,7				
	12 St. 35° dunkel	46,8				
Bryophyllum	morgens					32,6
	abends (Tags dunkel 20°)					24,8
Echeveria metallica	morgens	41,7				
	20 St. warm 35°	17,0				
Echeveria retusa	20 St. 18° dunkel					29,7
	20 St. 35° »					20,6
Aloë arborescens	morgens	43,2				
	dunkel 20 St. 18°	47,8				
	20 St. 35°	28,0				
Aloë latifolia	dunkel 20 St. 18°					16,7
	» 35°					8,0

C. Auch nach vorhergegangener Belichtung nimmt die Säure bei 35° in der Nacht ab.

Bryophyllum	abends	23,0	Bryophyllum	abends	44,2
nächsten Morgen	{	nachts 18° 39,9	nächsten Morgen	{	nachts 18° 88,0
		» 35° 20,9			» 38° 29,8

D. Das Maximum der Säurezunahme liegt bei einer ziemlich niedrigen Temperatur.

Bryophyllum	abends	10,3	Bryophyllum	abends	17,8
am and. Morgen	{	nachts 11° 23,3	am and. Morgen	{	nachts 10° 46,9
		» 21° 15,0			» 16° 47,9
					» 23° 42,3
Bryophyllum	nachts 10°	39,4	Bryophyllum	abends	24,5
	21°	27,8	am and. Morgen	{	nachts 8—9° 31,5
					» 20° 32,1

Bryophyllum	abends	29,2	Bryophyllum proliferum ¹⁾	abends	9,5
	am and. Morgen	nachts 0°		nachts 14°	20,3
				» 19°	17,0
				» 38°	10,8

E. Säurezunahme am Tage bei dunkler Beleuchtung.

Bryophyllum	morgens	54,3	Bryophyllum	morgens	38,9
	nachmittags	{		nachmittags	{
		Tags hell			Tags rothe Glocke
		28,3			12,9
		Tags diffuses			» diffus. Licht,
		schwaches Licht			dicht beim
		53,4			Fenster
		Tags dunkel			34,9
		46,8			» diffus. dunkle
Bryophyllum	morgens	46,8			Seite des
	4 1/2 St. hell	37,5			Saales
	3 St. diffus. schwach. Licht	48,5			47,4
Bryophyllum	morgens	46,0			» über dunkel
	nachmittags	{			» gehalten
		Tags besonnt			39,6
		43,3			
		Tags diffus,			
		aber sehr hell			
		24,4			
Bryophyllum					
	nachmittags	{			
		Tags über hell			63,3
		» » dunkel			98,0
		dunkle Zimmerseite	{		» » rothe Glocke
					103,3
					» » blaue »
					101,4

F. Das Minimum der Säure fällt auf den Nachmittag.

Bryophyllum	morgens	43,6	Bryophyllum	morgens 9 Uhr	45,4
	Tags über hell	{		Tags über hell	{
		1 Uhr			1 Uhr
		46,9			22,5
		4 1/2 Uhr			4 1/2 Uhr
		24,6			25,5
Bryophyllum	morgens 9 Uhr	30,4	Bryophyllum	morgens 9 Uhr	58,0
	Tags über hell	{		Tags über hell	{
		10 1/2 Uhr			2 Uhr
		28,8			29,9
		12 1/2 Uhr			4 1/2 Uhr
		46,7			34,6
		3 Uhr			
		46,4			

G. Gleichgewichtszustand zwischen Säureab- und -zunahme bei andauernder Dunkelheit.

Bryophyllum proliferum, 7theiliges Blatt			Bryophyllum proliferum, 7theiliges Blatt		
2 Tage dunkel		15,2	24 Stunden dunkel		26,8
4 » »		17,3	3 Tage »		19,5
6 » »		15,4	5 » »		20,7
nach dieser Zeit schlaff			7 » »		
werdend u. absterbend,			stark gelitten		13,9
am 8. Tage		2,5			

1) Falls nichts besonderes vermerkt, ist immer das viel markanteren Säurewechsel zeigende *Bryophyllum calycinum* gemeint.

Bryophyllum calycinum		Bryophyllum calycinum	
44 Tage dunkel	32,5	4 Tage dunkel	48,5
Bryophyllum calycinum		Bryophyllum calycinum	
viele Wochen dunkel	35,8	8 Wochen dunkel, kränkelnd und schlaff	21,8
Bryophyllum proliferum	längere Zeit dunkel	Acidität	21,8
Gleichgewichtszustand bei Bryophyllum proliferum bei einer Acidität von			45—25
„	„	calycinum	30—40

H. In der Wärme liegt der Gleichgewichtszustand niedriger.

Bryophyllum calycinum	1 Woche warm 35° in Wasser		27,3
Bryophyllum calycinum	14 Tage warm 35° (Blatt mit Pflanze in Verbindung)		22,2
Bryophyllum calycinum	7 Tage warm 35°		32,7
Bryophyllum calycinum	2 Tage warm 35°	27,4	} hier also Zunahme von Wärme- gleichgewicht zu Dunkelgleichge- wicht = 6,3
dasselbe Blatt, hierauf	8 St. in 18°	32,4	
„	noch weitere 12 St. in 18°	33,7	

I. Bei der Lichtentsäuerung giebt es keinen Gleichgewichtszustand, sondern nur ein Minimum, für Bryophyllum bis auf 8 heruntergehend, einer Säurequantität entsprechend (Apfelsäure) von 1,30/00 der Frischsubstanz (das Maximum der für Bryophyllum von mir beobachteten freien Säure liegt bei c. 2%). Falls man in Wärme- oder Dunkelgleichgewicht befindliche Blätter belichtet, sinkt stets die Säurequantität noch ziemlich bedeutend.

Bryophyllum	Gleichgewichtszustand	35,8	Bryophyllum	8 Tage dunkel	38,9
	1½ Stunde hell	24,4		dann 2½ Stunde hell	26,7
Bryophyllum	4 Tage dunkel	48,5	Bryophyllum	1 Woche warm	32,7
	dann hell	31,7		dann 1 Stunde hell	24,5
				4½ Stunden hell	16,7
Bryophyllum	3 Tage dunkel	31,5	Bei geschwächten oder schlaffen Blättern ist natürlich bei nachträglicher Be- lichtung die Abnahme sehr gering.		
	dann 1½ Stunde hell	17,7			

Die Säureabnahme am Lichte macht bei künstlicher Verdunkelung schnell einer Säurevermehrung Platz.

Bryophyllum	hell bis 1 Uhr	dto., dann dunkel bis 2½ Uhr	dto. dunkel bis 4 Uhr
1)	13,4	16,7	18,9
2)	9 U. hell bis 2 U.	dto., dann von 2—4 U. dunkel	dto. von 2—6 U. dunkel
	58,0	29,9	35,6
			49,3

Tabelle III. Säureabnahme am Lichte.

Zum Abschnitt: Welche Pflanzen zeigen Säureabnahme am Lichte?

A. Fettpflanzen. Die Crassulaceen, Aloëen, Cacteen, die fleischigen Euphorbiaceen mögen, da schon wiederholt untersucht, hier übergangen werden; auch meine Versuche zeigten hier überall starke Lichtentsäuerung.

Einige andere Pflanzen dagegen seien hier angeführt.

	Tags über dunkel	Tags über hell
Asclepiadeen.		
Hoya carnosa	25,3	16,5
Calopegia sp.	29,7	14,1
Portulacaceen.		
Portulaca grandif., nicht ganz sicher, da schleimiger Saft	44,6	17,8
Mesembryanthemen.		
Mesembryanthemum linguif.	45,7	16,1
» »	48,6	17,6
» spec.	13,5	13,3
» »	6,7	6,3
» multiflos	39,2	30,5
» anthelminticum	13,4	8,5
Compositen.		
Kleinia articulata (fleischiger Stengel)	19,3	20,0
» » » »	11,3	11,2
» ficoides	10,19	7,94
» »	13,8	11,5
Senecio crassifolia	27,6	8,3

B. Verhalten dünnblättriger Pflanzen in Bezug auf Lichtentsäuerung.

	Tags über dunkel	Tags über hell
Monocotyledonen.		
Convallaria majalis	61,1	59,5
Amaryllis Johnsonii	28,6	29,3
Anthurium Scherzerianum	23,9	23,7
» »	20,3	19,9
Dicotyledonen.		
Nymphaea Lotus	86,4	87,5
Clusia rosea	159,6	158,3
» »	169,3	160,4
Camellia japonica (Reaktion nicht sehr scharf.)	69,1	75,5
Citrus aurantiacus	67,5	66,6
» »	59,2	55,4
Allamanda sp.	33,2	32,8
Nerium Oleander	42,9	42,1
» »	44,3	42,4
Eucalyptus globulus	189,8	182,9
Eryngium spinosissimum	27,8	25,8

	Tags über dunkel	Tags über hell
Begonia Warzeviczii	77,0	77,2
» »	70,9	66,3
» »	72,4	72,1
» »	69,5	68,4
Begonia sp.	57,6	56,7
Cyclamen persicum	33,9	36,9
Aeschynanthus splendens	46,9	49,0
Ficus elastica	49,6	51,4
» glabrata	44,8	45,4
Hedera Helix	36,8	37,3
Reaktion nicht sehr gut	44,7	48,4

C. Lichtentsäuerung bei den Bromeliaceen.

	Tags über dunkel	Tags über hell
Nidularia Mayendorffii	58,9	33,4
» »	49,2	25,2
» »	54,4	27,9
» »	54,7	30,9
» »	62,2	22,0
Tillandsia biflora	47,3	27,0
Aechmea Weibachii	54,4	30,9
» »	54,4	27,9
Hoplophytum grande	46,5	42,0
» »	57,6	25,3
Bilbergia zebrina	25,5	13,7
Acanthostachys strobilacea	48,1	8,3
Deyckia remotiflora	42,9	9,8
Ananassa sativa	67,8	61,7

D. Lichtentsäuerung bei den Orchideen.

	Tags über dunkel	Tags über hell
Maxillaria aromatica	46,9	42,4
Cymbidium chinense	25,7	44,0
Ornithidium densum	436,8	63,2
Oncidium sp.	35,8	42,8
Vanilla planifolia	48,4	42,4
Cattleya sp.	35,5	45,2
Knollen von Acropegia Loddigesii	5,0	2,8
Maxillaria aromatica	8,8	6,6

E. Lichtentsäuerung bei Nichtfettpflanzen.

Monocotyledonen.	Tags über dunkel	Tags über hell
Haemanthus albus	23,4	45,2
» »	44,7	40,8
Sanseveria fasciata	26,5	20,5
Pancreatium sp.	17,8	44,3
Clivia nobilis	20,6	46,9
Tradescantia discolor	24,6	48,0

	Tags über dunkel	Tags über hell
zeigte ein anderes Mal nur ganz geringe Entsäuerung	16,3	15,4
Phoenix dactylifera	51,6	35,9
Dicotyledonen.		
Saxifraga elatior	85,2	99,4
Polygonum platycladon	182,0	177,8
Grevillea robusta	115,4	105,7
Hakea laurina	141,4	126,9
Acacia falcata	75,3	60,9
Croton magnum	27,8	17,1
Xylophyllum angustifolium	44,9	29,2
Rhododendron arboreum	104,5	87,1
Olea europaea	82,7	60,0
Laurus nobilis	65,7	56,6
Ilex caprifolium	67,9	57,0
Pimentum vulgare	92,7	82,3
Franciseea sp.	68,5	61,2
Norantea guianensis	33,2	27,3
Gymnospermen.		
Pinus sylvestris	73,8	63,9
Podocarpus sp.	89,0	70,4
Ceratozamia mexicana	45,4	31,5
Encephalartus horridus	52,2	47,1
Filicineen.		
Polypodium ireoides	34,0	28,0

Tabelle IV. Verhalten chlorophyllloser Theile zur Lichtentsäuerung.

Zum Abschnitt: Bedingungen der Lichtentsäuerung.

A. Blüthentheile.

	Tags über dunkel	Tags über hell
Monocotyledonen.		
Aloë latifolia	15,5	15,2
» »	21,7	19,4
zugehöriges Blatt	(13,9)	(7,9)
Amaryllis Johnsonii	24,1	23,7
Nidularia Mayendorffii	28,3	30,5
Cattleya sp.	14,5	15,3
zugehöriges Blatt	(35,5)	(15,2)
Cymbidium chinense	29,1	31,7
zugehöriges Blatt	(25,7)	(11,0)
zugehöriger Blütenstiel	13,4	14,2
Dicotyledonen.		
Mesembryanthemum sp.	34,5	34,9
» »	37,5	37,5
zugehöriges Blatt	(13,5)	(13,3)
Echeveria retusa	27,1	26,7
zugehöriges Blatt	(29,1)	(24,2)
Sempervivum Wulfenii	20,3	22,0

	Tags über dunkel	Tags über hell
Sempervivum Funkii	34,0	35,8
" "	46,8	47,9
Sedum altaicum	42,4	45,3
zugehöriges Blatt	(42,6)	(33,7)
Sedum roseum	48,7	47,5
" "	50,1	51,9
zugehöriges Blatt	(27,3)	(22,9)
Crassula sp.	67,0	63,6
Opuntia sp.	25,9	27,8
zugehöriges Blatt	(39,0)	(28,1)
Cereus sp.	44,2	44,0
zugehöriges Blatt	(49,0)	(44,0)
Portulaca grandiflora	25,0	25,0
Helianthus annuus	30,8	32,8
Begonia sp.	63,2	63,2
Saxifraga elatior	28,8	27,3
B. Früchte (halbirt).		
Aechmea Weilbachii, rothe Frucht-		
knoten	25,0	24,7
Echeveria retusa, junge Kapseln	53,8	59,3
Sedum roseum } junge Kapseln	40,0	42,0
" altaicum }	57,0	65,5
Opuntia ficus indica	24,3	22,3
Glaskirschen	55,3	56,2
Stachelbeeren	117,0	114,8
Zwetsche	38,0	39,3
"	48,3	49,8
Apfel	46,2	48,2
C. Farbige Blätter.		
Rothe Blütenhülle von Anthurium		
Scherzerianum	26,9	26,8
Nidularia Mayendorffii.		
1) rothes Schaublatt	48,7	48,6
das davor stehende grüne Blatt	(27,4)	(15,8)
2) rothes Schaublatt	26,3	31,7
das davor stehende grüne Blatt	(49,2)	(25,2)
3) rothe Blatthälfte	24,3	24,1
grüner Theil desselben Blattes	(54,7)	(30,9)
4) rothe Blatthälfte (etwas grünlich)	20,9	14,4
grüner Theil desselben Blattes	(62,2)	(22,0)
5) rothe Blatthälfte	20,5	18,5
grüner Theil desselben Blattes	(19,3)	(10,3)
D. Wurzeln und Knollen.		
Sempervivum tectorum	47,0	43,8
" "	48,7	24,0
Kartoffelknolle	42,9	42,6
" "	44,2	47,0
" "	24,0	29,6

E. Chlorophyllfreies Wassergewebe.

	Tags über dunkel	Tags über hell
Aloë arborescens	6,63	6,51
grüne Rinde des Blattes	28,9	23,2
Aloë xanthacantha	5,04	6,03
grüne Rinde des Blattes	29,3	23,9

F. Etiolierte Pflanzen.

Phaseolus multiflorus	46,7	49,9
Keimpflanze, Stengel	48,0	49,3
» »	48,7	48,4
Sempervivum tectorum		
grün bleibende Blattspitzen entfernt	32,8	32,4
» » » »	47,8	48,6
» » » »	30,3	29,9
dasselbe, nach einigen Tagen am Lichte wieder etwas ergrünt	28,2	22,1

Tabelle V. Entsäuerung von Bryophyllum in farbigem Lichte.

Bryophyllum.	Acidität nach Aufenthalt in			
	Tageslicht	rother Glocke	blauer Glocke	Finsternis
1)	23,8	28,8	44,7	46,3
2)	25,5	34,9	36,2	46,6
3)	46,9	48,4	25,3	32,7
4)	28,3	37,4	48,9	54,3
5)	40,0	56,5	56,6	66,7
6)	46,8	28,4	32,2	31,4
7)	24,6	44,6	41,5	40,5
8)		24,3	28,0	36,0
9)		49,3	22,7	31,2
10)		42,9	26,6	39,6
11)		20,5	39,8	
12)		48,4	32,7	
Durchschnitt	24,7 ¹⁾	25,9	36,0	42,5

An Stelle von doppelwandigen Glocken Blechkasten mit einem Einsatz von farbige Lösungen enthaltenden Flaschen.

		Acidität nach Aufenthalt in		
		rother Glocke	blauer Glocke	Finsternis
13)	Bryophyllum.	44,3	58,7	61,3
	Echeveria metallica in doppelwandigen Glocken	43,4	46,9	20,4

1) Da die letzten Versuchsblätter, wo die Acidität nach Belichtung am Tageslicht nicht geprüft wurde, relativ säurearm sind, ist dieser Durchschnittswert für Tageslicht als etwas zu hoch anzusehen.

Tabelle VI. Zum Abschnitt: Säureabnahme am Licht bei Kohlensäuremangel.

Bryophyllum	Tags über hell in gewöhnlicher Luft	Tags über hell in CO ² -freiem Raum (über KOH)	Tags über dunkel in gewöhnl. Luft
1)	26,7	24,3	45,3
2)	35,5	54,4	73,3
3)	43,3	49,2	44,8
4)	46,4	22,2	30,4
5)	28,4	28,9	73,4
6)	24,5	46,9	48,7
7)	20,8	29,7	44,3
8)	48,4	44,4	83,9
9)	45,2	45,4	65,4
10)	36,7	28,3	63,2
11)		45,4	93,4
12)		48,3	96,9

Tabelle VII. Zum Abschnitt: Wirkung kohlendioxidreicher Luft auf die Lichtentsäuerung.

A. Fettpflanzen.

Bryophyllum	Tags über dunkel in gewöhnl. Luft	Tags über hell in gewöhnl. Luft	Tags über hell, in Luft mit einer Beigabe von 25% CO ²
1)	90,7	24,4	89,9
2)	46,5	8,4	43,8
3)	83,9	48,4	80,5
4)	55,2	49,4	46,4
5)		39,8	84,7
6) mit Kalkwasser titriert je 15 g Blattsubstanz		44,6	36,3
<i>Echeveria metallica</i>		45,0	28,6 (in 1/8 CO ²)
<i>Tillandsia biflora</i>		27,0	47,3 (25% CO ²)
<i>Nidularia Mayendorffii</i>		22,9	54,4 »
» »		25,4	32,0 »
<i>Aechmea Weillbachii</i>	54,4	27,9	49,0 »
» »	49,2	25,2	38,2 »
» »		26,5	50,9 »
<i>Hoplophytum grande</i>	46,5	42,0	26,6 (20% CO ²)
» »	57,6	25,3	53,9 (25% CO ²)
<i>Hoya carnosa</i>		22,8	45,2 »
<i>Cattleya sp.</i>	35,5	45,2	38,6 »
<i>Maxillaria aromatica</i> knollenart. Internod.	8,84	6,60	8,74

B. Kohlensäurereichthum der Luft hindert die Säurezunahme in der Nacht kaum.

Bryophyllum	nachmittags	nächsten Morgen in gewöhnlicher Luft	nächsten Morgen in 25% CO ₂ enthalt. Luft
1)	26,9	80,2	63,2
2)	25,3	43,2	45,6
3)	52,4	75,0	75,0
4)	20,2	37,3	30,4
5)	17,7	48,1	42,9
6)	31,4	47,1	59,7
Durchschnitt	28,9	55,4	52,7

C. Säureabnahme bei längerer Verdunkelung oder Wärme nicht durch CO₂-reiche Luft gehindert.

Dunkelabnahme	morgens	20 St. dunkel	20 St. dunkel in 25% CO ₂ -haltiger Luft
Bryophyllum	1)	33,9	29,5
	2)	81,8	54,7
			20,7
			56,9
Wärmeabnahme	morgens	24 St. in 35° dunkel	24 St. in 35° dunkel in 25% CO ₂ -halt. Luft
Bryophyllum	1)	48,1	19,0
	2)	40,8	28,0
	3)		24,3
	4)	47,3	34,4
	5)	39,1	24,4
			30,8 (12% CO ₂)
			39,5 (25% CO ₂)
			Blatt am Ende des Versuches injiziert
	6)	30,6	23,2
			{ 20,4 (12% CO ₂)
			{ 32,5 (25% CO ₂ injiziert)
	7)	33,0	17,4
			31,5 (25% CO ₂ injiziert)
Echeveria metallica		33,0	17,5
			15,7 (12% CO ₂)

D. Todte Blätter verhalten sich gegen den Kohlensäuregehalt der Luft indifferent.

Bryophyllum	morgens	durch Erwärmung auf 80° getödt., dann hell (in 25% CO ₂) nachmittags
	41,7	43,9

E. Die im Lichte entsäuerten Blätter werden in kohlensäurereicher Atmosphäre wie in gewöhnlicher Luft nur ganz langsam säurereicher.

Bryophyllum	bis 1 Uhr dunkel	bis 1 Uhr hell	bis 1 Uhr hell, dann in 25% CO ₂ enthält. Luft
	1)	44,9	26,4
	2)	43,6	16,9
	3)		22,5
			{ 32,8 » 2 1/2 »
			{ 24,7 » 4 1/2 »
		bis 1 Uhr dunkel, dann bis 2 1/2 Uhr hell	44,6
	4)	91,2	
			ebenso entsäuert, dann 2 St. in 25% CO ₂ enth. Luft 39,3

F. Öfters vermehrt sich der Säuregehalt etwas am Tage in kohlen-säurereicher Luft.

Bryophyllum	nachmittags Tags über dunkel	nachmittags Tags über in gewöhl. Luft	nachmittags Tags über hell in 25% CO ²	
1)	73,4	28,4	89,5	Diese geringen Unter- schiede rühren von Individualität der Blatttheile und un- vermeidlichen Ver- schiedenheit der Ex- position her.
2)	73,3	35,5	78,9	
3)	32,9		{ 33,0 35,4 30,6	
4)	43,7	17,0	{ 66,7 58,7 61,2	
5)	48,4	24,8	58,9 (in 12% CO ²)	

G. Kohlensäurereiche Luft hindert schon in den ersten 4 1/2 Stunden die Entsäuerung.

Bryophyllum	morgens	in gewöhl. Luft hell	in kohlen-säurereicher Luft hell
1)	48,5	nach 4 1/2 St. 16,5	nach 4 1/2 St. in 25% CO ² 44,2
2)	33,9	» 3 » 20,4	» 4 1/2 » » 12% » 33,3
3)	34,7	» 4 » 17,2	» 4 » » 25% » 29,6
4)	69,5		» 4 1/2 » » 18% » 71,0

H. In farbigem Licht wird gleichfalls durch größeren CO²-Gehalt der Luft die Entsäuerung verhindert, auch hier tritt öfters eine Säurezu-nahme ein.

Bryophyllum	Tags über dunkel	hell	rothe Glocke	rothe Glocke in 25% CO ²	blaue Glocke	blaue Glocke in 25% CO ²	
1)	30,4	16,4	22,6	29,7			
2)	46,6	25,5	34,9	44,6	36,2	44,4	
alle recht dunkelge- stellt	3)	48,7	38,7	46,2	56,8	44,3	53,5
	4)	34,2			22,7	40,0	
	5)				25,4	37,3	

Tabelle VIII. Bei Pflanzen ohne Säureabnahme am Lichte keine Säurevermehrung in CO²-reicher Luft.

A. Blätter.

	Tags über in ge- wöhl. Luft hell	Tags über in 25% CO ² enthalt. Luft hell
Kleinia articulata, fleischige grüne Stengel	16,7	16,4
Mesembryanthemum sp.	16,0	17,0
Cyclamen persicum	39,3	37,9

	Tags über in ge- wönl. Luft hell	Tags über in 25% CO ² enth. Luft hell
<i>Convallaria majalis</i>	56,4	61,4
<i>Ficus heterophyllus</i>	52,8	47,7
<i>Clusia rosea</i>	152,9	147,4
<i>Nerium Oleander</i>	44,4	40,5
<i>Begonia</i> sp.	38,2	36,4
» andere Spezies	72,4	72,4
<i>Canna</i>	33,6	36,0
<i>Viburnum tinus</i>	41,6	42,7
<i>Ficus</i> sp.	22,3	22,8

B. Blütenblätter.

	Tags über dunkel	Tags über in ge- wönl. Luft hell	Tags über in 25% CO ² enth. Luft hell
<i>Echeveria retusa</i>	27,4	26,7	27,9
<i>Cattleya</i> sp.	44,5	45,3	45,8

C. Junge Kapseln von

<i>Echeveria retusa</i>	53,8	59,3	54,7
-------------------------	------	------	------

D. Kartoffel

	24,0	29,6	26,4
--	------	------	------

E. *Sempervivum*

<i>tectorum</i>		56,0	52,5
-----------------	--	------	------

Tabelle IX. Eventuelle Allgemeinschädlichkeit CO²-reicher Luft für die Pflanze.

A. Längere Einwirkung kohlenensäurereicher Luft verhindert weder nachherige Säurezunahme in der Nacht, noch Säureabnahme in der Wärme und am Lichte.

Bryophyllum.

1) Tags hell, in 25% CO ² enthaltender Luft Abends	53,0
» » » » » dann 20 Stunden warm	25,2
Tags dunkel in gewöhnlicher Luft, dann 20 Stunden warm	32,0
2) Tags hell bis 4 Uhr	23,6
ebenso, dann bis 6 ¹ / ₂ Uhr in 50% CO ² enthaltender Luft	26,8
ebenso, bis 6 ¹ / ₂ Uhr in 50% CO ² , dann bis nächsten Morgen dunkel ohne CO ²	51,4
3) Abends	20,2
Nachts dunkel, in 25% CO ² enthaltender Luft	30,4
ebenso, in 25% CO ² , den nächsten Morgen ohne CO ² hell	20,7
Nachts dunkel, ohne CO ² , am nächsten Morgen hell	48,7

B. Mäßiger Kohlensäurereichthum der Luft vermindert nicht die Athmung.

4,65 g Bryophyllumblatt, 2 Tage in 16% CO₂ dunkel 3,00 kbcm CO₂ ausgeathmet
 1,7 g (andere Blatthälfte), 2 Tage in gewöhnl. Luft dunkel 2,37 » » »

C. Aloë arborescens scheint durch Aufenthalt in CO₂ geschädigt zu werden.

Nach 3stündigem Aufenthalt in 75% CO₂ enthaltender Luft verathmete das Blatt in 48 Stunden in der Birnröhre nur 3,03 kbcm CO₂ (nach dem Herausnehmen war es injiziert).

Das Nachbarblatt schied dagegen, ohne vorherigen Aufenthalt in CO₂, während derselben Zeit in der Birnröhre 14,03 kbcm CO₂ aus.

Tabelle X. Zum Abschnitt: Lichtentsäuerung bei Ausschluss freien Sauerstoffes.

A. In Wasserstoff.

Bryophyllum	Tags über dunkel	Tags über hell	Tags über hell in Wasserstoff
1)	37,4	44,7	45,4
2)	90,7	24,4	29,4
3)	47,8	45,6	28,4
4)	83,9	48,4	56,7
5)	60,4	48,7	35,3
6)	56,0	27,8	41,5
Echeveria metallica	34,2	14,5	46,3

B. In luftleerem Raume.

Bryophyllum	Tags über dunkel	Tags über hell	Tags über hell in luftleerem Raume
	27,4	43,0	43,3
	73,4	28,4	34,9

C. In destillirtem ausgekochtem Wasser.

Bryophyllum	Tags über dunkel	Tags über hell	Tags über hell, in destillirtem ausgek. Wasser
	36,0	49,4	24,2

D. In Paraffineinbettung.

Bryophyllum	Tags über dunkel	Tags über hell	Tags über hell, in Paraffin eingebettet
1)	48,4	43,0	47,6
2)	32,7	46,9	49,2
3)	44,7	20,9	25,0

Bei Paraffin, mit dem Pinsel aufgestrichen, injiziert sich das Blatt nur in den seltensten Fällen (und zwar nur bei Versuchen in der Wärme). Ebenso ist Kakaobutter bekanntlich unschädlich, während Stearin sehr schädigend wirkt.

Tabelle XI. Zum Abschnitt: Über den allgemeinen Prozess der Entsäuerung und den Einfluss des Sauerstoffes auf denselben.

A. Die Säureverminderung in der Wärme ist vom Leben der Zellen abhängig, getödtete Blätter vermindern ihre Säure nicht.

Bryophyllum	sofort verrieben	24 St. in 35°	ebenso mit Chloroformdampf	ebenso, vorher durch Erwärmung auf 80° getödtet
1)	89,0	56,5	71,8	75,9
			wohl etwas von dem ausgetretenen Saft verloren.	
2)	38,4	25,3	38,3	
3)		38,0	56,2	53,4
4)		22,4	50,7	52,7
5)		24,4		54,3
Apfel	50,5	25,5 (nach 3 Tagen)		49,8 (nach 3 Tagen)
	46,6	37,5 " "		49,2 " "

Wärmezersetzung der Säure bei Sauerstoffausschluss.

B. In Wasserstoff, meist wurde zugleich etwas KOH in den abgesperrten Raum gebracht.

Bryophyllum	sofort verrieben	24 St. in 35°	ebenso 24 St. in 35° in H
1)	38,4	29,2	41,7
2)	48,4	43,0	40,0 (todt)
3)	38,4	29,2	41,7
4)	60,3	44,8	59,6
5)	53,4	26,9	58,8
6)	47,3	34,4	53,4
7)		47,4	45,2
8)		47,4	48,3

Dasselbe bei niedriger Temperatur.

	sofort verrieben	24 St. in 28°	24 St. in 28° in H
9)	60,9	36,7	57,6
10)	84,5		70,9 (in 20°)
11)	42,8	24,6 (21°)	35,4 (in 21°)
Echeveria metallica	32,9	24,4 (35°)	28,4 (35°)

C. In luftleerem Raume, meist mit etwas KOH.

Bryophyllum	sofort verrieben	35°, 24 St.	35°, 24 St. luftleer
1)	53,4	26,9	58,7
2)	33,0	11,1	28,4
3)	30,6	23,2	36,2
4)	60,3	41,8	50,3
5)	51,3	26,3	40,3

D. In destillirtem ausgekochtem Wasser.

Bryophyllum	sofort verrieben	35°, 24 St.	35°, 24 St. in ausgekochtem Wasser
1)	47,3	31,4	43,5
2)		28,8	{ 50,0 { 30,4 vorher CO ² -freie Luft eingeleitet

E. In Paraffin.

	sofort verrieben	35°, 24 St.	35°, 24 St. in Paraffin eingebettet
1)	38,1	29,2	41,6
2)	51,3	26,3	59,4
3)	60,3	41,8	72,2
4)	48,1	20,7	44,8
5)	33,0	17,1	24,0
6)		34,6	48,6

E¹. Dass diese Paraffineinbettung nicht schädigt, erkennt man daraus, dass ohne Entfernung der Hülle am nächsten Morgen die Lichtentsäuerung wieder vor sich geht; ebenso nach Entfernung des Paraffins die Dunkelentsäuerung.

1) Nachts in Paraffin 35°	35,9
ebenso, dann hell, weiter Abends	23,4
2) 24 Stunden in Paraffin warm	48,6
dann ohne Paraffin dunkel weiter	41,4

F. Durch Sauerstoffzufuhr beim Zerschneiden der Blätter wird die Wärmeentsäuerung gefördert.

Bryophyllum	sofort verrieben	24 St. 35°	24 St. 35° vorher zerschnitten
1)	48,1	20,7	16,7
2)	51,3	26,3	{ 24,1 { 38,8 (die zerschn. Stückchen in Paraffin eingebettet)
3)	40,0	21,2	15,1
4)	33,0	17,1	{ 14,7 { 21,8 (die zerschn. Stückchen in Paraffin eingebettet)

G. In durch Schwefelsäure wasserdampffrei gemachter Luft ist die Wärmeentsäuerung vielleicht noch bedeutender, als in wasserdampfreicher Luft.

24 Stunden 35°	43,6	17,4
ebenso, über conc. H ² SO ⁴	34,1	12,2
sofort verrieben		36,6

Tabelle XII. Zum Abschnitt: Säureabnahme im Dunkeln bei den Pflanzen überhaupt.

A. Wärmeentsäuerung bei grünen Pflanzentheilen ohne tägliche Säureperiodizität.

	sofort verrieben	20 St. 35°	20 St. 14°
Mesembryanthemum sp.	43,5	41,7	42,8
Begonia sp.	64,1	57,1	
Lilium candidum	31,2	26,4	30,1
Clusia rosea		154,8 (3 Tage)	169,9 (3 Tage)
Cyclamen persicum		37,2 (3 »)	41,9 (3 »)
Citrus aurantiacus		55,3 (3 »)	50,0 (3 »)
Hedera Helix		50,8 (2 »)	52,4 (2 »)
Franciseea		40,3 (24 St.)	40,0 (24 St.)

Wärmeentsäuerung bei nicht grünen Pflanzentheilen.

B. Blumenblätter.

	sofort verrieben	20 St. 35°	20 St. 14°
Sempervivum angustifolium	42,6	45,6	
» Wulfenii	22,0	21,2	20,3
Sedum roseum	50,6	53,1	
Echeveria retusa		32,5	32,1
Mesembryanthemum sp.		33,3	30,4
Lilium candidum	24,0	49,3	21,6
Nymphaea alba	43,5	45,9	
Helianthus annuus		24,4	23,8
» »		28,6	27,2
Rose (weiß)		42,8	43,5

C. Früchte.

	sofort verrieben	35°	14°
Echeveria retusa (junge Fruchtknoten)		57,1 (20 St.)	56,2 (20 St.)
Apfel 1)	39,8	8,3 (nach einig. Tagen)	33,3 (nach einig. Tagen)
2)	50,5	25,5 » » »	47,3 » » »
3)	29,9	19,1 » » »	28,8 » » »
4)	46,6	37,5 » » »	42,9 » » »
Zwetsche 1)		32,6 » » »	50,0 » » »
2)		24,6 » » »	33,0 » » »

	sofort verrieben	35°	44°
Pfirsich	42,5	32,9 (nach einig. Tagen)	
Stachelbeeren		425,8 " " "	434,2 (nach einig. Tagen)
		93,4 " " "	410,5 " " "

D. Etiolirte Blätter.

	35°	44°
Sempervivum tectorum	25,9 (20 Stunden)	27,9 (20 St.)
" "	45,8	46,6

E. Wurzeln und Knollen.

	sofort verrieben	35°
Kartoffel	24,0	24,7 (2 Tage warm)
		29,3 (4 " ")
Sempervivum-Wurzel	41,8	44,8 (3 " ")

F. Verhalten der Früchte in der Wärme und im Dunkeln bei verhin-
dertem und gefördertem Sauerstoffzutritt.

	sofort	warm	in H	in CO ²	im luftleer. Raum	in Kakao- butter	in destill. Wasser	zerschmitt.
Zwetsche	33,5		28,4 H-Strom	29,6 CO ² -Strom		30,6		
Pfirsich	42,5	33,3 20°	32,0 H-Strom 20°	29,9 CO ² -Strom 20°	32,7 20°			
Apfel 1)	39,8		35,9		36,7	36,3		28,2
" 2)	50,5	25,5 warm	29,0 warm	38,7 warm	36,4 warm			54,7 vorher ge- tödtet
" 3)	29,9						26,2	{ 22,4 27,2 in CO ²
" 4)	46,6	37,5 warm		38,0 warm	36,8 zerstück.	35,0 warm, Pa- raffin		48,4 in CO ²

Tabelle XIII. Zum Abschnitt: Über den allgemeinen Prozess
der Ansäuerung.A. Säurezunahme in der Nacht auch nach Beleuchtung im kohlen-
säurefreien Raume vorher.

Bryophyllum	morgens	nachmittags		am anderen Morgen	
		Tags über hell	ebenso, über KOH	Tags hell, Nachts dunkel	Tags hell, über KOH Nachts dunkel
1)	65,4	45,2	45,4	37,5	30,9
2)	45,3	26,7	24,3	41,0	46,8
3) vorher durch Erwär- mung auf 35° entsäuert	23,3	45,0	20,6	45,4	32,7

B. Säurezunahme in der Nacht auch nach Belichtung unter blauer Glocke vorher.

Bryophyllum	Tags über dunkel	Tags über in rother Glocke	Tags über in blauer Glocke	Tags hell, nachts dunkel	Tags rothe Glocke, nachts dunkel	Tags blaue Glocke, nachts dunke
1)	40,5	44,6	41,5		29,8	60,4
2) vorher durch Erwärmung entsäuert	24,7	46,8	47,5	37,2	34,2	37,4

Tabelle XIV. Zum Abschnitt: Einfluss des Sauerstoffes auf die Säureproduktion.

A. Säurezunahme in Wasserstoff.

Bryophyllum	abends	nächsten Morgen, nachts in Luft	nächsten Morgen nachts in H
1)	34,4	75,7	47,4
2)	28,9	44,4	32,9
3)	25,9	77,3	{ 32,3 36,2 ($1/2$ CO ² + $1/2$ H)
4)	48,2	64,4	{ 46,7 20,0 (H + etwas CO ²)
5)	47,9	60,7	{ 24,4 20,6 (H + KOH)
6)	45,9	40,2	25,7 (H + KOH)
7)	20,0	32,7	22,9 (H + KOH)
8)	25,6	50,0	23,3 (H + $1/4$ CO ²)

B. Nächtliche Säurezunahme im luftleeren Raum.

Bryophyllum	abends	nächsten Morgen, nachts in Luft	nächsten Morgen, nachts im luftleeren Raum
1)	31,6	57,4	46,6
2)	20,4	48,4	29,2
3)	45,9	40,2	25,8
4)	20,0	47,5	30,9

} stets nur
} ziemlich luft-
} leer

C. Nächtliche Säurezunahme in ausgekochtem Wasser.

Bryophyllum	abends	nächsten Morgen, nachts in Luft	nächsten Morgen, nachts in destillirtem Wasser
1)	25,9	77,3	54,4
2)	48,2	64,4	37,5
3)	23,0	39,9	24,0
4)	20,0	47,5	24,4
5)	36,7	46,8	33,3

D. Nächtliche Säurezunahme in Paraffin.

Bryophyllum	abends	nächsten Morgen, nachts in Luft	nächsten Morgen, nachts in Paraffin eingebettet
1)	22,6	34,6	38,7
2)	45,2	33,9	36,4
3)	47,7	48,4	38,4

	nächsten Morgen, nachts in Luft	nächsten Morgen, nachts in Paraffin eingebettet
Franciscea sp.	61,2	68,5 (in Kakaobutter)
Amonum Tacam.	40,0	47,4 (» »)
Hedera Helix	39,2	47,4 (» »)
» »	38,9	46,2 (» »)
Citrus aurantiacus	98,5	109,7 (» »)

E. Säurezunahme des Nachts bei Wasserstoff mit wenig Sauerstoff.

	abends	nachts in Luft	nachts in $\frac{9}{10}$ H + $\frac{1}{10}$ O
Bryophyllum	28,9	44,1	56,0
»	18,0	37,8	44,4 ($\frac{9}{10}$ H + $\frac{1}{10}$ Luft)
»	27,0	36,0	{ 47,5 ($\frac{3}{4}$ H + $\frac{1}{4}$ O) 43,4 ($\frac{9}{10}$ H + $\frac{1}{10}$ Luft)
Echeveria metallica	15,5	29,4	23,9 ($\frac{19}{20}$ H + $\frac{1}{20}$ Luft)
Hedera Helix		39,6	48,0 ($\frac{19}{20}$ H + $\frac{1}{20}$ Luft)

F. Säurezunahme des Nachts bei Sauerstoffzufuhr.

	abends	nächsten Morgen, nachts in Sauerstoff	nächsten Morgen, nachts in Luft
Bryophyllum 1)	31,4	49,4	75,7
2)	46,8	27,2	30,8
3)	27,0	32,2	36,6

G. Nächtliche Säurezunahme bei Förderung des Sauerstoffzutritts durch Zerschneiden.

	abends	nächsten Morgen	ebenso, am Abend vorher zerschnitten
Bryophyllum 1)	22,6	34,6	25,9
2)	45,9	40,2	28,2
3)	20,0	47,5	{ 27,7 44,4 die zerschnittenen Stücke in Paraffin eingebettet

G'. Dass das Zerschneiden nicht bedeutend schädigt, zeigt sich an der bedeutenden Lichtentsäuerung der zerschnittenen Blätter.

Dass das Minus an Säure keine Folge der Operation des Zerschneidens oder etwas Pathologisches ist, ersieht man aus der Hinderung dieser Abnahme durch kohlenäurereiche Luft.

	morgens	tags über hell	ebenso, vorher zerschnitten	ebenso in $\frac{1}{4}$ CO ²
Bryophyllum	408,4	27,2	23,8	
»	46,3	28,3	26,7	38,7

H. Förderung des Sauerstoffzutrittes durch Epidermisabziehung.

	abends	nächsten Morgen	ebenso, aber Abends vorher der Epidermis beraubt
Echeveria metallica 1)	44,2	22,4	47,6
2)		28,8	24,6

II'. Dass Epidermisabziehung nicht schädigend wirkt, ist aus den Tagversuchen zu ersehen.

	morgens	nachmittags, Tags hell	ebenso, am Morgen der Epidermis beraubt
Echeveria { 1)	28,6	42,2	44,3
metallica { 2)	44,7	43,9	42,8
{ 3)	34,0 (ohne Epidermis 34,6)	23,3	23,6

Tabelle XV. Zum Abschnitt: Parallelität zwischen Volumenzu- und Säureabnahme der Atmosphäre am Tage.

A. Volumenzunahme der die Fettpflanzen umgebenden Atmosphäre am Tage im Verhältnis zur Entsäuerung.

	Acid. auf 40 g Frisch- substanz berechnet		Volumenänder. der die Blätter umgebenden Luft in der Birnröhre	Volumenänder. auf 4 g Blatt- subst. berech- net, in mg CO ² ausgedrückt	Säureabnahme des Blattes, als Apfel- säure, auf 4 g berechnet
	Tags über dunkel	Tags über hell			
Bryophyllum					
1)	48,4	24,8	+ 0,82	+ 1,2 mg CO ²	— 5,8 mg Apfelsäure
2)	51,7	24,4	+ 1,39	+ 2,1 " "	— 4,6 " "
3)	75,0	25,4	+ 1,54	+ 2,2 " "	— 8,3 " "
4)	59,6	49,7	+ 1,87	+ 1,6 " "	— 6,7 " "
5)	60,4	48,7	+ 0,74	+ 1,6 " "	— 7,0 " "
6)	56,0	27,8	+ 1,00	+ 1,6 " "	— 4,7 " "
			Durchschnitt	+ 1,7 " "	— 6,2 " "
Hoplophytum grande					
1)	57,6	25,3	+ 2,48	+ 1,8 " "	— 5,4 " "
2)	36,7	24,9	+ 1,04	+ 0,9 " "	— 2,5 " "

B. Aloë arborescens je 5 g hell 11 Uhr 4 Uhr 3½ Uhr 6 Uhr

Luftvolumen in der Birn- röhre enthält	{ 3% CO ²	92,22	93,09	93,00	92,72
	{ 10% CO ²	96,43	96,53	96,43	95,98

Also von 4—3½ Uhr schon wieder Anfang der Volumenverminderung.

in 3% CO² Volumenvermehrung von 4—4 Uhr 0,78 kbem
 » 10% " " " " " 0,38 " "

C. Volumenzunahme der Fettpflanzen in verschieden CO² reicher Luft.

Bryophyllum c. 5 St. in hellem diffusum Licht	Volumenvermehrung	Säuregehalt
1) 4,57 g in 2,44% CO ²	0,48 kbem	20,4
4,42 " " 10,27% "	0,10 " "	34,5

Bryophyllum c. 5 St. in hellem diffusum Licht	Volumenvermehrung	Säuregehalt
2) 1,54 g in 1,81% CO ²	0,62 kbcm	44,2
1,45 » » 10,66% »	0,24 »	60,0
3) 1,34 » » 2,71% »	1,39 »	24,4
1,18 » » 15,55% »	0,70 »	51,7
4) 1,34 » » 5,4% »	0,53 »	nicht
1,40 » » 24,7% »	0,18 »	geprüft
5) 1,19 » » 4,7% »	0,75 »	nicht
1,26 » » 16,8% »	0,48 »	geprüft
6) 1,70 » » 0% »	0,68 »	nicht
1,67 » » 25% »	0,04 »	geprüft
7) 1,38 » » 3,69% »	1,54 »	25,4
1,44 » » 11,2% »	0,22 »	61,8
8) 2,23 » » 3,7% »	1,87 »	49,7
2,17 » » 14,6% »	0,25 »	47,9
9) 1,02 » » 0% »	0,29 »	67,6
0,95 » » 25% »	0,04 »	74,7
10) 1,19 » » 0% »	1,00 »	27,8
1,15 » » 25% »	0,15 »	62,6
11) 1,37 » » 0% »	0,82 »	24,8
1,12 » » 25% »	0,13 »	58,9

Einzelne der Versuche z. B. 3), 8), 9) waren nur ca. 2¹/₂ Stunden exponiert.

D. Hoplophytum grande

2—5 Stunden in hellem diffusum Licht	Volumenvermehrung	Säuregehalt
2,19 g in 3,5% CO ²	+ 1,04 kbcm	21,9
1,97 » » 9,2% »	+ 1,02 »	28,4
2,12 » » 5,2% »	+ 0,35 »	23,1
1,90 » » 14,6% »	+ 0,20 »	26,8
2,41 » » 0% »	+ 2,18 »	25,3
2,54 » » 25% »	+ 0,67 »	53,0

Tabelle XVI. Parallelität zwischen Säurezu- und Volumenabnahme in der Nacht.

A. Bryophyllumblatt bis 4 Uhr dunkel, dann bis 6¹/₂ Uhr in 50% CO² (zur Sättigung mit dem Gase).

Acidität auf 10 g Frischsubstanz berechnet	Volumenänd. der die Blätter umgeb. Luft in der Birnröhre während der Nacht	Volumenänd. auf 1 g Blattsubst. berech., in mg CO ² ausgedrückt	Säurezunahme des Blattes als Apfelsäure berechnet
abends	nächsten Morgen		
1) 26,8	51,4	— 0,90	+ 4,1 mg
2) 11,3	36,7	— 0,39	
3) 16,8	30,8	— 0,97	+ 2,3 »
4) 16,9	35,4	— 0,33	+ 3,1 »
5) 22,7	37,5	— 0,73	+ 2,5 »
dito, nachts in 1/4 CO ² halt. Luft	— 0,65	Durchschn. 0,85 »	3,0 »
<i>Echeveria metallica</i>	— 1,45		

B. Nächtliche Inspiration und Athmung in reinem Sauerstoff.

Bryophyllumblatthälfte 3 g nachts in Luft Inspirat. 4,02 kbcm, nachher Acidität 15,7 mg Apfelsäure.

Bryophyllumblatthälfte 3 g nachts in O Inspirat. 0,83 kbcm, nachher Acidität 13,8 mg Apfelsäure.

4,2 g Bryophyllum verathmeten in gleicher Zeit in Luft	3,49 kbcm CO ² .
» O	4,87 » »
3,5 » » » » » » » » Luft	2,57 » »
» O	3,04 » »

Tabelle XVII. Volumenvermehrung in längerer Dunkelheit.

A. Bryophyllum, gleiche Blatthälften.

	Acid.	Volumen der Luft in der Birnröhre	Volumen von Luft + 16,6% CO ² in der Birnröhre
1) vor dem Versuch	88,4		
32 St. dunkel, dann	54,7	4. Morgen 94,40 kbcm	97,68 kbcm
		1. Abend 94,54 »	97,84 »
		2. Morgen 94,70 »	98,09 »
dito in 16,6% CO ² , dann	56,9	2. Abend 94,80 »	98,26 »
Volumenzunahme während der 32 St.		0,40 »	0,58 »
Kohlensäureathmung während der 32 St.		2,37 »	3,00 »

	Acid.	Volumen der Luft in der Birnröhre	Volumen der Luft + 13% CO ²
2) vor dem Versuch	33,3		
48 Stunden dunkel	29,5	1. Tag 12 Uhr 95,44 kbcm	90,89 kbcm
dito in 13% CO ²	20,7	5 » 95,76 »	94,02 »
		2. » 3 » 96,44 »	94,36 »
		3. » 11 » 96,09 »	94,62 »
Volumenzunahme während der 48 St.		+ 0,65 »	+ 0,73 »

3) 2,05 g Blatt dunkel bis zum Abend, dann in $\frac{1}{4}$ CO² enthaltende Luft. Volumenzunahme der Luft bis zum nächsten Morgen + 0,33 kbcm.

Echeveria metallica 10,4 g Blatt, dunkel bis zum Abend, dann

1) dunkel weiter; nach 12 Stunden Volumenzunahme der Luft nur 0,13 kbcm
dagegen CO²-Athmung 3,22 »

2) 5,75 g bis 10 Uhr morgens dunkel, dann

bis zum andern Morgen Volumenzunahme der Luft nur 0,27 kbcm
dagegen CO²-Athmung 4,02 »

Aloë arborescens	Vol. der Luft in der Birnröhre
4,15 g bis 4 Uhr hell, dann bis 7 $\frac{1}{2}$ Uhr dunkel, dann	90,23 kbcm
anderem Morgen	89,48 »
anderem Abend	89,36 »
nächstem Morgen	89,36 »

also Inspiration, 24—36 St. dauernd, sehr gering, dagegen während der Zeit 14,03 kbcm CO² ausgeathmet.

B. Volumenvermehrung in der Wärme.

Bryophyllum proliferum, 10,5 g dunkel in 35°.

Volum. der Luft in d. Birnröhre				nächsten Morgen	Volumenver- mehrung	
	11 U. v.	4 U. n.	8 U. n.	11 U. v.	7 U. n.	in dies. 32 St.
74,57 kbcm	75,65 kbcm	76,43 kbcm	78,27 kbcm	78,98 kbcm	4,41 kbcm	
um 8 Uhr Luft gewechselt, bis andern Morgen 12 Uhr keine Volumenvermehrung, aber in dieser frischen Luft 8,89 kbcm CO ² nachher gefunden.						

Bryophyllum calycinum je 1 g

Volumenzunahme im Dunkeln in 24 St. in 35°	in gewöhnl. Luft	+ 0,75 kbcm
	in c. 15% CO ²	+ 0,62 "

C. Parallelität zwischen Säureabnahme in der Wärme und Volumen-
zunahme.

Bryophyllum

1) je 1,3 g 24 St in 35° dunkel	Säuregehalt	Volumenvermehrung
in gewöhnlicher Luft	19,0 auf 10 g ber.	+ 0,49 kbcm
in 20% CO ²	28,0 " " " "	+ 0,23 "
vorher	48,1 " " " "	
2) 1,0 g 24 St. in 35° dunkel	Säuregehalt	Volumenvermehrung
in gewöhnlicher Luft	31,4 auf 10 g ber.	+ 0,33 kbcm
vorher	47,3 " " " "	

In 1) wurde zersetzt 4,9 mg Apfelsäure, dagegen Volumenverm. um 0,76 mg CO²

2) " " 2,7 " " " " " " 0,66 " "

Tabelle XVIII. Athmungsgröfse.

A. Normale Athmung.

40 g Bryophyllum proliferum im Athmungsapparat.

Durchleitung CO²-freier Luft, Aufsaugen der CO² in Barytlösung in PETTENKOFER-
schen Röhren. Nach Belichtung am Tage 1½ Stunde verdunkelt (zur Vermeidung der
Fehler durch CO²-Absorption), dann 3 Stunden konstant 18°; aufgefangen wurden 14,5 kbcm
CO², pro Stunde und Gramm = 0,12 kbcm; am nächsten Morgen, dieselben Blätter
ebenso 3 Stunden 11,2 kbcm CO², pro Stunde und Gramm = 0,09 kbcm.

Bryophyllum calycinum gab

1) 1,44 g Blatt in 16 St.	0,94 kbcm CO ²	= 0,05 kbcm CO ²	pro Stunde u. Gramm
2) 4,22 " " " " "	3,19 " " "	= 0,05 " " "	" " "
3) 2,86 " " " " "	2,35 " " "	= 0,05 " " "	" " "
4) 3,44 " " " " "	2,57 " " "	= 0,05 " " "	" " "
5) 1,70 " " " 32 "	2,37 " " "	= 0,04 " " "	" " "
6) 1,39 " " " 48 "	2,46 " " "	= 0,04 " " "	" " "
Aloë arb. 4,1 " " " 48 "	14,03 " " "	= 0,07 " " "	" " "

B. Intramolekulare Athmung.

Bryophyllum 42 Stunden in H, nachher die CO² absorbiert,pro Stunde und Gramm 0,017 kbcm CO².

1) Aus der volumetrischen Vermehrung erhält man noch kleinere Werthe, die ge-
nauer sind, da bei der Absorptionsmethode noch ein Theil der CO² aus den in den Inter-
cellularen von der normalen Athmung her zurückgehaltenen Gasen herrührt.

Aus der volumetrischen Vermehrung ergab sich in H

für die ersten 16 Stunden 0,015 kbcm CO² pro Stunde und Gramm

für weitere 8 » » 0,014 » » » » » »

für weitere 48 » » 0,007 » » » » » »

2) Ein andermal für die ersten 14 Stunden in H 0,049 pro St. und Gramm
die andere Blatthälfte ebenso in 20% CO² + 80% H 0,018 » » » »

3) *Echeveria metallica* bis 10 Uhr dunkel, dann

5,75 g 24 St. in gewöhnl. Luft dunkel 4,02 CO²-Ausathm. = 0,029 pro Stunde u. Gramm

6,26 » » » » Wasserstoff 2,06 » » = 0,014 » » » »

letzteres aus der volum. Zunahme berechnet = 0,009 » » » »

4) Anderes Blatt

5,77 g bis Abends dunkel, dann 24 St. in H 4,65 CO²-Ausathm. = 0,042 pro St. u. Gramm

5,99 » » » hell, » » » » 2,16 » » = 0,015 » » » »

Tabelle XIX. Zum Abschnitt: Zersetzung von aufsen gegebener Säuren durch die Pflanzen.

Methode: Konzentration der Lösung der Apfelsäure 1⁰/₁₀₀. Nach dem Versuch wurde die Lösung, nach Herausnahme und Abspülen des Blattes bis zu dauernder neutraler Reaktion des Spülwassers, zur Entfernung absorbirter CO² auf dem Wasserbade längere Zeit erhitzt.

A. Bryophyllumblatt.

Das Blatt verminderte die 1 ⁰ / ₁₀₀ Lösung während 6stündiger Belichtung um	Die gleiche Quantität Lösung (1 ⁰ / ₁₀₀) verminderte sich ohne Blatt durch Einfluss des Lichtes in derselben Zeit			
	Dass., aber ein Blatt von <i>Maxillaria aromatica</i>	Dass., ein Blatt von <i>Polypodium ireoides</i>	Dass., ein Blatt von <i>Nerium Oleander</i>	
1. Tag 2,7 mg Apfelsäure	1,0	2,6	4,4	2,0
2. » 3,6 » »	1,7	1,2	1,9	1,7
3. » 4,3 » »	1,0	2,2	0,7	1,4
4. » 2,2 » »	0,9	totd, 0,0	totd, Vermehrg.	0,3
5. » todt (eine geringe Säurevermehrung)	0,5	Vermehrg. 0,2		totd, Vermehrg.
Summe 12,8	5,4	6,0	4,0	5,4
		gegen 3,6 ohne Blatt während derselben Zeit	(gegen 3,6)	(gegen 4,6)

B. Bryophyllum.

Das Blatt vermind. die Säure der Lösung bei täglich 8 St. Belichtung	Das Blatt vermindert die Säure d. Lösung bei 8 St. Dunkelheit	Die Lösung vermind. durch Einfluss des Lichtes ohne Blatt in 8 St.
Bryophyllum 1. Tag 4,7	4,4	0,5
2. » 4,9	1,5	0,0
3. » 3,8	2,5	1,5
4. » 0,5	0,0	0,2
Summe 10,9	5,4	2,2

Das Blatt vermind. die Säure der Lösung bei täglich 8 Stunden Belichtung	Das Blatt vermind. die Säure d. Lösung bei 8 St. Dunkelheit	Die Lösung vermind. durch Einfluss des Lichtes ohne Blatt in 8 St.
Nerium Oleander 1. Tag 0,9	4,4	0,0
2. » 2,2	0,5	0,8
Summe 3,4	4,9	0,8
Kürbiskeimling 2,7	4,7	4,4
Nidularia 0,8 grüner Blattheil 0,3 rother Blattheil		0,5

C. Maiskeimling

vermindert die Säure der Lösung in 24 Stunden bei 10stündiger Belichtung		Die Säure ohne Keimling unter denselben Bedingungen	Die Säure ohne Keiml., mit dem vorher genau neutralis. Spülwasser d. Keiml. vermischt (um Pilzkeime hinein zu schaffen)
I.	II.		
nach 24 St. 3,9 mg	5,6 mg	4,4 mg	2,7 mg
nach weiteren 24 St. 8,0 »	5,4 »	0,0 »	3,4 »
Summe 11,9 »	11,0 »	4,4 »	6,1 »
Anderer Maiskeiml.			
nach 24 St. 4,4 »		0,0 »	0,0 »
nach weiteren 24 St. 1,9 »		4,0 »	0,0 »
Summe 6,0 »		4,0 »	0,0 »

Andere Maiskeimlinge.

	Lösung allein 34° verminderte sich	dto. mit Keimling	dito nur mit Spülwasser	Lösung in 24° allein	dto. mit Keimling	dito nur mit Spülwasser	Lösung in 44° mit Keimling
nach 24 St.	0,0	4,2	4,2	—	2,5	—	4,2
nach weiteren 24 St.	0,0	tot	—	0,0	0,9	0,0	0,0
Summe	0,0	4,2	4,2	0,0	3,4	0,0	4,2

D. Oxalsäure

10/00 verminderte sich am Lichte in 6 Stunden durch	Dieselbe Lösung, gleiche Quantität und Exposition, unter beständiger Luftdurchleitung
Bryophyllum um 3,4 mg	0,7 mg
Neriumblatt 1. Tag um 3,4 mg	0,8 mg
2. Tag um 4,7 mg	0,0 mg
Maiskeimlingblätter in 24 St. um 2,0 mg	

Tabelle XX. Zum Anhang.

Assimilation in CO²-reicher Luft.

A. Nerium Oleander, je 2 Blatthälften.

		Menge d. währ. gleicher Zeiten assimil. CO ²	
1)	14,5 qcm Oberfläche in 6,0% CO ² enth. Luft	2,84 kbcm	} Luftvol. nur um 0,19 kbcm var.
	14,5 qcm " " 26,6% " " "	2,07 "	
2)	22 qcm " " 5,1% " " "	2,19 "	} Luftvol. nur um 0,2 kbcm var.
	22 qcm " " 17,2% " " "	2,65 "	

B. Bryophyllum calycinum.

			Volumenzu- nahme
1)	15,6 qcm Oberfläche in 2,7% CO ² enth. Luft	2,43 kbcm	} + 1,39 kbcm
	14,3 qcm " " 15,5% " " "	0,26 "	
2)	c. 15 qcm " " 3,6% " " "	2,40 "	} + 0,70 "
	c. 15 qcm " " 12,9% " " "	0,49 "	
3)	18,7 qcm " " 3,3% " " "	0,94 "	}
	17,6 qcm " " 10,2% " " "	0,37 "	
4)	19,2 qcm " " 3,7% " " "	3,23 "	} + 1,87 "
	19,0 qcm " " 14,6% " " "	0,72 "	

C. Hoplophytum grande.

1)	34,4 qcm Oberfläche in 3,5% CO ² enth. Luft	2,61 kbcm	} 1
	34,3 qcm " " 9,2% " " "	2,39 "	
2)	31,2 qcm " " 5,2% " " "	1,04 "	} + 0,35 "
	30,7 qcm " " 14,6% " " "	1,02 "	

Bei diesen Versuchen wurde, um während derselben keine bedeutende Verminderung des CO²-Gehaltes zu erhalten, nur kurze Zeit und bei ziemlich stark abgeblendetem Lichte exponiert.

III.

Über einige Wurzelanschwellungen, besonders diejenigen von *Alnus* und den *Elaeagnaceen*.

Von

Dr. J. Brunchorst.

Mit Tafel I.

In einer Arbeit über die Wurzelknollen der *Leguminosen*¹⁾ habe ich nachzuweisen gesucht, dass die konstant bei fast allen *Papilionaceen* und bei den meisten *Caesalpiniaceen* und *Mimosaceen* vorkommenden Wurzelknöllchen nicht, wie es die gewöhnliche Ansicht war, durch parasitische Pilze verursachte Gallen sind, sondern normale, zu dem Ernährungshaushalte der Pflanze in irgend einer, bis jetzt allerdings unaufgeklärten Beziehung stehende Organe. Die in den Knöllchenzellen vorkommenden organisirten Eiweißkörperchen, welche von sämmtlichen früheren Forschern für Gebilde pilzlicher Natur gehalten worden sind und deren Pilznatur die einzige oder wenigstens wichtigste Stütze für die Deutung der Knöllchen als Pilzgallen war, sind, nach dem was die Entwicklung und das endliche Schicksal derselben lehren, nicht als fremde Organismen aufzufassen, sondern weit natürlicher und ungezwungener als Organe, welche von dem normalen Plasmaleibe der Knöllchenzellen, ohne Mitwirkung irgend eines fremden Organismus, gebildet werden und welche ohne Zweifel gerade diejenigen Gebilde sind, welche die eigenthümliche Funktion der Knöllchen vermitteln.

An den Wurzeln mancher anderer Pflanzen kommen nun Anschwellungen vor, welche mehr oder weniger äußerliche Ähnlichkeit mit den *Leguminosenknöllchen* zeigen und welche theils ebenso wie diese als Pilzgallen gedeutet worden sind, über deren Ursache man aber theils gar

1) Berichte d. Deutsch. Wiss. Ges. 1885. p. 241. (Vorläufige Mittheilung.)

keine Anhaltspunkte hat ¹⁾. Es war nun sowohl an und für sich als wegen der neuen Deutung der *Leguminosenknöllchen* von Interesse zu wissen, ob etwa in irgend welcher dieser anderen Anschwellungen ähnliche Gebilde wie die organisirten pilzähnlichen Eiweißkörper der *Leguminosenpflanzen*, die *Bacteroiden*, vorkommen. Kämen solche auch Pflanzen zu, welche den Leguminosen systematisch fern stehen, dann wäre dies ein nicht zu unterschätzendes Argument gegen meine Deutung der *Bacteroiden* als normale Organe und für die Pilznatur derselben, denn es ist leicht zu verstehen, dass ein Pilz sich nicht um die systematischen Verwandtschaftsverhältnisse sonderlich kümmert und systematisch ganz verschiedene Pflanzen befällt, wenn dieselben biologisch ähnlich sind, während es schwer anzunehmen ist, dass komplizirte Organe, wie die *Leguminosenknöllchen* es nach meiner Ansicht sind, in gleicher oder ähnlicher Ausbildung sich bei systematisch fernstehenden Pflanzen ausgebildet haben sollten.

Besonders mit Rücksicht auf diese Frage habe ich diesen Sommer gleichzeitig mit der Bearbeitung der *Leguminosenfrage* die mir zugänglichen Anschwellungen anderer Wurzeln untersucht, wesentlich solche, die ebenso wie die *Leguminosenknollen* als durch Pilze verursacht gelten, weil man bei diesen am ehesten eine Übereinstimmung vermuthen konnte, aber auch diejenigen, deren Ursache ganz im Unklaren lag. Ich will gleich hervorheben, dass ich in keinem untersuchten Falle etwas gefunden habe, was mit den *Bacteroiden* nur die entfernteste Übereinstimmung zeigt, und damit wäre ja der eigentlichste Zweck meiner Untersuchung erledigt. Im Laufe der Untersuchung haben sich aber verschiedene Thatsachen ergeben, welche theils mit herrschenden Auffassungen nicht übereinstimmen resp. solche widerlegen und theils neu sind. Besonders gilt dieses für den Pilz der *Alnus-* und *Elaeagnus*anschwellungen, welcher erst neulich wieder der Gegenstand eingehender Untersuchung gewesen ist. Dieser Pilz bildet wesentlich den Gegenstand folgender Arbeit, zuerst will ich aber kurz einiger anderer Wurzelknollen gedenken, über welche ich allerdings nur wesentlich negatives mittheilen kann, aber von denen ich doch zeigen möchte, dass sie in der That nichts mit den *Leguminosenknöllchen* zu thun haben.

Bei *Crataegus prunifolia* kommen, wahrscheinlich bloß hin und wieder und nicht konstant, Anschwellungen vor, die bis Faustgröße erreichen. Sie haben eine sehr unregelmäßige Oberfläche und sind dunkelbraun bis beinahe schwarz gefärbt. Schnitte zeigen verholzte Gefäßbündel, welche in den verschiedensten Richtungen verlaufen, sich durch einander winden und stellenweise zu größeren Nestern verschmelzen. Der Zwischenraum zwischen den verholzten Gefäßbündeln ist aus parenchymatischem, großzelligem

1) Die der Vermehrung oder Reservestoffspeicherung dienenden Organe sind ja meist so deutlich ihrem Zweck angepasst, dass über ihre Natur kein Zweifel herrschen kann, und sind deshalb hier unberücksichtigt gelassen.

Gewebe gebildet und enthält im Herbst und Winter, ebenso wie die Nährwurzel selbst, große Mengen Stärke. Irgend welche anderen organisirten Körper in den Anschwellungen aufzufinden, ist mir nicht gelungen, und sie müssen deshalb sowohl, wie auch nach ihrem Bau, den ihrer Ursache nach ziemlich unbekanntem Ausbildungen zugerechnet werden.¹⁾

Die an Wurzeln von *Cyperus flavescens* und *Juncus bufonius* auftretenden Gallen brauchen bloß beiläufig genannt zu werden als solche, die wohl unzweifelhaft von fremden Pilzen erzeugt werden, indem in ihrem Inneren sich deutliche Pilzhypphen und große Pilzsporen mit höckerigem Episor vorfinden²⁾, nichts, was in irgend einer Weise an die Gebilde in den Leguminosenknollen erinnern könnte.

Von größerem Interesse sind die eigenthümlich verdickten Nebenwurzeln bei *Aesculus Hippocastanum*, die von Klein beschrieben worden sind.³⁾ Dieselben scheinen nach ihrem konstanten Vorkommen normale Bildungen zu sein, und sind ja auch von gewöhnlichen Wurzeln nicht allzu sehr verschieden. Sie treten erst an etwas größeren Keimpflanzen auf, sind an den im Frühjahr ausgesäeten im Herbst noch nicht zu finden, dagegen waren sie an zweijährigen vorhanden, und zwar noch nicht an allen Wurzeln.

In Wasserkulturen von der Rosskastanie habe ich sie nicht gefunden; insofern erinnern sie an die *Leguminosenknollen*, welche ja auch meistens in Wasserkulturen ausbleiben; dagegen zeigt die anatomische Untersuchung eine lockere Rinde, deren Zellen einen sehr spärlichen Inhalt zeigen, und gar keine organisirten Körper, außer dem Plasma, oder fremde Organismen enthalten.

An den Wurzeln aller oder sehr vieler *Cycadeen* kommen bekanntlich eigenthümliche, kurz gebliebene und an ihrer Spitze in kurze Höcker gabelig getheilte, mehr oder weniger abnorm verdickte Verzweigungen vor. Dieselben sprossen von horizontal verlaufenden, normalen Wurzeln aus, und gehen mehr oder weniger senkrecht nach oben, so dass sie aus der Erde gewöhnlich herausragen, und sind so zahlreich, dass sie an den *Cycadeen* unserer Gewächshäuser als dichtes Geflecht oft die ganze Oberfläche des Kübels bedecken. Dieselben sind schon von SCHACHT⁴⁾ erwähnt

1) Cf. FRANK, Pflanzenkrankheiten, p. 134. Dasselbe dürfte der Fall sein mit den von MAGNUS (Sitzungsber. des Bot. Ver. d. Prov. Brandenburg. Bd. XXIII, Jan. 1884) beschriebenen Knollen an den Wurzeln von *Rubus idaeus* ebenso wie mit Knollen von *Aristolochia Clematitis*, von denen ich durch Herrn Prof. MAGNUS Material erhalten habe, leider nur altes, getrocknetes, nach welchem man nichts Näheres darüber sagen kann. Jedenfalls kommen diese beiden Knollenbildungen nicht konstant vor wie die *Leguminosenknollen*, denn an mehreren von mir untersuchten Stücken waren sie nicht vorhanden.

2) Cf. WEBER, Bot. Zeitg. 1884. p. 369.

3) Flora 1880, Nr. 10 und 11.

4) Beiträge zur Anatomie und Physiologie, p. 164.

worden und REINKE¹⁾ hat in denselben eine parasitische *Nostocacee* aufgefunden.

Die Ursache dieser Gebilde ist ganz unklar geblieben. SCHACHT fasst sie einfach als aus inneren Ursachen veränderte Wurzelzweige auf, REINKE bemerkt das ganz negative, dass sie von den bewohnenden Algen nicht verursacht sein können. Davon kann man sich auch leicht überzeugen, indem sie oft gar keine Algen enthalten. Bei den Gattungen, wo REINKE die Algen gefunden hat, fehlen sie manchmal, und bei einem Exemplar, wo die Algen sich vorfinden, fehlen sie, wie ich mich überzeugt habe in den jüngsten Anlagen. So habe ich bei *Ceratozamia mexicana* Algen bloß in den älteren und größeren Anschwellungen gefunden, während die jüngeren desselben Exemplars gar keine enthielten, und ein anderes Exemplar derselben Pflanze hatte reichlich dichotomirte Wurzeln gebildet, die aber ganz algenfrei waren. Ebenso habe ich *Cycas circinalis* ohne, *Macrozamia*, wo REINKE keine gefunden hat, mit Algen gesehen. Die Algen können also unmöglich die Verursacher der abnormen Verzweigungen und Verdickungen sein, sondern treten ganz sekundär auf.

Dagegen habe ich in Anschwellungen von *Cycas* und *Ceratozamia* einen Pilz gefunden, welcher sich schon in den jüngsten vorhandenen Anlagen fand, und welcher möglicherweise in ursächlichem Zusammenhang mit denselben steht. Der Pilz hat ziemlich starke Hyphen, die sich in den Zellen reichlich in feine Verzweigungen spalten und zum Theil wenigstens im Inneren der Hyphen regelmäßig angeordnete ganz kleine Körner zeigen. In anderen Zellen ist bloß ein trüber Inhalt vorhanden, in welchen ich auch durch Tinktionen keine bestimmtere Struktur sichtbar machen konnte, wie überhaupt der Pilz, wenigstens in dem mir zu Gebote stehenden Material, schlecht zu sehen war und erst nach Tinktion gefunden wurde. Der Pilz kommt (ebenso wie der später zu behandelnde *Alnus*pilz), bloß in der großzelligen Rinde vor, tritt aber erst etwas weiter zurück von der Spitze auf und war im Meristem nicht zu finden. Ältere Anschwellungen zeigen sich oft an der Spitze geöffnet und innen vertrocknet und abgestorben, ebenso wie es bei den Knollen von *Alnus* manchmal der Fall ist. Bei dem spärlichen Material, das man von *Cycadeen* in den meisten botanischen Gärten findet, kann ja nicht entschieden werden, ob der Pilz auch wirklich ein konstanter Begleiter der Anschwellungen ist und somit als deren Urheber gelten kann, oder ob er ebenso wie die Alge bloß ein sekundär eingedrungener Parasit ist. Das muss ja weiteren Untersuchungen am besten an im Freien gewachsenem Material vorbehalten werden. Immerhin ist das Auffinden eines unzweifelhaften Pilzes ein Anhaltspunkt für die weitere Untersuchung, indem es nach Analogie wahrscheinlich ist, dass der Pilz die Ursache der Anschwellungen ist, und dass auch die *Cycadeenan-*
anschwellungen keine normalen Bildungen sind.

1) Bot. Zeitg. 1879. p. 473.

In ihren jungen Stadien den dichotomischen *Cycadeen*wurzeln ganz ähnlich, bloß viel kleiner, sind die Anschwellungen von *Alnus* und den verschiedenen *Elaeagnaceen* (*Elaeagnus*, *Hippophaë* und *Shepherdia*). In den Zellen dieser Knollen finden sich immer Gebilde, welche nicht zu dem normalen Inhalte der Zellen höherer Pflanzen gehören und welche auch als Pilze unter den verschiedenen Gattungsnamen *Schinzia* NÄGELI und *Plasmodiophora* WORONIN beschrieben worden sind. Während es aber ganz leicht ist, sich von der ganz unzweifelhaften Pilznatur der sonst als *Schinzia* oder *Plasmodiophora* beschriebenen Pilze zu überzeugen, können einige Zweifel Platz greifen, wenn man die Anschwellungen der genannten beiden Familien untersucht.

Hier könnte man viel eher wie bei den anderen oben erwähnten Bildungen erwarten, möglicherweise Körper vor sich zu haben, welche mit den Bacteroiden analog seien, wie ich in der That eine Zeit lang auch geglaubt habe. Bei diesen Pflanzen sind nämlich die betreffenden Gebilde so äußerst klein, dass es selbst mit den besten optischen Hilfsmitteln Schwierigkeiten macht, zu einem bestimmten Resultat zu kommen. Daher gehen auch die Angaben der verschiedenen Autoren über das, was sie in den Knollen gesehen haben, sehr auseinander.

Es wird sich empfehlen, kurz die Geschichte dieser Knollen und ihres Pilzes zu erwähnen.

Von den ganz gleichen Anschwellungen bei *Alnus* und *Elaeagnaceen* sind diejenigen an den Wurzeln der Erle zuerst bekannt geworden, indem schon MEYEN sie behandelt hat. Er hat eine ganz eigenthümliche Auffassung über die Natur derselben vertreten, welche mehr der Kuriosität halber genannt werden kann, indem er sie für selbständige parasitische Gewächse hielt, welche durch eine Art auf Degeneration beruhender Selbstzeugung aus den Wurzeln der Wirthpflanze hervorgehen sollten, ähnlich wie er es auch für wirkliche parasitische Pflanzen (z. B. die *Balanophoreen*) annahm. ¹⁾

Nach ihm wurden sie besonders von SCHACHT zum Gegenstand eingehenderer Untersuchungen gemacht. SCHACHT ²⁾ beschreibt ihren histologischen Bau und ihre morphologische Deutung als Wurzeln, fördert unsere Kenntnis der Gebilde aber nur wenig. Kurze Notizen von ROSSMÄSSLER ³⁾ und JÄGER ⁴⁾ bringen auch nichts neues und können hier übergangen werden.

1) MEYEN, Über das Hervorwachsen parasitischer Gebilde aus den Wurzeln anderer Pflanzen. Flora 1829, p. 49 ff.

2) SCHACHT, Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Wurzel. Flora 1853, p. 264, Taf. 4. — Beiträge zur Anatomie u. Physiologie d. Gewächse. 1854. p. 160 u. Taf. IX. — Lehrbuch d. Anatomie u. Physiologie. 1859. II. Th. p. 147.

3) ROSSMÄSSLER, Der Wald. 1863, p. 448.

4) JÄGER, Über eine krankhafte Veränderung d. Blütenorgane der Weintraube. Flora 1860. Nach ihm sollen sie durch Insektenstich verursacht sein.

Von viel größerem Interesse als alle früheren Arbeiten ist die erste Abhandlung WORONIN's¹⁾. Er kennt auch bloß die Knollen der beiden gewöhnlichen Erlenarten, findet aber in diesen etwas, was die früheren Untersuchungen ganz übersehen haben, einen fremden Organismus, und zwar einen Pilz, welchen er der NÄGELI'schen Gattung *Schinzia* anreihet. Trotz der ziemlich zahlreichen Untersuchungen, welche diesen Pilz zum Gegenstand haben, ist aber das, was wir bis zu der letzten Zeit über ihn wissen, sehr mangelhaft.

Man hat Organe beobachtet, die man für Sporen hielt, aber ohne dass es durch direkte Keimungsversuche gelungen wäre, den Beweis beizubringen, dass sie überhaupt Vermehrungsorgane sind, und auch das über die Entstehung der betreffenden Gebilde Bekannte war bis ganz neulich nichts derartiges, dass die Sporennatur derselben durch die Analogie mit den Sporen anderer besser bekannter Pilze außer Zweifel war. Dementsprechend wurde auch in der That ihre Sporennatur von einzelnen in Zweifel gezogen, so wurden sie von KNY für Haustorien gehalten²⁾, eine Ansicht, die in der That ihre Berechtigung haben konnte, so lange man nichts näheres über ihr Schicksal wusste.

Die neueste Arbeit über die Sache, die Arbeit MOELLER's³⁾, war nun anscheinend von eingreifender Bedeutung, indem nach der darin enthaltenen vollständigen Entstehungsgeschichte der Pilz sich einem anderen, der durch WORONIN's schöne Untersuchung⁴⁾ ziemlich vollständig bekannten *Plasmodiophora Brassicae*, ganz eng anschließen sollte.⁵⁾ Diese neue Auffassung erfreute sich sogar der Zustimmung WORONIN's⁶⁾, der doch zuerst den Ent-

1) WORONIN, Über die bei der Schwarzerle und der gewöhnlichen Gartenlupine auftretenden Wurzelanschwellungen. Mém. de l'acad. imp. de St. Pétersbourg. Ser. VII, Tome X, No. 6.

2) Cf. FRANK, Pflanzenkrankheiten, p. 649.

3) MOELLER, Über *Plasmodiophora Alni*. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. 1885. p. 402.

4) PRINGSHEIM's Jahrbücher, Bd. XI.

5) Dass der Pilz der Anschwellungen von *Alnus glutinosa* eine *Plasmodiophora* sei, haben schon vor MOELLER, aber ohne dass der letztere die betreffende kurze Notiz kannte, GRAVIS und nach brieflicher Mittheilung an ihn auch WORONIN in Folge erneuter Untersuchung der Sache vermuthet (Compte rendu de la soc. roy. de Botanique du Belgique. Januar 1880).

Eine andere Arbeit von GRAVIS über dasselbe Thema (Bulletin de la soc. roy. de Bot. de Belgique. T. XVIII, 1^{ère} partie, p. 50—60) enthält nichts als eine einfache Aufzählung alles dessen, was er in den verschiedenen Zellen der Knollen gesehen, Stärkekörner, Gerbstoffkugeln und Krystalle von oxalsaurem Kalk ebensogut wie die nicht als Pilzprodukt erkannten Schleimklumpen, mag aber der Vollständigkeit wegen hier erwähnt sein.

6) Bemerkung zu dem Aufsatz von H. MOELLER über *Plasmodiophora Alni*. Berichte der Deutsch. Bot. Ges. 1885. p. 477.

WORONIN vermuthet hier ebenso wie schon in der Mittheilung an GRAVIS (siehe oben), dass konstant oder bisweilen zwei Pilze in den Anschwellungen vorhanden seien, bringt aber nichts zur Stütze dieser Vermuthung bei und, wie ich später zeigen werde,

wickelungsgang ganz anders dargestellt hatte, und so schien durch diese Arbeit alles so ziemlich im Klaren und wenig Raum mehr übrig für weitere Untersuchungen. Die Sporennatur der bisher fraglichen Gebilde schien jetzt durch die Analogie außer Zweifel gehoben und damit das allerwesentlichste schon gethan.

Eine weitere Stütze für die neue Ansicht hätten MOELLER und WORONIN in einer ihnen wie es scheint unbekannt gebliebenen Arbeit WARMING's finden können.¹⁾ WARMING beschreibt hier zuerst die Knollen der *Elaeagnaceen*, deren Ähnlichkeit mit derjenigen der Erle ganz auffallend ist und auch von ihm hervorgehoben wurde, und er fand im Inneren der Rindenzellen dieser neuen Anschwellungen einen Pilz, den er gleich als einen parasitären Myxomyceten von ähnlicher Natur wie die WORONIN'sche *Plasmodiophora Brassicae* hinstellt. Wie man sieht, ist hier unabhängig von WORONIN und MOELLER und früher als von ihnen ihre Ansicht über den fraglichen Pilz vertreten, denn über die Identität des *Alnus*pilzes mit demjenigen der *Elaeagnaceen*-knollen kann schon nach einer flüchtigen Untersuchung nicht gezweifelt werden.

So lag also die Sache, als ich die Frage nach der Natur der betreffenden fremden Gebilde in Angriff nahm. Drei verschiedene Forscher sind unabhängig von einander zu dem Resultate gekommen, dass erstens die fremden Körper einem Pilz angehören, und zweitens dass dieser Pilz ein *Myxomycete* sei, der *Plasmodiophora* verwandt. Das erstere kann ich auch, trotz der Zweifel, die ich eine Zeit lang gehegt habe, bestätigen. In den Knollen kommt in der That konstant ein Pilz vor und dieselben sind deshalb, der gewöhnlichen und unzweifelhaft richtigen Auffassung gemäß, trotzdem direkte Infektionsversuche fehlen und auch schwer ausführbar sind, als Pilzgallen zu betrachten. Dementsprechend werden sie auch für die Pflanze wahrscheinlich von keinerlei Nutzen sein, höchstens könnte man an ein symbiotisches Verhältnis denken. Es liegt indessen wenig Grund vor, ein solches hier anzunehmen.

Das zweite übereinstimmende Resultat der genannten Forscher, dass der Pilz eine *Plasmodiophora* sei, kann ich dagegen nicht bestätigen.²⁾ Wir haben es vielmehr mit einem ganz eigenartigen Hyphenpilz zu thun, der nichts mit *Plasmodiophora* oder irgend einem anderen *Myxomyceten* zu thun hat.

Ehe ich zu der Behandlung der eigentlichen Pilzfrage und der dahin-

ist bis jetzt bloß ein und derselbe Pilz in den Anschwellungen untersucht worden. Ob zwei vorkommen können, geht uns ja dann hier nichts an.

1) WARMING, Små biologiske og morfologiske Bidrag. Botanisk Tidsskrift, 3^{die} Række, Bd. 4, 1876, p. 84. (Ref. Just, Jahresbericht f. 1876, p. 439.)

2) Auf die Frage nach der Identität meines Pilzes mit dem von den genannten Beobachtern untersuchten werde ich später zu sprechen kommen; diese Identität ist aber unzweifelhaft.

gehörenden Kontroversen übergehe, sei es mir gestattet, die Gallen selbst kurz zu erwähnen; ihr Bau und ihre Entstehung sind von den späteren Forschern bloß ganz beiläufig behandelt, verdienen aber etwas mehr Beachtung, da die Gebilde zu den merkwürdigsten, durch fremde Organismen verursachten Bildungen an Pflanzen gehören, indem sie ganz als eigenartige normale Organe sich verhalten, ohne irgend etwas krankhaftes an der Wirthpflanze zu veranlassen.

Entstehung und der Bau der Anschwellungen. Die Knollen von *Alnus* und den *Elaeagnaceen* sind, wie schon oben bemerkt, dem äußeren Ansehen und dem anatomischen Bau nach einander in allen wesentlicheren Punkten ganz gleich, und entstehen auch in derselben Weise.

Die ersten Anlagen, die ich gefunden habe, sind ganz kleine, breite Höcker, welche an kaum millimeterdicken Wurzeln sich finden (Taf. I, Fig. 4). Wenn diese Höcker noch ganz klein sind, bloß eine Höhe von einigen Millimetern bei einem ungefähr gleich großen oder größeren Durchmesser erreicht haben, verzweigen sie sich schon, und zwar meistens dichotomisch, indem sie an der Spitze zu zwei neuen, kurzen und breiten Zweigen oder Höckern auswachsen. Sehr oft, besonders wenn der Höcker groß ist, entstehen an seiner Spitze nicht zwei, sondern 3—4 neue Zweige. Diese bleiben ebenfalls kurz und dick, und verzweigen sich schon bei einer Länge von wenigen Millimetern wieder in der erwähnten Weise, entweder dichotomisch (besonders wenn sie klein sind) oder indem sie drei oder vier neue Zweige erzeugen. Die dritte Zweiggeneration verzweigt sich ebenso und in dieser Weise geht es fort, bis aus der ursprünglich ganz kleinen, runden Anlage eine wallnuss- bis manchmal faustgroße, mehr oder weniger kugelige Knolle mit unebener, von den dicht gedrängten rundlichen Zweigspitzen der letzten Zweiggeneration gebildeter Oberfläche entstanden ist. Bei Knollen von *Elaeagnus angustifolia*, wo die einzelnen Zweige, wenigstens an dem von mir untersuchten Materiale, klein und dünn bleiben, gehen die successiven Gabelungen manchmal sehr regelmäßig und in einer Ebene vor sich, so dass man an den flachen, fächerartig verbreiteten Anschwellungen die fortgesetzten Dichotomien sehr klar verfolgen kann; bei *Alnus* geschieht die Verzweigung zwar nach demselben Modus, aber die einzelnen Zweige sind stärker und die Reihenfolge der in verschiedenen Ebenen liegenden Zweige gewöhnlich nicht so regelmäßig, dass man die Verzweigungen weit zurück verfolgen kann. Ich will gleich hervorheben, dass dieser eigenthümliche Aufbau der *Alnus*- und *Elaeagnaceen*knollen bei keiner *Leguminose* gefunden wird, wodurch sich schon im äußeren Bau die Verschiedenheit der Gebilde kundgibt.

Junge Knollenanlagen findet man nie an den stärkeren Wurzeln; dieselben müssen immer an jungen 1—2jährigen Nebenwurzeln gesucht werden, woraus folgt, dass die erste Infektion schon in früher Jugend geschieht.

Später findet eine ausgeprägte Übereinstimmung statt zwischen dem

Dickenwachsthum der Wurzeln und der Vergrößerung der daran sitzenden Knollen. Besonders an wenige Jahre alten Pflanzen ist in einzelnen Fällen diese Parallelität eine so strenge gewesen zwischen der Zahl der Zweiggenerationen und der Zahl der Jahresringe der Wurzel, dass es mir nicht unwahrscheinlich erscheint, dass für gewöhnlich jährlich eine neue Zweiggeneration gebildet wird. Mehr wie eine entsteht auf jeden Fall nicht, und da die einzelnen Zweige ganz kurz sind — bei der gewöhnlichen Erle höchstens fünf Millimeter lang und 3—4 Millimeter breit — so ist das Wachsthum der Knollen, wie man sieht, ein sehr langsames und mit dem Längenwachsthum der wirklichen Wurzeln gar nicht zu vergleichen.

Der anatomische Bau der Knollenzweige ist nicht sehr verschieden von dem Bau normaler Erlenwurzeln, und auch hierin macht sich ein bedeutender Unterschied gegenüber den *Leguminosenknollen* bemerkbar. Die letzteren haben nicht, wie die Wurzeln, ein zentrales Gefäßbündel, sondern eine große Anzahl einzelner Stränge sind an der Peripherie der Knöllchen angeordnet, in der bakterioïdfreien Rindenschicht, während die ganze zentrale Partie von den bakterioïderfüllten großen Parenchymzellen eingenommen wird. Bei *Alnus* und den *Elaeagnaceen* dagegen haben die Zweige der Wurzelanschwellungen je ein zentrales Gefäßbündel, aus ungefähr den gleichen Elementen gebildet, welche den Gefäßstrang normaler Wurzeln zusammensetzen. (G, Fig. 5.)

Darauf folgt nach außen eine großzellige parenchymatische Rinde (R), welche den wichtigsten Unterschied im Bau der Knollen von demjenigen der Wurzel bedingt, indem sie viel breiter ist, als die Innenrinde normaler Wurzeln.

Umgeben und geschützt wird diese Rinde durch ein aus tafelförmigen Zellen bestehendes Korkgewebe (K.), welches von innen durch ein Kambium erneuert wird und unter Bräunung der Zellhäute außen abstirbt. Die Spitze, wenigstens der *Alnus*anschwellungen, ist außerdem von einer kleinen runden Zellschicht bedeckt, welche der eigentlichen Korksicht noch aufsitzt und wohl eine reduzierte Wurzelhaube repräsentirt, wiederum ein Unterschied dieser unzweifelhaften Pilzgallen von den Leguminosenanschwellungen, welche ohne Andeutung einer Wurzelhaube sind.

Von den hier erwähnten Geweben interessirt uns besonders die Rinde, weil deren Zellen den so verschiedenartig beschriebenen Pilz beherbergen.

Die Rinde ist bei den verschiedenen Spezies von verschiedener Dicke, und variirt auch bei einer und derselben Spezies an Breite, entsprechend den Verschiedenheiten in der Größe der einzelnen Zweige der Anschwellungen überhaupt. Bei *Hippophaë* und *Elaeagnus* habe ich sie am wenigzeitigsten gefunden, bei *Alnus undulata* am stärksten entwickelt, aber es ist möglich, dass dies auf individuellen Verschiedenheiten, welche keine spezifische Konstanz zeigen, beruhen kann.

Die Zellen der Rinde sind nicht alle untereinander gleichwerthig, son-

dem es kommen größere und kleinere Zellen in bestimmter Anordnung in derselben vor, welche auch durch verschiedenartigen Inhalt ausgezeichnet sind. Die kleineren Zellen enthalten Stärke oder Gerbsäure oder beides, die größeren sind allein von dem Pilze befallen, und beiderlei Zellen sind in längsverlaufenden Reihen oder Zügen angeordnet, die Reihen wieder mit einander abwechselnd. Besonders gut tritt diese reihenweise Anordnung bei *Alnus* auf, wo man sie auch, weil die kleinen Zellen stark gerbstoffhaltig sind, durch Osmiumsäure oder Kaliumbichromat sehr deutlich sichtbar machen kann.

In Fig. 4 ist ein mit OsO_4 behandelter Längsschnitt einer Alnusknollenspitze schematisch gezeichnet. Die dunklen Linien sind die Züge gerbstoffhaltiger Zellen, mit welchen im Herbst und Winter die stärkeführenden Zellzüge zusammenfallen. Die weißgehaltenen Zwischenräume sind mit pilzführenden Zellen ausgefüllt. Wie man sieht, sind die gerbstoff- und stärkeführenden Zellzüge in bestimmter Weise zur Oberfläche der Knollen orientirt, indem sie dem abgerundeten Scheitel der Oberfläche parallel verlaufen, weiter hinten schief nach innen gehen und sich dem Gefäßbündel anlegen. In analoger Weise sind die beiden Zellarten bei den anderen Gattungen angeordnet, nur verlaufen die Kurven hier schief, so dass sie sich viel höher hinauf an das Gefäßbündel anlegen (cfr. Fig. 3, wo im unteren Theile der Rinde die dunklen Zellen die pilzhaltigen sind.)¹⁾

Der Pilz der Anschwellungen. Auf einem radialen Längsschnitt durch die ganze Länge einer jungen unverzweigten Anschwellung oder einen der jüngsten Zweige von der Oberfläche einer älteren zusammengesetzten Knolle unterscheidet man außer den verschiedenen längsverlaufenden Zellreihen leicht auch drei verschiedene Querzonen, welche durch verschiedenes Aussehen der pilzführenden Zellen ausgezeichnet sind, während die reservestoffführenden Zellen sich in allen drei Zonen wesentlich gleich verhalten. Besonders gut treten diese Querzonen hervor bei *Hippophaë* und *Elaeagnus*- oder bei *Alnus*anschwellungen, die mit Alkohol behandelt sind.

Die jüngste dieser Zonen wird von dem Meristem mit einem Theil des

4) Diese reihenförmige, wechselweise Anordnung pilzhaltiger und nicht pilzhaltiger Zellen erinnert vielleicht etwas an die Anordnung der bakterioïd- und stärkehaltigen Zellen in den *Leguminosenknöllchen* (cf. meine Mittheilung in den Berichten d. Deutsch. Bot. Ges. 1885, p. 254). Allein diese Aehnlichkeit geht nicht sehr weit, indem, wie ich nachher zeigen werde, die Reihen pilzhaltiger Zellen bei *Alnus* u. s. w. auf Wanderung des Pilzes von einer Zelle zur anderen beruht, was, wenn man auch die Bakterioïden nach der alten Meinung als Pilze betrachtet, nicht im Stande ist, die Anordnung der stärkeführenden Zellen, Gruppen von bakterioïdführenden einschließend, in den *Leguminosenknöllchen* zu erklären. Und die bei vielen Leguminosen vorkommende Vertheilung der Stärke in wandständiger Schicht in jeder der bakterioïdführenden Zellen selbst hat ja mit der Vertheilung in den Pilzgallen von *Alnus* gar keine Aehnlichkeit.

eigentlichen Rindenparenchyms eingenommen und zeigt bei flüchtiger Betrachtung nichts Bemerkenswerthes. Sie ist in Fig. 3 hell gelassen.

Darauf kommt, nach hinten gehend, eine je nach der Jahreszeit verschieden breite, im Sommer immer reichlich vertretene Zone, wo die zu ihrer endlichen Größe ausgewachsenen Parenchymzellen einen Inhalt an kleinen runden Bläschen zeigen, die anscheinend dicht gedrängt das ganze Zellinnere ausfüllen. Diese Zone ist in der Fig. mit *B* bezeichnet und mag die »Bläschenzone« heißen. An Alkoholmaterial von *Alnus glutinosa* fällt dieselbe sofort auf durch eine ziemlich starke, braune Färbung des Zellinhaltes. An frischem Materiale ist bei *Alnus*, wie bei *Elaeagnus* und *Hippophaë* das Zellinnere ziemlich hell und durchsichtig, die Zone tritt aber deutlich hervor durch den Gegensatz zu der dahinterliegenden, in Fig. 3 mit *C* bezeichneten.

Die pilzführenden Zellen dieses ganzen älteren Theiles einer jeden Anschwellung fallen bei *Alnus* nicht sehr auf. Man bemerkt aber leicht in allen denjenigen Zellen, welche nicht bloß reservestoffführend sind, je einen großen Klumpen ohne jede charakteristische Struktur, der am nächsten wie ein Schleimklumpen aussieht und an die Schleimklumpen der äußeren Parenchymzellen von einigen Orchideenrhizomen und -wurzeln erinnert.¹⁾ Dieser Klumpen füllt die ganze Zelle nicht aus, sondern lässt zwischen sich und der Membran einen Raum übrig. (Fig. 10, Taf. I.) Bei *Hippophaë* und *Elaeagnus* ist die hinterste Zone die auffallendste von allen, indem sie zahlreiche kollabirte Zellen enthält, welche einen gelblichen bis braunen, wachsartigen Inhalt haben. (Taf. I, Fig. 11.)

Die drei hier unterschiedenen Querzonen enthalten je ein verschiedenes Entwicklungsstadium des Pilzes und zwar so, dass die jüngsten Stadien an der Spitze sich finden; die ältesten in der hintersten Zone. Von diesen drei Stadien ist wesentlich bloß das in der mittleren Zone enthaltene der Gegenstand der Aufmerksamkeit gewesen; diese war das einzige Stadium, welches WORONIN²⁾ kannte, und auch das einzige, welches FRANK, der in seinen Pflanzenkrankheiten den Pilz erwähnt und sich an die erste Beschreibung WORONIN'S anschließt, untersucht hat.³⁾ Doch bildet FRANK den Klumpen ab, spricht sich aber über dessen Struktur und Entstehung gar nicht aus. MOELLER⁴⁾ kennt noch das in der jüngsten Zone enthaltene Stadium, das älteste erwähnt er aber gar nicht, während GRAVIS zuerst allein dieses gesehen hat, nicht aber weiß, ob es überhaupt einem Pilz gehört oder nicht.⁵⁾

1) Cf. FRANK, Über die Bedeut. vegetabilischer Schleime etc. Pringsheims Jahrb. V, 161, Taf. XV u. XVI.

2) Mém. de l'acad. de St. Pétersbourg. Sér. VII, T. X, No. 6.

3) FRANK, Handbuch der Pflanzenkrankheiten. 1880. p. 674.

4) Berichte d. Deutsch. Bot. Ges. 1885. p. 102.

5) Bulletin de la soc. Bot. de Belg. XVIII. p. 8 des Sep.-Abz.

In der jüngsten Zone findet man, im Frühjahr und Vorsommer am zahlreichsten, bei allen untersuchten Gattungen und Spezies Zellen, welche eine dichte Plasmamasse enthalten. Dieselbe ist in Fig. 5 abgebildet, so wie sie im frischen Zustande aussieht; wie man sieht, ist sie um den Zellkern der Wirthpflanze herumgelagert und steht durch Fäden mit dem Wandbeleg in Verbindung. Dies sind die Plasmodien MOELLERS, und in der That ist die Ähnlichkeit mit einem Plasmodium, so wie man es bei *Plasmodiophora Brassicae* findet, auffallend. Eine besondere Struktur dieser Plasmamassen lässt sich an frischem Materiale von *Alnus glutinosa* oder *incana*, sowie von den untersuchten *Elaeagnaceen* schwer sehen. Man sieht anscheinend unregelmäßige Körner in der Masse vertheilt und hin und wieder würde man wohl von einer sehr feinen und undeutlichen faserigen Struktur der Plasmamasse reden können. Tinktionen helfen auch nicht viel, wenigstens haben sie mir bei den genannten Spezies nichts genutzt und da auch MOELLER trotz Tinktionen an *Alnus glutinosa* nichts weiter gesehen hat, wie ein »Plasmodium«, dürften sie hier wohl wenig Bedeutung haben.

Einen besseren Einblick bekommt man bei *Alnus glutinosa* in die Struktur der betreffenden Massen durch Aufhellen der Schnitte mit heißer verdünnter Salzsäure. Auch dies gelingt nicht immer, es scheint ein bestimmter Grad von Quellung erforderlich zu sein, welchen man nicht so leicht trifft. An guten Präparaten hat man aber Bilder, wie Fig. 6. Die ganze, früher anscheinend formlose Plasmamasse zeigt jetzt eine bestimmt feinfaserige Struktur; zwischen den Fasern oder in denselben liegen immer noch Körner zerstreut. Diese Struktur kann ja nicht durch Salzsäure erzeugt sein und kann wohl in keiner anderen Weise verstanden werden, als durch die Annahme, dass die »Plasmodien« eben keine Plasmodien (d. h. undifferenzierte Plasmamassen) sind, sondern aus einem in dem Plasma der Wirthzelle eingelagerten Knäuel äußerst feiner Hyphen bestehen. In der That macht das Bild Fig. 6 a ganz den Eindruck eines dichten Fadenknäuels, und es ist auch bei der großen Feinheit der betreffenden Fäden nicht schwer zu verstehen, dass dieselben, in das trübe Plasma der Alnuszelle eingelagert und von demselben eingeschlossen, nicht zu unterscheiden sind.

Die durch Bilder, wie Fig. 6, ganz berechnete Annahme, dass die »Plasmodien« aus einem in das Alnusplasma eingelagerten Hyphenknäuel bestehen, lässt es auch leicht verständlich erscheinen, dass der Zellkern der Wirthzelle unversehrt erhalten bleibt. Wenn man nach MOELLER die Klumpen als Plasmodien auffasste, dann war es etwas schwer zu begreifen, wie der Zellkern der Nährzelle mitten in den Plasmaleib des Parasiten hineinkäme. Ein Hyphenknäuel, welches den Zellkern umspinnt, in das den Zellkern umgebende Plasma eingelagert ist und von demselben ernährt wird, braucht dagegen den Zellkern oder Zelleib der Wirthzelle gar nicht zu affizieren oder zu zerstören, wie auch die in die Zellen der Wurzeln und Rhizome einiger

Orchideen¹⁾ eingelagerten, aus ganz dicken Fäden bestehenden Pilzknäuel lehren.

Und zum Überfluß kann ich noch einen weiteren Beweis beibringen, dass diese, immerhin wegen der Feinheit der Hyphen schwer zu entziffernde Faserstruktur bei *Alnus glutinosa* und den anderen Gattungen wirklich auf dem Vorhandensein von Pilzhyphen beruht. Bei einem Baum, der im Tübinger Garten den Namen *Alnus undulata* W. (Canada) führt, dessen Knollen ganz so beschaffen sind wie bei *A. glutinosa*, nur ungemein kräftig und groß, sind die Hyphen so viel dicker, dass man sie sehr gut unterscheiden kann. Es ist möglich, dass dies nicht immer bei *A. undulata* der Fall ist, und dass es ein individueller Vorzug des von mir untersuchten Exemplars war, das ist ja aber ganz unerheblich. Es war hier nicht schwer, besonders nach Überfärbung mit Hämatoxylin und nachheriger Ausziehung des überschüssigen Farbstoffes durch Alaunlösung, in den Meristemzellen ganz unzweifelhafte Pilzhyphenknäuel aufzufinden. Zu der größeren Deutlichkeit mag auch beigetragen haben, dass hier die Knäuel lange nicht so dicht waren, wie bei *A. glutinosa*. Man konnte sogar bei *A. undulata* an dem tingirten Material sehen, dass die Hyphen septirt sind, aus nicht sehr langen Gliedern bestehen. Bei *A. glutinosa* und den *Elaeagnaceen* ist wegen der Zartheit der Fäden kaum daran zu denken, die Septirtheit zu sehen; dass aber Querwände auch hier vorkommen, ist nach der sonst vollständigen Identität der Pilze wohl unzweifelhaft.

Bei *A. glutinosa* sieht man oft, dass die »Plasmodien« oder richtiger also Hyphenknäuel verschiedener Zellen durch die trennende Zellwand hindurch in Verbindung stehen, aber es ist schwer, irgend welche Struktur dieser oft ziemlich breiten Verbindungsbahn zu erkennen. Bei *A. undulata* ist auch dieses leichter, und man sieht, an tingirtem Material wohl am besten, deutlich, wie Hyphen in größerer oder kleinerer Anzahl die Hyphenknäuel verschiedener Zellen mit einander verbinden. Auch diese Hyphen sind bei *A. glutinosa* von trübem Plasma der Wirtszelle umgeben und dadurch unsichtbar.

Diese Verbindungsfäden zeigen, dass der Pilz in Form von Hyphen von einer Zelle zur anderen wandert, und dieses erklärt wieder die Anordnung der pilzhaltigen Zellen in längeren oder kürzeren Reihen oder Zügen, wovon schon oben die Rede war.

Es kann hier etwas vorgreifend bemerkt werden, dass die Verbindungen der Pilzkörper verschiedener Zellen in dem jetzt zu erwähnenden Bläschenstadium nicht sichtbar sind, und zwar deshalb, weil in diesem Stadium der Pilz das ganze Innere der Zelle ausfüllt, so dass es unmöglich sein muss, eine derartige Verbindung zu entdecken. In dem letzten Stadium des Pilzes, wo bei *Alnus* wieder ein Raum übrig ist zwischen Pilzkörper und Zell-

1) *Neottia* und *Epipogon* z. B.

membran der Wirthzelle, und wo außerdem das trübe Plasma der letzteren verschwunden ist, da sieht man auch bei *A. glutinosa* leicht und deutlich die die verschiedenen Pilzkörper verbindenden Hyphen. (Fig. 10.)

Dass die »Plasmodien« also in der That im Plasma der Wirthzelle eingebettete Hyphenknäuel sind, lässt nun der Bau des nächsten Stadiums, des Bläschenstadiums, leicht verständlich erscheinen. Dieses zweite Stadium ist in Fig. 7, Taf. I, von *Alnus glutinosa* abgebildet, so wie es in sehr günstigen Fällen an frischem Material zu sehen ist. Gewöhnlich sind die Zellen viel dichter mit Bläschen erfüllt, die ohne Zwischenräume aneinanderstoßen und anscheinend das ganze Zellinnere ausfüllen, gleichmäßig durch das ganze Innere vertheilt. Eine solche Ausfüllung der Zellen mit den Bläschen haben auch alle früheren Beobachter¹⁾ angenommen und dieselbe war einer der Punkte, worin sich auch nach MOELLER die Übereinstimmung mit *P. Brassicae* geltend machen sollte.

In der That liegen aber die Bläschen nicht durch die ganze fremde Pilzmasse der Zellen vertheilt, sondern nehmen bloß die Oberfläche derselben ein, welche sie allerdings meistens dicht bedecken. Sie sind in einer einzigen Schicht der Oberfläche einer nicht in Bläschen differenzirten Masse aufgesetzt. Dies sieht man in einzelnen günstigen Fällen bei *Alnus glutinosa* sehr klar, wo die Bläschen nicht so dicht liegen, dass sie die ganze Oberfläche bedecken, und wo man deshalb zwischen denselben auf die innere trübe Masse hineinschauen kann. (Fig. 7.) Aber auch wo die Bläschen ganz dicht gedrängt die Oberfläche ausfüllen, kann man an frischem Materiale, wenn auch mit einiger Schwierigkeit, durch verschieden hohes Einstellen sich von dem Vorhandensein einer solchen inneren Masse überzeugen. An Alkoholmaterial ist es vielleicht leichter durch die braune Färbung, welche dieses Reagens hervorruft, das allerdings andere Verhältnisse undeutlicher macht; durch die vorhin erwähnte Tinktion mit Hämatoxylin habe ich bei *A. glutinosa*, sowie bei *undulata* die allerschönsten Bilder von dieser Anordnung erhalten, indem sich die Bläschen sehr viel stärker färben, als die innere Masse. *Hippophaë* und die *Elaeagnus*-spezies eignen sich für die Entscheidung auch dieser Frage sehr wenig, aber auch hier scheint, nach dem was ich gesehen habe, dieselbe Vertheilung der Bläschen stattzufinden.

Dies ist ein neuer Punkt, welcher wieder dagegen spricht, dass wir es mit einer *Plasmodiophora* zu thun haben.

Bei einer solchen müsste man erwarten, dass die Sporen (als welche ja dann die Bläschen aufgefasst werden müssen) durch die ganze Masse ver-

1) Cf. WORONIN, Mém. de l'acad. etc. p. 3 des Sep.-Abz. — MOELLER, Berichte, p. 104.

theilt lägen, eine Vertheilung, wie die eben beschriebene, ist ganz unverständlich, denn es liegt kein Grund vor, warum eine formlose Plasmamasse, die sich in Sporen differenzirt, dieses bloß in einer oberflächlichen Schicht thun sollte. Dagegen ist die Anordnung leicht verständlich, nachdem wir wissen, dass wir es in den jüngsten Stadien des Pilzes nicht mit Plasmodien, sondern mit Hyphenknäueln zu thun haben. Denkt man sich, dass in einem dicht gewundenen, aus vielen einfachen oder einigen verzweigten Pilzfäden bestehenden Knäuel die Enden der Zweige resp. Hyphen zu kugeligen Bläschen anschwellen, dann ist es leicht verständlich, dass dieses, wenn das Knäuel dicht gewunden ist, bloß bei denjenigen Endigungen stattfinden kann, welche auf der Oberfläche liegen. Im Inneren sind ja die dichtgedrängten Fäden ebenso wie das diese einschließende Plasma ein rein mechanisches Hindernis für eine solche Aufschwellung; an der Oberfläche dagegen grenzt unser Hyphenknäuel, bloß von einer dünnen Plasmahülle umgeben, frei an den Zellsaft und hier ist Platz vorhanden für das Anschwellen der Endigungen zu den kugeligen Bläschen.

Es dürfte ziemlich überflüssig sein den Beweis beizubringen, dass das Bläschenstadium wirklich mit dem als Hyphenknäuel entpuppten »Plasmodium«-Stadium genetisch zusammenhängt. Das Auftreten des ersteren in Zellen, die in ihrer Jugend das letztere beherbergt haben müssen, ist ja schon Beweis genug. Ein weiterer Beweis liegt auch in der eben behandelten Anordnung, welche schon für sich auf eine Abstammung des Bläschenstadiums vom Hyphenknäuel hindeutet, und weitere Beweise bringen die weiteren Struktureigenthümlichkeiten des Bläschenstadiums, sowohl für den Zusammenhang desselben mit den als Hyphenknäuel gedeuteten Massen wie auch dafür, dass diese Massen aus wirklichen Hyphen zusammengesetzt sind. Dieses wird allerdings nach dem oben Gesagten kaum Jemand bezweifeln, aber wegen der ungeheuren Kleinheit und daraus folgenden Undeutlichkeit der hier behandelten Verhältnisse kann eine weitere Bestätigung wenigstens nicht schaden.

Erstens kommen dabei die Fortsätze der Bläschen in Betracht. Schon von den ersten Beobachtern, WORONIN und FRANK, sind die Bläschen als mit je einem Tragfaden oder Hyphenfortsatz versehene Kugeln beschrieben worden. Andere Beobachter, wie GRAVIS und WARMING, haben diese Fortsätze nicht gesehen und MOELLER wieder hat sie gesehen, deutet sie aber in anderer Weise wie als Hyphenfortsätze, was er ja auch nach seiner Meinung von der Entstehung der Bläschen thun muss.

Die betreffenden Fortsätze sind am besten zu sehen, wenn man einen dünnen Schnitt mit den Nadeln zerzupft und quetscht. Dadurch erreicht man ohne Schwierigkeit, dass einzelne Bläschen sich von dem Verbands mit der mittleren Masse loslösen und frei in der Flüssigkeit herumschwimmen. Dieselben zeigen sich dann zum größten Theile mit einem kurzen Fortsatz versehen, meistens ungefähr so lang wie der Durchmesser der

Kugel selbst und bei allen Spezies sehr dünn und fein, bei *A. undulata* allerdings bedeutend stärker wie bei den anderen Spezies (Fig. 42). An allen losgelösten Bläschen sind diese Fortsätze nicht vorhanden, aber wohl an den meisten, und in einzelnen Fällen sind die Fortsätze nicht kurz, wie eben beschrieben, sondern haben eine Länge vielmal so groß wie der Durchmesser des an ihnen befestigten Bläschens (Fig. 42a), dann ist meistens das oberste Stück, und dieses allein stark lichtbrechend und deutlich markiert, das übrige macht den Eindruck einer entleerten zarten Haut.

Diese Fortsätze — sie kommen allen Spezies zu — lassen sich sehr ungezwungen verstehen, wenn man die Bläschen durch Anschwellung eines Hyphenendes entstanden denkt; es sind dann Fadenstücke, welche beim Losreißen der Bläschen von dem Hyphenknäuel an denselben hängen geblieben sind, und sie lassen sich in keiner anderen Weise verstehen.

MOELLER kann sie natürlich nicht so deuten, sondern meint, sie seien Fetzen einer von ihm angenommenen Zwischensubstanz, welche beim Zerzupfen an den Bläschen hängen geblieben sind. Diese Deutung ist schon deshalb unzulässig, weil die Fortsätze immer in Einzahl vorhanden sind, und weil sie immer die gleiche Dicke und in ihrer ganzen Länge gleiche Stärke haben. Zufällige Fetzen einer Zwischensubstanz würden ja ebenso oft zu mehreren an einem Bläschen hängen bleiben, und auch ganz unregelmäßige Form und ungleiche Stärke haben. Eine »Zwischensubstanz«, von der die Anhängsel herrühren könnten, ist überhaupt nicht vorhanden, wie man an aus der Zelle herausgefallener, mit Bläschen besetzter Pilzmasse sehen kann, indem die Scheitel der einzelnen Bläschen hier ganz frei hervorragen, von nichts umhüllt oder bedeckt sind; und an nicht zerzupften oder zerquetschten Schnitten sieht man in günstigen Fällen, wie Fig. 6, dass schon die Fortsätze in ganz intakten Zellen vorhanden sind, also nicht durch die Präparation erzeugt werden, wie die MOELLER'sche Deutung, und die von MOELLER angenommene Entstehung der Bläschen überhaupt, verlangt.

Was die weitere Struktur des Bläschenstadiums angeht, so zeigen schon die oben erwähnten langen Hyphenfortsätze (Fig. 42a), dass die innere nicht in Bläschen differenzierte Masse Pilzhyphen enthalten muss, ebenso wie es die Plasmakörper der jüngsten Zellen (die sog. Plasmodien) thun. In der That zeigt sie ganz dieselbe faserige Struktur wie die letzteren, was man schon dann sehen kann, wenn die Bläschen nicht zu dicht liegen (Fig. 6). Und besonders an tingirtem Material von *A. undulata* war es unzweifelhaft zu sehen, dass die innere Masse aus denselben dichten Hyphenknäueln besteht wie die »Plasmodien« selbst. Dadurch ist ja auch jeder Zweifel an der genetischen Zusammenhörigkeit der beiden Bildungen gehoben, wenn nicht schon das successive Auftreten in den verschieden alten Knollenzellen jeden Zweifel in dieser Hinsicht ausschliesse. Was die Hyphen selbst betrifft, so scheinen sie verzweigt zu sein, was man natür-

lich nicht in den unversehrten Knäueln sehen kann, sondern in solchen, die zerzupft und zerquetscht sind und wo man somit die Hyphen auseinander gerissen hat. Dass die Hyphen im Inneren wirklich mit den Bläschen zusammenhängen und zu ihnen gehören, zeigen ja diejenigen Fälle, wo es gelingt, lange Hyphen mit daran befestigten Bläschen zu isoliren, was ich deshalb bemerke, weil man bei der Annahme von zwei verschiedenen Pilzen in den Anschwellungen (Woronin) etwa meinen könnte — wie unwahrscheinlich es auch ist —, dass die gewöhnlich bloß mit einem kurzen Fortsatz versehenen Bläschen ganz unabhängig von den wirklichen Hyphen sein könnten, die Hyphenknäuel im Inneren und in den »Plasmodien« etwa einem Pilz angehörten, die Bläschen einem anderen, damit nicht zusammenhängenden.

Die Bläschen selbst bestehen aus einer deutlichen Membran und haben einen Inhalt, welcher für gewöhnlich ganz homogen erscheint und nach den Reaktionen Eiweißnatur hat. Er färbt sich mit Jod gelb, mit MILLON'S Reagens röthlich und tingirt sich leicht mittelst Hämatoxylin und Anilinfarben (Eosin, Methylviolett).

Die Größe der Bläschen ist bei den verschiedenen Spezies etwas verschieden. Bei *A. undulata* habe ich sie am größten gefunden, ebenso wie hier die Hyphen am stärksten sind. Sie haben hier eine durchschnittliche Größe von etwas über 5 μ , variirend zwischen 4 und 6 μ . Bei *Hippophaë rhamnoides* habe ich sie am kleinsten gefunden, im Mittel aus einigen Messungen bloß etwas über 3 μ , schwankend zwischen 2 und 3,5. Bei *A. glutinosa* sind sie im Mittel ungefähr 4 μ (zwischen 3 und 5 schwankend). Einen Werth als spezifischen Charakter will ich übrigens diesen geringen Größenunterschieden nicht beilegen, vielleicht variirt die Größe nach Standort und Ernährungszustand. Doch stimmen die Angaben WORONIN'S und GRAVIS' ¹⁾ für *A. glutinosa* mit meinen Messungen an derselben Pflanze ziemlich überein, wenigstens so weit wie man es bei den Messungen verschiedener Leute von so kleinen Körperchen erwarten darf; in Alnusanschwellungen von sechs verschiedenen Standorten, die ich untersucht habe, sind die Bläschen überall von derselben Größe.

Bei *Elaeagnus angustifolia*, *argentea* und bei Topfexemplaren von *E. pungens* sind die Bläschen ungefähr so groß wie bei *Hippophaë rhamnoides*.

Die oben angeführten Thatsachen über Anordnung der Bläschen, sowie über deren schon in intacten Zellen zu sehenden Hyphenfortsätze und über die Natur der inneren, die Bläschen tragenden Masse beweisen schon, dass die Bläschen durch Anschwellung von Pilzhypen gebildet werden müssen, nicht durch Differenzirung in einer form- und strukturlosen Plasmamasse entstehen können. Und es mag gleich hervorgehoben

1) Der Erstere giebt an 4,8—5,9, der Letztere 4—5 μ .

werden, dass sie als terminale Anschwellungen von Hyphen oder Hyphenzweigen entstehen müssen, indem man nie ein Bläschen sieht, das mit zwei Hyphenfortsätzen versehen ist. Ich habe dieses wenigstens nie gesehen, und ich glaube sicher annehmen zu können, dass die gegentheiligen Angaben FRANK'S¹⁾ und WORONIN'S²⁾ über Bläschen, welche an ihrer Spitze eine Hyphe und daran wieder ein Bläschen tragen sollten, durch Bilder entstanden sind, welche man manchmal erhält, wenn sich zwei mit je einem Hyphenfortsatz versehene Bläschen aneinanderlegen, der Fortsatz des einen an das andere Bläschen. Solche Bilder habe ich auch gehabt, aber mich immer durch Bewegung des Wassertropfens überzeugen können, dass ich nicht zwei zusammengewachsene, sondern zwei einfach zusammen gelagerte Bläschen vor mir hatte.

Die Entstehung durch successive terminale Aufschwellung eines Hyphenendes kann, wenn auch nicht direkt, unter dem Mikroskope verfolgt, doch auch aus den Zwischenstadien erschlossen werden. Dieselben findet man allerdings selten, woraus folgt, dass die Bildung der Bläschen sehr rasch vor sich gehen muss, aber bisweilen sieht man sie doch, wie ich glaube am besten im Frühjahr. Man findet dann an der Grenze zwischen »Plasmodiumzone« und »Bläschenzone« einzelne Zellen, wo die Pilzmassen mit kleinen Kügelchen von gleichmäßiger Größe besetzt sind, wie es Fig. 6 b zeigt, und es ist wohl berechtigt anzunehmen, dass wir es hier mit in Entstehung begriffenen Bläschen zu thun haben, besonders auch nach der Region, wo solche Zellen auftreten. Ich will nochmals bemerken, dass solche Stadien schwer zu finden sind.

Das weitere Schicksal der Bläschen ist bisher ganz unbekannt geblieben und doch ist ein Stadium, wo die Bläschen nicht mehr zu finden sind, das häufigste in den Anschwellungen. Wie schon früher erwähnt, wird der allergrößte hintere Theil außer von den reservestoffführenden Zellen von solchen eingenommen, die bei *Alnus* einen farblosen oder gelb gefärbten cystolithenartigen Klumpen ohne weitere sichtbare Struktur enthalten (Fig. 40) oder die bei *Hippophaë* und *Elaeagnus* kollabirt sind und gelbliche wachsartige Massen einschließen (Fig. 44). Dass diese Massen aus dem mit Bläschen versehenen Inhalte der jüngeren Region der Anschwellungen hervorgegangen sind, ist ja ohne weiteres aus dem Bau und Spitzenzuwachs der Anschwellungen klar und auch die, allerdings nicht leicht herauszufindende Struktur der Massen zeigt dasselbe. Man findet nämlich, besonders in Zellen, die dicht hinter der Bläschenzone liegen, in den Klumpen der *Alnus* und in den wachsartigen Massen der anderen Gattungen

1) l. c. p. 648.

2) l. c. p. 4.

Elemente, die aus den Bläschen hervorgegangen sein müssen. Es sind dies halbmond- bis beinahe vollständig ringförmige Körper von demselben Durchmesser wie die Bläschen. Viele Bläschen scheinen schon sehr bald so weit zerstört zu werden, dass sie nicht mehr in der schleimigen oder wachsartigen Masse wiederzufinden sind, aber andere bleiben eine Zeit lang kenntlich als nicht ganz geschlossene ringförmige Körper oder als halbe Ringe (Fig. 10 b). Schließlich, in den noch weiter nach hinten liegenden Theilen sind auch diese desorganisirt und verschwunden. Aus Schnitten, die gequetscht und zerzupft sind, werden auch oft solche schon zerstörte Bläschen isolirt (besonders habe ich dies bei *E. pungens* beobachtet), man sieht dann, dass es halbe oder zweidrittel Bläschen sind, Körper, die entweder durch Platzen einer geschlossenen Blase entstanden sein können, oder durch Einstülpen der einen Hälfte einer solchen in die andere. Ich glaube sowohl aus der Form vieler derselben wie aus anderen Gründen annehmen zu dürfen, dass diese Körper durch Platzen der Blasen entstanden sind; dass sie aus den Bläschen entstammen, ist wenigstens ganz unzweifelhaft, und daraus folgt also, dass die Bläschen in den Alnuszellen, wo sie gebildet sind, verbleiben und zu Grunde gehen. Einen weiteren Beweis dafür, dass die Klumpen und wachsartigen Massen aus den Bläschenmassen herkommen, hat man, wenn nöthig, darin, dass dieselben auch aus Hyphen oder Hyphenresten gebildet sind, die allerdings bei *A. glutinosa* und den *Elaeagnaceen* schwer unterscheidbar sind, sich aber bei *A. undulata* nach Tinktion ziemlich deutlich erkennen lassen. Und auch bei *A. glutinosa* kann man ersehen, dass in dem dritten Stadium Hyphen vorhanden sind, daran, dass die Klumpen an einer oder mehreren solcher aufgehängt sind, welche auch die Klumpen verschiedener Zellen verbinden, wie es in Fig. 10 und 13 sichtbar ist. Diese Hyphen sind ohne Zweifel solche, durch welche die Wanderung des Pilzes von einer Zelle zur anderen im Meristem stattfand und welche, nach dem Zerstören der Bläschen, in dem dadurch offenen Raum sichtbar geworden sind.

In den Anschwellungen von *A. glutinosa* kollabiren die Zellen, die Klumpen enthalten, nicht, oder erst sehr spät. Bei *A. undulata* kollabiren sie meistens bald und bei den *Elaeagnaceen* fallen sie sehr rasch nach dem Platzen der Bläschen vollständig zusammen, indem die benachbarten gesunden Zellen sich in sie hineinwölben. (Fig. 13.) Es bekommt hierdurch den Anschein, als ob die wachsartigen, meistens wegen der Form der Zellen langgestreckten Massen nicht in den Zellen, sondern in Intercellularräumen lägen. Dass dies nicht der Fall ist, lässt sich an den an den Ecken vorhandenen wirklichen Intercellularen erkennen.

Aus dem Zugrundegehen und Entleertwerden der Bläschen in den Zellen, wo sie gebildet sind, folgt nun, dass dieselben nicht, wie die gewöhnliche Ansicht ist, Sporen sein können, wenigstens keine funktionirenden. Solche müssten entweder durch Zerstörung der Anschwellung frei werden,

wie bei *Schinzia cypericola* und *Plasmodiophora Brassicae*, oder sie müssten etwa ihre Keimschläuche nach außen oder wenigstens in neue, nicht befallene Zellen hineintreiben. So etwas thun die Bläschen nicht. Sie platzen und entleeren ihren Inhalt in den Zellen, wo sie liegen. Dass sie auch nicht Haustorien (KNY) sein können oder mit der Ernährung des Pilzes überhaupt etwas zu thun haben, werde ich gleich zeigen, zunächst werde ich ein paar Reaktionen erwähnen, welche zeigen, dass mit dem Platzen auch wirklich ein Inhalt aus den Bläschen entfernt wird, dass sie nicht etwa auch im turgeszenten Zustande bloß aus einer aufgeblasenen, inhaltsfreien oder -armen Membran bestehen, welche nachher zusammenfällt, ohne dass sie irgend einen Inhaltsbestandtheil abgibt.

An in der schon oben erwähnten Weise mit Hämatoxylin gefärbten Schnitten kann man es leicht erreichen, dass bloß die pilzhaltigen Zellen einer Anschwellung tingirt werden. Die Bläschen sind dann rein blau gefärbt, und zwar ziemlich stark, die dahinter liegenden Zellen, in welchen die Bläschen zerstört sind, haben dagegen bloß eine schwache und zwar rothviolette Färbung angenommen. Ebenso färben sich mit Eosin in wässriger Lösung die Bläschen stark, während die älteren Stadien ungefärbt bleiben. Schon diese Färbungen zeigen einen Reichthum der, wenn man will, turgeszenten Bläschen gegenüber den kollabirten oder geplatzen an Eiweißstoffen an, und durch MILLON'sches Reagens kann man direkt nachweisen, dass die bläschenhaltigen Zellen stark eiweißhaltig sind, während die dahinter liegenden mit den Klumpen gefüllten gar keine Eiweißreaktion geben.

Mit dem Zerstörtwerden der Bläschen findet also eine Entleerung derselben statt, und es fragt sich dann, wie diese Entleerung vor sich geht. Hier leistet wieder die Hämatoxylinfärbung gute Dienste, ebenso wie die Anwendung von *Alnus undulata* von Vortheil war. Man sieht nämlich an tingirten Präparaten aus Anschwellungen, die im Herbst gesammelt wurden, dass die Bläschen nicht einfach, sondern in mehrere bis viele Zellen getheilt sind. An untingirtem Materiale kann man wegen der Kleinheit der Gebilde natürlich nichts sehen, an tingirten Schnitten ist es aber nicht schwer zu bemerken, wie der dunkelblau gefärbte Inhalt durch untingirte Wände, in mehrere eckige Theile zerlegt ist.¹⁾ In manchen Bläschen ist bloß eine Wand vorhanden, somit das Bläschen bloß in zwei Zellen getheilt, die theils ungefähr gleiche Größe haben, theils ziemlich ungleich groß sind. In anderen Bläschen sieht man Zellwände mehr oder weniger senkrecht zu den vorigen auftreten, so dass drei und vier getrennte Zellen vorhanden sein müssen, und in wieder anderen ist die Theilung weiterschritten,

1) Sehr gute Dienste leistet hierbei der ABBE'sche Beleuchtungsapparat nach Wegnahme jeder Blendung, sowie er für gewisse Bakterienuntersuchungen benutzt wird. Bloß durch diese Beleuchtung habe ich auch die Septirtheit der die Hyphenknäuel zusammensetzenden Fäden sehen können.

so dass der Inhalt aus sehr vielen, natürlich entsprechend kleineren, eckig umgrenzten Zellen besteht. In Fig. 9 sind einige dieser Theilungsstadien wiedergegeben.

Diejenigen Zellen nun, welche an der hinteren Grenze der Bläschenzone liegen, dicht an solchen Zellen, deren Bläschen schon entleert sind, tingiren sich nicht oder nur sehr wenig. Die Bläschen sind hier noch nicht geplatzt, aber ihr Inhalt ist beinahe farblos geblieben, und zeigt sich aus einer Mehrzahl länglicher, stark lichtbrechender Körperchen bestehend, welche ohne Zweifel durch Abrundung und Isolirung der eben beschriebenen, durch successive Theilung hervorgegangenen Zellen entstanden sind. Dieselben Körperchen sieht man auch in Bläschen von *A. glutinosa* ohne Tinktion an frischem Materiale unschwer, bei den *Elaeagnaceen* sind sie ebenfalls vorhanden, wenn auch wegen der noch größeren Kleinheit undeutlicher.

Schon das Vorhandensein dieser Körperchen in frischen Bläschen zeigt, dass die an tingirtem Materiale bemerkbare, an untingirtem allerdings unsichtbare Zertheilung des Inhaltes nicht etwa bloß durch die Reagentien hervorgerufen ist. Dass wirkliche getrennte Partien in den Bläschen vorkommen, ist auch dann deutlich, wenn man ein freischwimmendes Bläschen zerquetscht; die einzelnen gefärbten Theile werden dann von einander losgelöst und fallen auseinander (Fig. 9, α). Etwas näheres über die Struktur der getrennten Inhaltkörperchen der Bläschen anzugeben ist nicht möglich, dazu sind sie viel zu klein. Sind doch schon die Bläschen, worin sie in größerer Anzahl (40—20) gebildet werden, so klein, dass auch ihr Bau sich nur mit Schwierigkeit konstatiren lässt und in verschiedenen Weisen beschrieben worden ist.

Ich stehe nach der eben geschilderten Bildungsweise der kleinen Körperchen nicht an, dieselben als die wirklichen Sporen des Pilzes zu betrachten, und demnach die Bläschen selbst als Sporangien anzusehen, indem ich natürlich die Namen Spore und Sporangium in der allgemeinsten Bedeutung benutze und damit nichts über den morphologischen Werth und die Homologien der betreffenden Gebilde gesagt haben will.

Diese Sporen werden also durch Platzen der Sporangiumwand frei und gerathen in den Zellraum der Wirthzelle hinein, aber was dann weiter aus ihnen wird, habe ich nicht verfolgen können, und wird sich auch wegen der Kleinheit der betreffenden Gebilde schwerlich verfolgen lassen, solange man die Sporangien nicht außerhalb der Zelle zur Sporenbildung bringen kann, und somit die kleinen Sporen für sich in einer klaren Nährflüssigkeit zu beobachten Gelegenheit hat. In dem von so vielerlei Körnern erfüllten Zellinneren der Wirthzelle selbst ist es unmöglich, die Sporen nach der Ausleerung aufzufinden und ihre weitere Entwicklung zu verfolgen, und ich habe es verschiedentlich versucht, die Sporangien in Wasser zum Weiterentwickeln zu bringen, ohne dass es mir bisher gelungen ist. Man kann

auch keinerlei sehr begründete Vermuthungen darüber haben, was das Schicksal der Sporen wohl ist. Durch Fäulnis der Anschwellungen gerathen sie nicht in Freiheit und in den Boden, so viel scheint sicher, denn während Sporen ohne Zweifel jedes Jahr gebildet werden, wachsen die Anschwellungen jahrelang fort, ehe sie — ob durch innere Ursachen, weiß ich nicht — zu Grunde gehen, indem das Rindenparenchym zerstört wird, und bloß die Rinde und das Gefäßbündel und schließlich nur das Letztere als ein geschwärzter Fetzen übrig bleibt. Und anzunehmen, dass die Sporen durch die sie umgebenden Zellschichten hindurchwandern sollten, um ins Freie zu gerathen, ist auch etwas schwer, denn es sind viele Zellwände, wovon die äußersten verkorkt und verdickt, die auf diesem Wege durchwandert werden müssten. Und noch eine Möglichkeit, dass sie in den Zellen, wo sie gebildet sind, ihre weitere Entwicklung nehmen, ist deshalb wenig zulässig, weil man nie in den älteren Partien, wo die Sporen früherer Jahre gelegen haben müssen, Entwicklungsstadien antrifft, die man als aus den Sporen entstandene ansehen könnte. Man findet, wie schon oben dargelegt, in dem hinteren Theil jeder Anschwellung ein paar Millimeter hinter der Spitze anfangend und bis in die ältesten Theile, bloß desorganisirte Massen, die deutlicherweise aus dem Bläschenstadium hervorgegangen sind, nicht irgend etwas, was man als junge Stadien ansehen könnte. Die jungen Stadien, d. h. die Hyphenknäuel ohne ausgebildete Sporangien, finden sich immer nur an der Spitze der Anschwellungen, also in Zellen, die bisher keine Sporangien oder Sporen enthalten haben.

Es bleibt somit vor der Hand eine ganz offene Frage, was aus den Sporen wird, ja man könnte beinahe geneigt sein, dieselben als unter den gewöhnlichen Umständen nicht zur Keimung kommende Gebilde zu betrachten, welche etwa bloß dann zur Vermehrung des Pilzes beitragen, wenn aus irgend einem Anlasse die Anschwellungen absterben, was ja zuletzt immer eintreten muss, während also für gewöhnlich der Pilz sich nur durch Weiterwachsen der Hyphen in den Anschwellungen vermehrt und die Sporen nutzlos zu Grunde gehen. Von den verschiedenen Möglichkeiten, ist vielleicht diese nicht die unwahrscheinlichste, und sie setzt, wie man sieht, nicht voraus, dass die Sporen wirklich funktionslos seien, eine Annahme, die ja immer sehr bedenklich ist, sondern nur dass sie unter den in der Natur gewöhnlichen Bedingungen nicht zur Keimung gelangen, was ja für manche Vermehrungsorgane zutrifft. Ausgeschlossen ist es natürlich nicht, dass die Sporen durch die sie umgebenden Zellen hindurch auswandern können und somit in Freiheit gelangen, auch ohne dass die Anschwellung zerstört wird. Diese Annahme entspricht dem, was man direkt sieht, indem es mir nicht gelungen ist, die Sporen in den älteren Theilen der Anschwellungen aufzufinden. Allerdings sind die Sporen so klein, dass es sehr schwer halten wird, ihre Auswanderung direkt zu beobachten oder sie in den zu durchwandernden Zellen aufzufinden. Die all-

gemeine Verbreitung des Pilzes spricht vielleicht für die letztere Möglichkeit, ohne dass durch dieselbe die zuerst angedeutete ausgeschlossen scheint. Näher auf diese erst durch weitere Beobachtung zu entscheidende Möglichkeit einzugehen, lohnt sich natürlich nicht.

In den einmal infizierten Anschwellungen vermehrt sich gewiss der Pilz bloß durch Hineinwachsen von Hyphen in die jedes Jahr neugebildeten Zellen, indem er von hinten in demselben Verhältnis abstirbt, wie das Weiterwachsen vor sich geht, so dass die lebendigen Pilzkörper sich immer nur in einer gewissen kleinen Zone nicht sehr alter Zellen hinter der Spitze aufhalten. Wie die Infektion neuer pilzfreier Wurzeln und somit die Anlage neuer Gallen geschieht, ob durch Sporen oder durch im Boden vegetirende Hyphen, ist ja dagegen ganz unbekannt. Vielleicht können die Sporen, wenn sie frei werden, im Boden selbständig weitervegetiren und dadurch die große Verbreitung des Pilzes begründen. In der That ist der Pilz äußerst verbreitet, denn alle *Alnus*bäume, die an feuchten Stellen vorkommen, scheinen von demselben befallen zu sein.¹⁾ Auf trockenen Standorten dagegen sollen nach den Angaben die Anschwellungen bisweilen fehlen. Ich habe dieselben an allen untersuchten Exemplaren von *A. glutinosa* gefunden, mit Ausnahme eines in dem trockenen und sandigen Boden des Versuchsgartens der Landwirtschaftlichen Hochschule in Berlin wachsenden. Bei den *Elaeagnaceen* der Berliner und Tübinger botanischen Gärten, welche in gewöhnlichem Gartenboden wachsen, kamen sie ohne Ausnahme reichlich vor.

Der Pilz, dessen Entwicklungsstadien ich im Vorhergehenden beschrieben habe, ist, wie man gesehen hat, von *Plasmodiophora Brassicae* WORONIN so vollständig verschieden, dass seine Nichtzugehörigkeit zu der Gattung *Plasmodiophora* ganz unzweifelhaft ist, und nicht näher begründet zu werden braucht. Mehr Ähnlichkeit hat er mit der NÄGELI'schen Gattung *Schinzia*, so wie dieselbe nach der alten Beschreibung sein soll. *Schinzia* ist nach NÄGELI ein Hyphenpilz, dessen eine Spezies im Inneren der, übrigens nicht abnorm veränderten, *Iris*wurzeln vegetirt, und der an den Spitzen seiner Hyphen kugelige Anschwellungen bildet, die als Sporen oder Sporangien gedeutet worden sind. Insofern ist also etwas Ähnlichkeit mit dem eben behandelten Pilze vorhanden, und WORONIN hat deshalb auch den zuerst von ihm beschriebenen Organismus, der unzweifelhaft mit dem meinigen identisch ist, zu *Schinzia* gestellt. Indessen sind die, den Sporangien meines Pilzes als analog zu betrachtenden Organe der *Schinzia* so viel größer, dass an eine Identität der beiden Pilze nicht zu denken ist. Die Größenunterschiede der bei den verschiedenen *Alnus*- und *Elaeagnus*arten angetroffenen Sporangien

1) WORONIN, l. c. p. 5 des Sep.-Abz. — MOELLER, l. c. p. 102.

sind nicht sehr bedeutend, und nie sind dieselben größer als 6 μ . *Schinzia* NÄGELI dagegen bildet Bläschen, welche einen Durchmesser bis 0,015 Linie = 33 μ haben¹⁾, und dieser Unterschied ist doch so groß, dass darnach wohl keine Übereinstimmung der beiden Pilze möglich ist, auch die übrigen Punkte unbeachtet, in denen die *Schinzia* nach der, allerdings der damaligen Zeit gemäß, sehr unvollkommenen Beschreibung NÄGELI's von unserem Pilz differirt. Auch die Dicke der Hyphen ist bei *Schinzia* viel größer als bei unserem Pilz, welchen NÄGELI mit den damaligen Mikroskopen überhaupt nicht gesehen haben könnte.

Es scheint somit nothwendig, dem Pilz einen neuen Namen beizulegen, und ich schlage den Namen *Frankia* für denselben vor, nach dem einen der beiden Forscher, die sich zuerst mit ihm beschäftigt haben, und zwar glücklicher als ihre Nachfolger. Die bei den verschiedenen Wirthpflanzen vorkommenden Pilze sind so wenig verschieden, dass es keinen Sinn hat, dieselben spezifisch zu unterscheiden, sie mögen alle den Namen *Frankia subtilis* tragen.

Es bleibt mir jetzt übrig, die Identitätsfrage der von verschiedener Seite beschriebenen Pilze zu erwähnen, und ich kann dabei ganz kurz sein. Die Pilze, deren Sporangiumstadien allein von WORONIN und FRANK unter dem Namen *Schinzia* behandelt wurden, sind ohne Zweifel identisch, darüber kann nach Zeichnungen und Beschreibungen wohl kein Zweifel herrschen.²⁾ Ich habe mich nun an dem Originalmaterial FRANK's ebenso, wie an seinen Präparaten überzeugen können, dass diese *Schinzia* in der That, so wie man es auch aus der Beschreibung schließen muss, mit *Frankia subtilis* identisch ist.³⁾

Was nun die *Plasmodiophora* MOELLER's betrifft, so bin ich wieder in der Lage, denselben aus Material und Präparaten zu kennen, die ich durch die Güte des Herrn MOELLER selbst erhalten habe, und die Identität des Pilzes mit *Frankia* ist ebenfalls ganz unzweifelhaft, indem ich an diesem Material genau dasselbe gesehen habe, wie an Alkoholmaterial von *Frankia* selbst: mit je einem Fortsatz versehene Bläschen, welche circa 4 μ Durchmesser haben, die plasmodienähnlichen Hyphenknäuel und die desorganisirten Massen in dem hinteren Theile.⁴⁾

Dass der von GRAVIS untersuchte Pilz ebenfalls zu *Frankia* gehört, ist

1) l. c. p. 87.

2) cf. WORONIN, l. c. Fig. 9 bis 13, Taf. I, und FRANK, Krankheiten, Fig. 149, p. 648.

3) Die Beschreibung WORONIN's stimmt nur insofern nicht mit dem Sporangiumstadium der *Frankia* überein, als er intercellulare Hyphen gesehen haben will (l. c. p. 3). Dies beruht ohne Zweifel auf einer Täuschung, die um so leichter verständlich ist, als auch nach W. die betreffenden Hyphen äußerst zart und schwer zu beobachten sein sollen.

4) Ein wichtiger Grund, warum MOELLER den Pilz so falsch aufgefasst hat, liegt darin, dass er ausschließlich Alkoholmaterial untersuchte. Dies ist für die Erkenntnis der feineren Structur höchst ungünstig.

nach seiner Angabe über die Größe der »Sporen« und nach einer Zeichnung unzweifelhaft. ¹⁾

Es wäre somit nur noch die Beschreibung WARMING's ²⁾ von dem Pilze der *Elaeagnaceen* übrig, um die Annahme WORONIN's ³⁾, dass in den Anschwellungen unter Umständen zwei Pilze vorhanden sein könnten, zu rechtfertigen und um die Existenz einer *Plasmodiophora* in denselben zu begründen. Ich habe hier kein Originalmaterial, worauf ich mich berufen kann, aber nachdem es nachgewiesen ist, dass mehrere andere Forscher sich durch die oberflächliche Ähnlichkeit des Sporangienstadiums von *Frankia* mit *Plasmodiophora* dazu haben verleiten lassen, denselben für mit Letzterem identisch zu halten, und nachdem in allen von mir untersuchten *Elaeagnus*- und *Hippophaë*knollen die wirkliche *Frankia* sich vorfindet, darf es wohl kaum bezweifelt werden, dass auch WARMING denselben vor sich gehabt hat, und dass somit bis jetzt bloß ein Pilz in den Anschwellungen gefunden worden ist, nämlich die *Frankia*. Dass hin und wieder, in den Anschwellungen sowohl wie in normalen Wurzeln, andere Pilze parasitisch vorkommen können, ist nicht zu bezweifeln ⁴⁾, und ich habe gelegentlich auch einen solchen gefunden, aber es giebt sicher bloß einen Pilz, der konstanter Begleiter der Anschwellungen ist, und der somit als deren Urheber gelten muss, nämlich *Frankia*. *Plasmodiophora Alnus* MOELLER existirt nicht, sondern bezeichnet nur eine falsche Auffassung eines von jedem *Myxomyceten* ganz verschiedenen Pilzes.

Zu der Beschreibung der Entwicklung der *Frankia* habe ich deshalb viel Worte brauchen müssen, um meine Meinung gegenüber der anderer Forscher zu begründen und die früheren Angaben zu widerlegen, es dürfte sich deshalb empfehlen, den Entwicklungsgang kurz zu rekapituliren, wobei ich die gelegentlich berührte Abhängigkeit der Pilzentwicklung von der Jahreszeit präzisiren werde.

Die *Frankia* ist ein Hyphenpilz, aus äußerst zarten septirten Fäden ge-

1) Bull. etc. Pl. 4, c. Fig. 4. GRAVIS' »Sporen« sind, wie die Sporangien von *Frankia*, 4—5 μ . groß. Er hat dieselben in seiner ersten ausführlicheren Mittheilung nicht gekannt, sie dagegen später an anderem Material noch gefunden, was einfach darin seinen Grund hat, dass *Frankia* im Winter keine Sporangien hat, dagegen den ganzen Sommer, und GRAVIS hat sein erstes Material im Februar und März gesammelt, sein anderes im Juli, wie er angiebt.

2) l. c. p.

3) Berichte 1883, p. 177, und auch GRAVIS, Comptes rendu etc. p. 3 des Sep.-Abz.

4) Cf. BORZI, Über *Rhizomyxa*, ein neuer Phycomycet. Messina, 1884. (Italienisch.) Ref.: Bot. Centralbl. 1884. p. 4. Ob der Pilz, den ich bei *A. undulata* in einzelnen Anschwellungen gefunden habe, mit der *Rhizomyxa* identisch ist oder ein bisher unbeschriebener Organismus, kann ich nicht bestimmt sagen, da ich bloß ein einzelnes Entwicklungsstadium gesehen habe. Er hat ohne Zweifel keinen Zusammenhang mit *Frankia*, und tritt überall in den Anschwellungen auf, nicht nur in den Zellen einer bestimmten Zone, kann auch nicht zu Verwechslung mit *Frankia* Anlass geben oder gegeben haben.

bildet, welche, zu dichten Knäueln gewunden, im Plasma der jüngeren, an der Spitze der Anschwellungsbranche gelegenen Parenchymzellen vegetirt. In dieser Form von Hyphenknäueln überwintert der Pilz. Im Frühjahr, und zwar schon im April, wo die Vegetation der Wirthpflanze anhebt, fängt auch die *Frankia* an sich zu entwickeln. Indem die Anschwellungen an der Spitze weiter wachsen und die neugebildeten Zellen durch einwandernde Hyphen infizirt werden, gehen die älteren Knäuel zur Sporenbildung über, welche dadurch geschieht, dass an der Oberfläche gelegene Hyphenendigungen zu kugeligen Sporangien anschwellen, und zwar äußerst rasch. Im Laufe des Sommers werden an mehr und mehr Hyphenknäueln, solche Sporangien gebildet, so dass die sporangienführenden Zellen immer zahlreicher werden, und eine bis zum Herbst breiter werdende Zone der Anschwellungsspitzen einnehmen. Im Spätsommer fängt dann die Bildung der Sporen an, wieder von den ältesten Sporangien ausgehend, indem in denselben der Inhalt durch successiv auftretende, sich kreuzende Wände in eine größere Anzahl (10—20 vielleicht) kleiner Zellen getheilt wird. Diese Zellen sind die Sporen, die sich isoliren und durch Platzen der Sporangiumwand frei werden. Bis zum Winter hat sich diese Sporenbildung in sämtlichen Sporangien vollzogen, die entleerten Sporangienwände ebenso wie die sie tragenden Hyphenknäuel liegen, als desorganisirte Massen, in den früher von Sporangien ausgefüllten Zellen, diese Massen sind nicht mehr lebensfähig und betheiligen sich nicht mehr an der Vegetation des Pilzes, welche im nächsten Frühjahre von den in den jüngsten Zellen überwinternden Hyphenknäueln, welche noch keine Sporangien getragen haben, wieder angefangen wird. Es ist, wie man sieht, eine, dem langsamen Wachsthum der Gallen selbst angepasste, sehr langsam sich abwickelnde Vegetation.

Es bleibt nur noch übrig, mit ein paar Worten der verwandtschaftlichen Beziehungen der *Frankia* zu gedenken. Am nächsten würde man wohl wegen der kugeligen Sporangien an eine Zugehörigkeit zu den *Mucorineen* oder *Saprolegniaceen* denken. Eine solche ist aber wohl kaum annehmbar, weil die Hyphen septirt sind und weil die Sporen durch successive Theilung der Sporangienzelle entstehen. Durch seine Sporenbildung, welche ja allein das Charakteristische bei dem Pilze ist, schließt sich *Frankia* in der That gar keiner anderen mir bekannten Pilzgruppe naturgemäß an, sondern steht vorläufig ganz vereinzelt da. Vielleicht werden die noch aufzufindenden weiteren Entwicklungsstadien irgend einen Aufschluss geben, vorläufig werde ich mich jeder Vermuthung über mögliche Verwandtschaftsverhältnisse des sehr niedrig organisirten Pilzes enthalten.

Figurenerklärung

von Tafel I.

(Die mikroskopischen Bilder sind, wo nichts anderes bemerkt, mit der Oelimmersion $\frac{1}{18}$ ZEISS und Okular 2 gezeichnet und mit Hilfe der Camera entworfen. Die Vergrößerung beträgt hierbei 1095.)

- Fig. 1. Junge Wurzel von *Alnus glutinosa* mit kleinen Anlagen zu den Pilzgallen.
- Fig. 2. Anschwellungen verschiedenen Alters von *Elaeagnus pungens* aus dem Berliner bot. Garten (nat. Gr.).
- Fig. 3. Längsschnitt einer Zweigspitze von *Hippophaë rhamnoides*, schwach vergrößert. (*G* = Gefäßbündel, *R* = Rinde, worin der Pilz vegetirt, *m* = Meristem.) *B* und *C* bezeichnen Zonen mit verschiedenen Entwicklungsstadien des Pilzes: *B* Sporangienstadium, *C* Sporangien entleert und der Pilz abgestorben.
- Fig. 4. Anordnung der verschiedenen Inhaltsbestandtheile in einer Alnusknolle (halb schematisch). Die dunklen Linien bezeichnen gerbsäure- und stärkehaltige Zellzüge, dazwischen liegen pilzhaltige Zellzüge. *B* Sporangienzone.
- Fig. 5. Zellen aus dem Meristem einer *A. glutinosa*-Anschwellung mit Pilzinhalt (»Plasmodien« MOELLER'S) in frischem Zustande.
- Fig. 6 a. Pilzinhalt einer Meristemzelle nach Behandlung mit kochender verdünnter Salzsäure; der Hyphenknäuel sichtbar.
b. Etwas älteres Stadium mit Sporangienanfängen, ebenso behandelt wie a. (Beides von *A. glutinosa*.)
- Fig. 7. Hyphenknäuel mit ausgewachsenen Sporangien von *A. glutinosa*, im frischen Zustande in einer intakten Zelle liegend. (Inhalt der Zellen in der Zone, welcher *B* Fig. 3 entspricht.)
- Fig. 8. Pilzkörper von *A. glutinosa*, wo der Inhalt der Sporangien in Sporen zerfallen ist. Aus einer sehr kleinen Zelle.
- Fig. 9. Theilungsstadien der Sporangien von *A. undulata* (Hämatoxylinpräparat).
- Fig. 10. Zellen aus dem hintersten Theile einer Alnusanschwellung (*A. glutinosa*), wo die Sporangien entleert sind und der Pilzkörper abgestorben und desorganisiert ist. (Vergr. 200.)
- Fig. 11. Zellen mit desorganisirtem Pilzinhalte von *Hippophaë rhamnoides* (aus der mit *c* bezeichneten Zone der Fig. 3, Vergr. 200).
- Fig. 12. Einzelne losgelöste Sporangien:
a. von *Hippophaë rhamnoides*,
b. von *A. undulata*.

IV.

Über Aufnahme von Anilinfarben in lebende Zellen.

Ein Beitrag zur Mechanik des Stoffaustausches.

Von

Dr. W. Pfeffer.

I. Einleitung.

Ernährung und Lebensthätigkeit der höchsten wie der niedersten Pflanze fordern unabweisbar, dass von außen Stoffe in lebendige Zellen ihren Weg finden, in denen sie entweder verarbeitet oder auch in größerer oder kleinerer Menge aufgespeichert werden. Einer solchen vorübergehenden oder dauernden Magazinirung können ebenso die Stoffwechselprodukte unterworfen sein, welche in anderen Fällen ihren Weg aus der Zelle in das umgebende Medium finden, sei es, dass dieses Luft, Wasser oder eine andere lebende Zelle ist. Mag nun ein Stoff für die Pflanze entbehrlich oder unentbehrlich sein, jedenfalls muss er, um in die lebendige Zelle zu gelangen — die wir mit Wasser durchtränkt voraussetzen —, zunächst die Zellwand passiren, um den Protoplasmakörper zu erreichen, mit dessen Durchwanderung er den Weg in den Zellsaft (Vakuolenflüssigkeit) finden kann. Die von Wasser durchtränkte Zellwand lässt aber bekanntlich gelöste Körper, sofern sie nicht zu sehr kolloidal sind, mehr oder weniger leicht diosmiren. Nicht so der Protoplasmakörper, für den selbst dann die Aufnahme merklicher Mengen nicht direkt nachzuweisen ist, wenn diese Körper, wie Salpeter, Phosphate, Zucker u. s. w. zum Zwecke der Ernährung der Pflanze ihren Weg in die lebendige Zelle sicher finden müssen.

Bei dem Mangel von Stoffen, deren Eintritt und Anwesenheit in lebendigen Pflanzenzellen sich leicht erkennen und kontroliren lässt, war es bisher nicht wohl möglich, den Vorgang der Stoffaufnahme näher zu verfolgen. Eigentlich war es bisher nur möglich, für Ammoniak und Alkalien das Eindringen in den Zellsaft durch die Reaktion farbiger Zellsäfte oder durch

entstehende Niederschläge in diesen direkt zu konstatiren. Der besonderen Eigenschaften der Alkalien halber können die mit diesen Körpern gewonnenen Erfahrungen nicht wohl zu allgemeinen Schlüssen über die Stoffaufnahme verwandt werden. Zudem werden die Zellen bei Einwirkung von Alkalien leicht geschädigt, was in noch höherem Grade für Säuren gilt, für die ein Eindringen ohne Schädigung bisher nicht sicher gestellt war. Für Farbstoffe, welche von vornherein als die für die Beobachtung geeigneten Stoffe erscheinen müssen, hatten alle bisherigen Beobachtungen an Pflanzenzellen hinsichtlich der Aufnahme oder Ausgabe ein negatives Resultat ergeben. Thatsächlich dringen aber verschiedene Anilinfarben leicht in lebendige Pflanzenzellen und können unter Umständen in diesen in ansehnlichem Grade aufgespeichert werden, ohne dass das Leben geschädigt wird. Solche leicht kontrolirbare Farbstoffaufnahme habe ich als Reagens benutzt, um den Vorgang der Stoffaufnahme und Stoffausgabe näher zu studiren.

Naturgemäß war mein Augenmerk zunächst auf die allgemeinsten Bedingungen gerichtet, welche über Aufnahme oder Ausgabe von Stoffen entscheiden. Im Dienste des lebendigen Organismus werden aber mit diesen Mitteln besondere Leistungen erreicht, hinsichtlich deren ich wohl die Sachlage zu klären vermochte, ohne die mannigfachen Vorgänge im Näheren auf die bestimmenden Ursachen zurückführen zu können. Nach dieser Seite wird die kausale Aufhellung der faktischen Leistungen auch nur langsam und stufenweise Fortschritte machen, da maßgebend die spezifische Eigenthümlichkeit und Reaktionsfähigkeit des Organismus eingreift, welche in jedem einzelnen Falle nach ihren Besonderheiten in Betracht gezogen werden muss. Übrigens ist auf die Bedeutung der Lebensthätigkeit für die Stoffaufnahme schon in meinen früheren Darstellungen hingewiesen, welche auch ein in der Hauptsache richtiges Bild von den allgemein für die Stoffaufnahme maßgebenden Faktoren geben ¹⁾).

Bei den hier verfolgten Zielen dienten die Farbstoffe nur als Mittel zum Zweck, und nachdem ich geeignete farbige Körper kennen gelernt hatte, unterließ ich weitere Farbstoffe auf Aufnahme oder Nichtaufnahme zu prüfen. Es ist wohl nicht zweifelhaft, dass manche nicht geprüfte Farben für bestimmte Zwecke sich besser eignen werden, als die von mir angewandten Farbkörper, und in der That ist zu hoffen, dass die Aufnahme von Farbstoffen in lebende Zellen nach verschiedener Richtung hin nutzbar gemacht werden kann.

Da die Besonderheiten der Aufnahme von Stoffen in die lebendige Zelle hauptsächlich von den Eigenschaften des Protoplasmakörpers abhängen, war es geboten, besonders solche Versuchsobjekte zu wählen, deren Zellwand

¹⁾ Vergl. PFEFFER, Pflanzenphysiologie. 1884. Bd. I. p. 44; Osmot. Untersuch. 1877. p. 160.

relativ leicht Wasser und gelöste Stoffe passiren lässt. Die bekannten Eigenschaften der für Wasser schwieriger permeablen Wände, also von Kork und Cuticula, sind nur nebenbei in Betracht gezogen. Gleiches gilt hinsichtlich der Verhältnisse, welche aus dem Gewebeverband der Zellen entspringen. Denn der Akt der Aufnahme in den Protoplasmaorganismus bleibt dem Wesen nach gleich, mag der gelöste Stoff durch eine dünne Zellwand oder durch deckende Zelllagen oder innerhalb des Zellwandgerüsts oder auf irgend eine andere Weise seinen Weg bis zu der aufnehmenden Zelle gefunden haben. Freilich kann durch Verlängerung des Weges bis zum Aufnahmeort und ebenso durch schwieriger permeable Wände die Aufnahmehätigkeit sehr verlangsamt, ja unter Umständen unmöglich gemacht werden.

Durch die Zellwand gelangen zumeist nur gelöste Stoffe zu dem Protoplasmaorganismus, welcher demgemäß unter diesen Umständen auf diosmotische Aufnahme angewiesen ist. Doch vermögen bekanntlich Myxomyceten und überhaupt Primordialzellen auch feste Partikel aufzunehmen, und solche können auch von dem Protoplasma in den Zellsaft und umgekehrt ihren Weg finden. Dieser Austausch von Partikeln messbarer Größe wird weiterhin in seinem Verhältnis zur Aufnahme gelöster Stoffe beleuchtet werden; zunächst aber soll die Aufnahme gelöster Stoffe, also die diosmotische Aufnahme ins Auge gefasst werden.

Für unsere nächsten Untersuchungen kann zwar der ganze Protoplasmakörper als diosmotisch maßgebend ins Auge gefasst werden, doch entscheidet, wie früher von mir dargethan wurde¹⁾, über die Aufnahme die Plasmanschicht, welche den Protoplasmakörper nach außen, also gegen die Zellhaut hin, wie gegen größere oder kleinere Vakuolen abgrenzt. Diese diosmotisch bestimmende Schicht wird nach früherem Vorgang als Hautschicht, Plasmahaut, Plasmamembran oder Hyaloplasmahäutchen bezeichnet werden. Zur näheren Kennzeichnung kann man von äußerer oder innerer Hautschicht oder kurzweg Außenschicht und Innenschicht des Plasmas reden. Letztere wird nach dem Vorgang von DE VRIES auch Vakuolenwand oder Vakuolenhaut genannt werden, während mit Hautschicht oder Plasmahaut, sofern eine nähere Bezeichnung die räumliche Lage zum Protoplasmakörper nicht bestimmt, die den Protoplasmakörper nach außen begrenzende Schicht bezeichnet werden soll.

Bei den Differenzen über den mit Protoplasma zu verbindenden Begriff mag hier noch bemerkt werden, dass ich, wie früher (Phys. I. p. 34) und z. B. in Übereinstimmung mit HANSTEIN und STRASBURGER, den ganzen eigentlichen lebendigen Organismus mitsammt seinen lebendigen Organen Protoplasmaorganismus, Protoplasmakörper und schlechthin Protoplasma, nach dem Vorgange HANSTEIN's auch wohl Protoplast nenne²⁾. Die nicht zur

1) Vergl. meine Physiologie Bd. I. p. 34.

2) HANSTEIN, Botan. Abhandlungen 1880, Bd. IV. p. 8.

eigentlichen Konstitution des Protoplasmas gehörigen Körper werden demgemäß allgemein als Einschlüsse bezeichnet und die speziell zu dem Stoffwechsel in Beziehung stehenden Stoffe können mit HANSTEIN als Metaplasma zusammengefasst werden. Was ich unter Zellsaft und gleichbedeutend unter Vakuolensaft oder Vakuolenflüssigkeit verstehe, bedarf keiner näheren Erörterung.

II. Vorläufige Orientirung.

Im Folgenden sollen zunächst die thatsächlichen Beobachtungen mitgeteilt werden, um weiterhin dann vergleichende Betrachtungen und Folgerungen für die Stoffaufnahme zu bringen. Zur Orientirung dürfte es jedoch vortheilhaft sein, einige Bemerkungen vorzuschicken.

Es ist keineswegs immer leicht zu entscheiden, ob ein Farbstoff in die lebende Zelle eintritt. Um nämlich schädliche und tödtliche Wirkungen zu verhindern, muss die Lösung der Anilinfarben sehr gewöhnlich so verdünnt gewählt werden, dass sie in sehr dünner Schicht nicht mehr farbig erscheint und demgemäß ein Eindringen in die Zelle nicht zu erkennen ist, außer wenn eine Speicherung des Farbstoffes eintritt. Diese kommt aber nach bekannten Gesetzen nur da zu Stande, wo der in die Zelle eingedrungene Farbstoff in irgend einer Weise in Verbindung übergeführt und dadurch das Fortschreiten der diosmotischen Bewegung in der Zelle verursacht wird. Bei solcher Abhängigkeit von den in der Zelle gebotenen Stoffen speichern keineswegs alle Pflanzen und in denselben Pflanzen nicht alle Zellen, ohne dass dieserhalb die sich nicht merklich färbenden Zellen zur Aufnahme des Farbstoffs unfähig sein müssen.

Glücklicherweise speichern ziemlich viele Pflanzen in allen oder doch in gewissen Zellen Anilinfarben¹⁾. Auf diesem Wege wurde u. a. das Eindringen festgestellt für Methylenblau, Methylviolett, Bismarckbraun, Fuchsin, Cyanin, Safranin, Methylgrün, Methylorange, Tropäolin 000, Rosolsäure. Dagegen war eine Aufnahme nicht nachzuweisen für Nigrosin, Anilinblau, Eosin, Phenolphthalein, Kongoroth, sowie für die als Marineblau und Methylblau im Handel vorkommenden Anilinfarben.

Von den genannten Farbstoffen wurde am ausgedehntesten Methylenblau benutzt, nächst dem Methylviolett. Mit den anderen Farbstoffen wurde eine beschränktere Zahl von Versuchen angestellt.

Abgesehen von der nur ganz beiläufig untersuchten Rosolsäure wurde für alle aufnehmbaren Farbstoffe Speicherung im Zellsaft beobachtet. Auch vermögen sämtliche den Protoplasmakörper mehr oder weniger zu tingieren, mit Ausnahme von Methylenblau, welches das lebende Protoplasma durchwandert, ohne es merklich zu färben.

1) Wie es im Handel üblich, verstehe ich unter Anilinfarben nicht nur Derivate des Anilins, sondern z. B. auch des Phenols und Farbstoffe der Naphtholgruppe. Vgl. auch GIERKE, Färberei zu mikroskopischen Zwecken, 1885, p. 146.

Im Zellsaft entsteht bei Speicherung entweder eine farbige Lösung oder es findet eine amorphe oder krystallinische Ausscheidung statt oder es werden präformirte Körper gefärbt. Übrigens können einzelne oder alle diese Modalitäten sich in einer Zelle vereinigt finden. Zur vorläufigen Orientirung wolle man die auf Methylenblau sich beziehenden Figuren 1—10 betrachten.

Von präformirten Körpern werden die Gerbsäurebläschen gefärbt, welche hier zur Vakuolenflüssigkeit gestellt sein mögen (vgl. Fig. 9 u. 10 und die Erklärung dazu). Gerbsäure veranlasst überhaupt allgemein Speicherung, abgesehen von Rosolsäure, welche wir hier außer Acht lassen. Dabei entsteht entweder ein feinkörniger Niederschlag, wie mit Methylenblau (vgl. die Fig. 1, 3, 4, 6), Methylviolett, Cyanin, Bismarckbraun, oder die Ausscheidung fehlt oder ist wenigstens unvollkommen, so dass farbiger Zellsaft mit oder ohne feinkörnige Ausscheidung sich in der lebendigen Zelle ansammelt, wie z. B. bei Fuchsin, Tropäolin 000.

Außer Gerbsäure gibt es aber auch noch andere, bisher noch nicht erkannte Stoffe, welche einen oder einige der genannten Farbstoffe in der Zelle zur Anhäufung bringen. So entspricht z. B. die farbige Lösung in Fig. 5, 8 und 9, sowie die krystallinische Ausscheidung in Fig. 7 und 10 einer bisher noch nicht näher erkannten Farbstoffverbindung.

Bei Färbung des Plasmas wurde in der lebenden Zelle nie eine sichere Tingirung des Zellkernes oder zweifelloser Chromatophoren beobachtet. Im übrigen Protoplasmakörper tritt, so weit die Beobachtungen ein Urtheil gestatten, keine gleichmäßige Färbung ein, vielmehr häufen distinkte Partikel allein oder doch vorwiegend den Farbstoff in sich auf; die auf Färbung mit Methylviolett bezüglichen Figuren 11, 11, 15 mögen zur vorläufigen Orientirung dienen.

Der lebendige Protoplasmakörper verhält sich also ganz anders, als das todte Protoplasma, in welchem bekanntlich der Zellkern besonders ausgiebig Farbstoffe zu speichern pflegt. Eine Färbung des Zellkerns z. B. durch Methylenblau oder Methylviolett tritt auch sogleich mit der Tödtung als ein Symptom der Schädigung des Organismus ein. Übrigens wurde durch Fortdauer der Plasmaströmungen und durch Wachsen konstatiert, dass Farbstoffe im Zellsaft und auch im Protoplasma ohne Schädigung gespeichert werden können.

III. Methodisches.

Die Anilinfarben, für welche eine Aufspeicherung bekannt ist, sind sämmtlich mehr oder weniger giftig. Um eine Schädigung der Pflanzen zu vermeiden, muss deshalb die Lösung sehr verdünnt genommen oder der Aufenthalt in der Lösung beschränkt werden. Die zu wählende Konzentration ist nach der Eigenschaft des Farbstoffs und der Pflanze, sowie nach dem im Versuch ins Auge gefassten Ziele zu regeln. Allgemein wird, wenn cuticularisirte und überhaupt schwieriger permeable Zellwände zu durch-

dringen sind, eine etwas höhere Konzentration zu wählen sein, als bei Zellwänden, welche den Farbstoff leicht bis zum Protoplasma gelangen lassen. Übrigens ist der Protoplasmakörper in spezifischer und gegenüber verschiedenen Farbstoffen in ungleicher Weise empfindlich.

Bei Verwendung von Pflanzen, deren Zellwände leichteres Eindringen gestatteten, enthielt die Lösung gewöhnlich nicht mehr als 0,004 % des Farbstoffs, sehr häufig war aber die Lösung noch verdünnter und Lösungen, welche 0,0004 % Farbstoff (also 1 Theil in 4 Million Flüssigkeit) enthielten, kamen nicht selten zur Anwendung. Das verhältnismäßig wenig giftige Methylenblau schädigt doch den Protoplasmakörper, sofern es leicht Zutritt findet, bei längerer Einwirkung schon in 0,004 % Lösung, ja tödtet z. B. *Spirogyra communis* in solcher Konzentration nach einigen Stunden. Unter gleichen Umständen ist aber z. B. Methylviolett in hohem Grade giftig und schädigt selbst bei einem Gehalt von 1 Theil in 4 Million Wasser die meisten Pflanzen nach kürzerer oder längerer Zeit.

Die absolute Menge des von einer kleinen Pflanze aufgenommenen Farbstoffs ist natürlich gering und so werden bei einer Verdünnung von 1 : 400 000 bis 400 000 zumeist 50 ccm Flüssigkeit die genügende Menge Farbstoff bieten können. Kamen Lösungen in Verwendung, welche 1 Theil Farbstoff in 4 Million Theilen Wasser enthielten, so habe ich meist $\frac{1}{2}$ Liter Flüssigkeit, bei einem Gehalt von 1 Theil in 40 Millionen Theilen Wasser gewöhnlich $1\frac{1}{2}$ —2 Liter Flüssigkeit den Pflanzen geboten. Bei so hoher Verdünnung wurden die Lösungen öfters umgerührt, um zu vermeiden, dass sich als Folge der Aufnahmehätigkeit einerseits und der langsamen Diffusionsbewegung der Farbstoffe im Wasser andererseits eine noch farbstoffärmere Wasserschicht um die Pflanze bildete. Übrigens befanden sich die Versuchsgefäße fast durchweg auf Tischen, welche von den Bewegungen im Zimmer in Mitschwingungen versetzt wurden, und so war auch schon hierdurch, sowie durch die Temperaturschwankungen für eine gewisse Mischungsthätigkeit in der Flüssigkeit gesorgt.

Der leichter permeablen Zellwandungen halber wurden mit Vorliebe Algen und die submersen Wurzeln auf Wasser schwimmender Pflanzen benutzt, die auch den Vortheil bieten, an das Wasserleben akkommodirt zu sein. Namentlich dienten mir als Versuchsobjekte *Spirogyra communis* Ktz.¹⁾ und *Zygnema cruciatum* Ag.²⁾, sowie die kleineren Wurzeln von *Trianea bogotensis* Karst., *Lemna minor* L. und *Azolla caroliniana* W. Von *Trianea* wurden öfters abgeschnittene Wurzeln, übrigens mit gleichem Erfolge wie die intakte Pflanze, benutzt. Zur Beobachtung dienten namentlich die Zellen der Epidermis und der Haube, bei *Trianea* und *Azolla* auch die Wurzelhaare, während die

1) Eine dünnfadige Form.

2) Da ich Zygosporien nicht sah, muss ich dahin gestellt lassen, ob diese Bestimmung richtig ist. Uebrigens stimmt die Pflanze mit den Abbildungen bei KÜTZING überein.

Binnenzellen des Wurzelkörpers, zu welchen der Farbstoff schon etwas schwieriger Zutritt findet, nicht immer in Betracht gezogen wurden.

Durch cuticularisirte Häute der normal in der Luft befindlichen Organe dringt der Farbstoff nur langsam ein, und um in kürzerer Zeit eine merkliche Speicherung zu erzielen, wurden z. B. für Methylenblau häufig 0,0033 % Lösungen benutzt. Zur Beschleunigung der Aufnahme injicirte ich zuweilen solche Pflanzentheile unter der Luftpumpe zuvor mit Wasser oder brachte Schnitte aus den bezüglichen Organen in die Lösung. Immerhin wird man mit solchen Pflanzen in Lösungen verschiedener Konzentration und unter verschiedenen Bedingungen operiren müssen, um sich zu überzeugen, ob ein negatives Resultat bedingt ist durch die Unfähigkeit der Zellen, den Farbstoff zu speichern, oder durch den zu sehr gehemmtten Zutritt des Farbstoffs zum Protoplasmakörper. Dieserhalb und weil zudem diese Pflanzentheile durch verlängerten Aufenthalt im Wasser geschädigt werden, sind sie weniger geeignet zu den Versuchen, welche auf die Aufhellung der Bedingungen für Stoffaufnahme abzielen.

Auch bei den in Wasser lebenden Pflanzentheilen färben sich nicht selten, insbesondere in etwas konzentrirterer Lösung, die Zellwände einzelner oder aller Zellen. Falls eine solche farbige Umhüllung die Beurtheilung einer Farbenspeicherung im Innern erschweren sollte, wird man gut thun, die Farbe aus der Zellwand durch Salpeterlösung zu verdrängen. Eine solche Entfärbung durch Einlegen in eine 0,3 bis 4 procentige Lösung von Kalisalpeter gelingt, insbesondere bei Methylenblau, zumeist ziemlich leicht. Der Farblösung sogleich Salpeter beizumischen, wodurch die Wandfärbung gewöhnlich verhindert wird, ist nicht zu empfehlen, da, abgesehen von der möglichen Schädigung durch Salpeter, dieser Körper einen gewissen Einfluss auf die Speicherung des Farbstoffs ausübt. Dagegen kann nach Einwirkung der Farbstofflösung Plasmolyse von Vortheil sein, um z. B. eine schwache Färbung des Zellsaftes durch Konzentrirung dieses deutlicher hervortreten zu machen.

Im übrigen ist über die allgemeine Ausführung der Versuche wenig zu sagen, in denen es sich ja nur um Aufenthalt der Versuchspflanzen in der farbigen Lösung handelt. So weit nichts anderes bemerkt, befanden sich in meinen Versuchen die Objekte bei einer Temperatur von 15—24° C. in hellem diffusen Licht. Im Dunklen fielen die Resultate übereinstimmend aus, doch ist nicht ausgeschlossen, dass in konkreten Fällen die Lichtentziehung indirekt einen gewissen Einfluss auf die Speicherung hat.

Da die im Handel vorkommenden Anilinfarben kaum ganz gleichwerthig sind und zum Theil eine geringe Menge fremder Stoffe beigemengt enthalten, hatte es keinen Zweck, auf die Konzentration der Lösung eine besondere Sorgfalt zu verwenden, um so weniger, als es in meinen Versuchen auf selbst erheblichere Differenzen des Farbstoffgehaltes einer Lösung gar nicht ankam. Ich habe deshalb direkt die lufttrockene Substanz abge-

wogen und aus dieser, wo es anging, eine 0,4 procentige Lösung hergestellt, aus welcher dann durch Verdünnung die gewünschten Konzentrationen gewonnen wurden. Zur Verdünnung verwandte ich meist ein klares Regenwasser, da bekanntlich destillirtes Wasser für sich den Pflanzen schädlich werden kann.

Die von mir benutzten Methylenblaupräparate verdanke ich der Badischen Anilin- und Sodafabrik¹⁾, die übrigen Farbstoffe waren von Dr. SCHUCHHARDT in Görlitz oder Dr. GRÜBLER in Leipzig bezogen. Bei Nachuntersuchungen bitte ich zu bedenken, dass Differenzen durch die Qualität des Farbstoffes verursacht werden können. Denn abgesehen davon, dass die Farbstoffe z. Th. veränderliche Gemische verschiedener Verbindungen sind und nicht selten fremde Beimengungen enthalten, kann sich auch mit der Zeit die Qualität der in Handel gebrachten Waare ändern. So war früher das käufliche Fuchsin das essigsäure Salz, während man jetzt das salzsaure Salz erhält. Auch können fremde Beimengungen giftig sein oder ohne Schädigung einen Einfluss auf die Speicherung ausüben.

IV. Versuche mit Methylenblau.

1) Allgemeine Resultate.

Am ausführlichsten habe ich die Aufnahme von Methylenblau untersucht und ich beginne deshalb mit der Zusammenfassung der mit der Handelswaare dieses Farbstoffs, einer Chlorzinkverbindung des salzsauren Salzes, erhaltenen Resultate. Diese fallen übrigens der Hauptsache nach gleich aus, wenn die freie Base oder das citronensaure Salz verwandt wird.

In allen Fällen beobachtete ich keine Färbung des eigentlichen Protoplasmaorganismus, also auch nicht des Zellkerns und der Chromatophoren (Chlorophyllkörner, Farbstoffkörper, Leucoplasten). Die innerhalb des Protoplasmas beobachtete Farbenspeicherung betraf Gerbsäurebläschen, welche indess nicht zum lebendigen Leib des Organismus zu zählen sind, wie auch nicht die zum Theil farbenspeichernden Fremdkörper, z. B. im Plasmodium der Myxomyceten.

Wie die speziellen Mittheilungen (Kap. IV, 2) zeigen, ließ dagegen die Mehrzahl der untersuchten Pflanzen eine Speicherung im Zellsaft erkennen, welche sich entweder auf alle, oder auf zahlreiche, oder auch nur auf wenige Zellen der Pflanze erstreckte. Den früheren Bemerkungen entsprechend wird Färbung präformirter Massen, farbige Ausscheidung im Zellsaft oder farbige Lösung erreicht und zwar können diese Modalitäten separirt oder vereint in einer Zelle eintreten. (Vergl. die auf Methylenblau sich beziehenden Fig. 4—10.)

1) Ein aus anderer Quelle stammendes Methylenblau enthielt erhebliche Mengen von Kartoffelstärke, wirkte übrigens sonst gleich.

Von geformten Körpern färben sich, so weit bekannt, alle Gerbsäurebläschen, die, wenn sie auch dem Protoplasma eingebettet sein sollten, doch nur Vakuolen mit besondern Inhaltsstoffen entsprechen, unter denen Gerbsäure in mehr oder minder reichlichem Maße vertreten ist. Solche Färbung habe ich u. a. in *Zygnema cruciatum*, *Mesocarpus*, in Wurzel und Stengel von *Salix*, in den primären Bewegungsgelenken der Blätter von *Mimosa pudica*, in den Samenlappen der Keimpflanzen von *Polygonum fagopyrum* und für die Gerbsäure enthaltenden Massen in gewissen Zellen der Brutknospen von *Marchantia polymorpha* beobachtet. Oeltropfen, die gerbsäurefreien Oelkörper der Lebermoose, Stärkekörner, Krystalle, Krystalloide in *Pilobolus*, sowie im Zellkern der Drüsenhaare von *Pinguicula vulgaris* blieben ungefärbt, und überhaupt ist mir Färbung gerbsäurefreier präformirter Massen nur an manchen der von *Myxomyceten* verschlungenen Fremdkörper aufgestoßen¹⁾, die z. B. Farbe speichern, wenn sie todt plasmatische Massen sind. Uebrigens kann eine weitere Untersuchung sehr wohl noch andere sich färbende geformte Körper in lebendigen Zellen kennen lernen, und z. B. für *Bryum caespiticium* ist es mir zweifelhaft, ob gewisse Farbstoff aufnehmende Bläschen Gerbstoff führen.

Die Ausscheidungen, welche Methylenblau mit im Zellsaft gelösten Stoffen erzeugt, bestehen z. Th. aus kleinen Körnchen, die sich, mögen sie zahlreich oder spärlich sein, gerne zu netzförmigen oder baumförmigen Massen gruppieren (wie z. B. die Figuren 1 u. 3 für *Azolla*, Fig. 4 für *Spirogyra communis*, Fig. 6 für die Wurzelepidermis von *Trianea* zeigen). In andern Fällen sind die Ausscheidungen mehr oder weniger deutlich krystallinisch. Besonders schöne farbige Ausscheidungen dieser Art habe ich in *Zygnema* beobachtet, wo z. Th. die Krystalle erhebliche Größe erreichten (Fig. 10), übrigens die Gestalt von Säulen, Nadeln, Büscheln oder Drusen besaßen. Auch manche Zellen in der Wurzel von *Lemna* (Fig. 7), sowie die Blätter von *Elodea canadensis* bieten schöne Beispiele krystallinischer Ausscheidungen.

Eine zum Theil sehr tief blaue Färbung des Zellsaftes wird u. a. in den nicht zu alten Wurzelhaaren von *Trianea bogotensis* (Fig. 5), in vielen Zellen der Wurzel von *Lemna minor* (Fig. 8) und in manchen Zellen von *Zygnema cruciatum* (Fig. 9) erreicht. In solchem Falle pflegen auch die im Protoplasma separirten Vakuolen durch ihre Färbung ihre speichernde Eigenschaft anzuzeigen (vgl. Fig. 5), doch konnte im Protoplasma der Wurzelhaare von *Trianea*, nach Entfernung aus der Farbstofflösung, das Auftreten kleiner farbloser Vakuolen im Zellsaft beobachtet werden.

Neben dem farbigen Zellsaft treten häufig, doch nicht immer, sogleich in kleiner oder auch größerer Menge Ausscheidungen auf, die zum Theil in ihrer Gestaltung den erwähnten feinkörnigen Ausscheidungen entsprechen

1) Ebenso in Amöben und Infusorien.

(Fig. 8 für *Lemna*, Fig. 5 für *Trianea*), zum Theil krystallinisch sind. Letzteres findet sich in manchen Wurzeln von *Lemna* und ist für die Blattzellen von *Elodea canadensis* Regel.

Der farbige Zellsaft erhält sich entweder auf die Dauer (so in Blattzellen von *Elodea*, z. Th. in Wurzelzellen von *Lemna* und in Zellen von *Zygnema*), oder es tritt nach einigen Stunden oder einigen Tagen unter partieller oder totaler Entfärbung der Vakuolenflüssigkeit eine Ausscheidung ein, die, so weit ich bis dahin gesehen, mehr oder weniger deutlich krystallinisch ausfällt.

Eine solche Entfärbung wurde zuweilen in *Zygnema* beobachtet, bei der also eine der Fig. 9 entsprechende Zelle in einen der Fig. 10 entsprechenden Zustand übergehen kann. Auch bei *Lemna minor* kommt solche nachträgliche Entfärbung in Wurzelzellen vor, doch nur vereinzelt, während die Wurzelhaare von *Trianea bogotensis* sich gewöhnlich entfärben, indem sie eine meist nur undeutlich krystallinische Masse ausscheiden. Diese Ausscheidung trat zuweilen schon nach einigen Stunden, meist nach einem Tage ein, selten, wenigstens in den von mir beobachteten Objekten, unterblieb sie ganz.

Aus diesen Beobachtungen geht zugleich hervor, dass in derselben Zelle verschiedene Formen der Speicherung sich finden können, wie denn z. B. in *Zygnema* (Fig. 9 u. 10) farbiger Zellsaft oder farbige Krystalle neben gefärbten Gerbsäurebläschen vorhanden sind und feinkörnige oder auch krystallinische Ausscheidungen oder beide zugleich, werden neben gefärbter Vakuolenflüssigkeit, in manchen Wurzelzellen von *Lemna* und in Blattzellen von *Elodea* gefunden. Weiter ist aber aus den mitgetheilten Beobachtungen zu entnehmen, dass offenbar besondere Verhältnisse in der Zelle darüber entscheiden, ob die in dem Vakuolensaft entstandene Methylenblauverbindung in Lösung bleibt, oder nach einiger Zeit oder sogleich ausgeschieden wird. So versteht man auch, warum in demselben Faden von *Zygnema* oder in derselben Wurzel von *Lemna minor* die einen Zellen Ausscheidungen erhalten, ohne jemals farbigen Zellsaft besessen zu haben, der in andern Zellen dauernd bleibt oder nach einiger Zeit unter Ausscheidung von Krystälchen sich entfärbt.

Die Speicherung im Zellsaft zeigen in klarster Weise die Fälle, in denen jener zu einer farbigen Lösung wird, doch liegen auch nachweislich die sogleich oder weiterhin entstehenden feinkörnigen und krystallinischen Ausscheidungen im Zellsaft. Wie andere geformte Körper legen sich diese Ausscheidungen gewöhnlich dem Protoplasmakörper an und werden, sofern eine genügend kräftige Plasmaströmung thätig ist, dann oft mitgeschleppt. Solches ist z. B. sehr schön in den Wurzelhaaren von *Trianea* zu verfolgen, in denen kleinere Massen der feinkörnigen Ausscheidungen nicht selten in ähnlicher Weise in den Protoplasmakörper aufgenommen und

wieder ausgestoßen werden, wie feste Partikel im Plasmodium von *Myxomyceten*¹⁾.

Bei zu wenig mächtigem Plasmakörper unterbleibt solche Aufnahme. Dabei findet man häufig einseitige Lagerung der zusammenhängenden feinkörnigen Ausscheidungen oder auch der Krystalle. Es hängt dies zum Theil damit zusammen, dass diese Massen sich in dem spezifisch leichteren Zellsaft nach dem Gesetze der Schwere senken. Wenigstens konnte ich solche Senkung durch Umwendung des Fadens in *Spirogyra setiformis* nachweisen, in welcher die Plasmaströmungen die größeren Zusammenhäufungen feinkörniger Ausscheidung nicht zu heben vermochten, während kleine farbige Massen, dem Protoplasma adhärierend, mitgeführt wurden.

Mit solcher der Schwere folgenden Senkung werden diese dem Zellsaft zugehörigen Ausscheidungen immer dem Protoplasma angedrückt, und da sie thatsächlich an diesem haften, werden sie nicht überall so in der Zelle vertheilt sein, wie ihr Senkungsstreben allein es anstrebt. Es geht dieses aus dem Fortführen durch Plasmaströme unmittelbar hervor und es ist auch einleuchtend, dass die Gestaltung der Vakuolenflüssigkeit, resp. des Protoplastkörpers mitbestimmend für die Lagerung dieser Ausscheidungen werden kann. Das dürfte in den Haaren von *Trianea* der Fall sein, in welchen die mit der Zeit aus dem Zellsaft sich ausscheidenden farbigen Massen in der Basis des Haares gehäuft zu sein pflegen, also da, wo dieses mit dem größten Durchmesser den größten Raum zu bieten vermag.

In mancher der Pflanzen, in welchen das eindringende Methylenblau einen Niederschlag mit einem im Zellsaft gelösten Körper erzeugt, lässt sich durch Ammoncarbonat eine feinkörnige Fällung im Zellsaft hervorrufen, welche nun als geformte Masse Methylenblau speichert. Diese Ausscheidung ist eine Verbindung von Gerbsäure und einem Eiweißstoff und wird da durch Ammoncarbonat niedergeschlagen, wo jene beiden Stoffe gelöst im Zellsaft sich finden, wie z. B. in *Spirogyra*, in der Wurzel von *Azolla*, *Euphorbia peplus*, *Ricinus communis*. Speziell in *Azolla* erzielt Plasmolyse, also Konzentration des Zellsaftes, die Ausscheidung dieses gerbsäuren Proteinstoffes in kugeligen Massen, welche sich wie Gerbsäurebläschen ausnehmen und wie diese sich mit Methylenblau färben. In Kap. V und VI werden diese Ausscheidungen besprochen werden, welche hier herbeigezogen wurden, um darzuthun, wie gewisse künstlich in der lebendigen Zelle erzeugte Niederschläge sich wie präformirte Massen färben.

Mag nun die Färbung geformte Körper treffen oder mag ein farbiger Niederschlag oder eine farbige Lösung durch Methylenblau erzielt werden, in jedem Falle hängt die Anhäufung davon ab, dass in dem Zellsaft eine Verbindung entsteht, welche nicht diosmirt und dieserhalb Methylenblau so lange diosmotisch in die Zelle geschafft wird, als in der Entstehung

1) Näheres im Kap. XIX.

dieser Verbindung und der damit verknüpften Störung des Gleichgewichts eine Ursache für Eindringen von Methylenblau aus der umgebenden verdünnten Lösung gegeben ist. Die Entstehung einer solchen Verbindung wird direkt vor Augen geführt, wenn eine farbige Ausscheidung im Zellsaft eintritt. Speziell die feinkörnigen blauen Niederschläge, wie sie in *Spirogyra*, *Azolla*, in der Wurzelepidermis von *Trianea*, in der Wurzel von *Euphorbia peplus* u. a. erzeugt werden, bestehen aus gerbsaurem Methylenblau, welches Proteinstoffe mit niederzureißen scheint. Dieser Verbindung mit Gerbsäure halber wird Methylenblau in allen den zahlreichen Fällen gespeichert, in welchen in einer Zelle Gerbsäure sich findet, und demgemäß färben sich auch die Gerbsäureblasen, sowie die durch Ammoncarbonat entstandenen Niederschläge aus gerbsauren Eiweißstoffen.

Der einzige die Speicherung des Methylenblau bedingende Körper ist indess die Gerbsäure nicht, denn diese fehlt gänzlich oder ist doch nur in sehr geringer Menge vorhanden, z. B. in den Blättern von *Elodea canadensis*, in *Saprolegnia ferax*, *Oedogonium spec.* und in der Wurzel von *Lemna minor*. Auch sind die im Zellsaft bei *Zygnema*, *Elodea*, *Lemna*, in den Wurzelhaaren von *Trianea* sich einstellenden krystallinischen Ausscheidungen nicht gerbsaures Methylenblau, das in und außerhalb der Zellen nur feinkörnige Niederschläge bildet. Durch diese farbigen Krystalle wird aber die Entstehung einer gerbsäurefreien Verbindung sicher dargethan, denn jene entstehen in der Zelle in derselben Gestalt, mag man die Handelswaare des Methylenblaus (das salzsaure Salz), die freie Base oder das citronensaure Salz bieten, die sämmtlich gar nicht zu krystallisiren vermögen oder doch nur unbestimmt krystallinische feinkörnige Massen bilden. Da, wie früher mitgetheilt, diese Krystalle aus dem zuvor farbigen Zellsaft sich nach kürzerer oder längerer Zeit absetzen können, ist somit die Existenz einer im Zellsaft formirten Methylenblauverbindung auch für die Fälle dargethan, wo der Farbstoff gelöst bleibt. Hiernach kann um so weniger zweifelhaft sein, dass in jedem farbigen Zellsaft eine in der Zelle gebildete, in Lösung verbliebene Methylenblauverbindung vorhanden ist, als ohne Entstehung einer solchen ein Grund für die so weit gehende Anhäufung des von außen in diosmirender Form gebotenen Methylenblaus nicht vorhanden wäre.

Lässt sich aus diesen Erwägungen die zunächst wichtigste Schlussfolgerung ziehen, dass die Speicherung durch im Zellsaft vorhandene Stoffe bedingt wird, welche mit dem eindringenden Methylenblau eine Verbindung eingehen, so vermag ich doch, abgesehen von Gerbsäure, zur Zeit nicht die Stoffe zu präcisiren, welche solche nicht diosmirende Methylenblauverbindungen im Zellsaft formiren. Mit einiger Sicherheit lässt sich nur sagen, dass, abgesehen von Gerbsäure, nicht immer derselbe Körper die Speicherung von Methylenblau verursacht. Die hierfür sprechenden Beobachtungen, sowie der Nachweis, dass Gerbsäure die Ursache der Speicherung in vielen Fällen ist, sollen später mitgetheilt werden. Bei dieser

Gelegenheit wird auch darzulegen sein, dass verschiedene Umstände darüber entscheiden können, ob die im Zellsaft formirte Methylenblauverbindung in Lösung bleibt oder sich ausscheidet, und dass selbst das an sich kaum lösliche gerbsaure Methylenblau zuweilen in erheblicher Menge in der lebenden Zelle in Lösung bleiben dürfte.

Bei Besprechung der Qualität der im Zellsaft entstehenden Verbindungen wird sich auch zeigen, dass in derselben Zelle gleichzeitig zwei, vielleicht auch einige verschiedene Körper zur Speicherung von Methylenblau Veranlassung geben können. Übrigens befindet sich z. B. in *Zygnema* neben den Gerbsäurebläschen im Zellsaft ein anderer Körper, der mit Methylenblau eine gelöst bleibende oder eine in Krystallen sich ausscheidende Verbindung eingeht (Fig. 9 u. 10). Ebenso dürfte z. B. die geringe Menge feinkörniger Ausscheidung, welche sich sogleich in den Wurzelhaaren von *Trianea* (vergl. Fig. 5) und in manchen Zellen der Wurzel von *Lemna minor* (Fig. 8) bildet, aus gerbsaurem Methylenblau bestehen, während in der farbigen Lösung eine andere Methylenblauverbindung vorhanden ist. Wird also jedenfalls durch die Speicherung die Existenz und die besondere Vertheilung eines oder einiger Körper in der lebendigen Zelle gekennzeichnet, so ist doch die besondere Qualität dieses oder dieser Stoffe immer erst näher zu präzisiren und es ist also auch Methylenblau kein spezifisches Reagens auf Gerbsäure, welche freilich, wo sie vorhanden, immer eine Speicherung des Methylenblaus verursacht und in gegebenen Fällen die einzige Ursache der Speicherung sein kann.

Bei der Abhängigkeit von bestimmten Stoffen findet eine Speicherung keineswegs in allen Pflanzen oder in allen Zellen einer Pflanze statt und benachbarte Zellen können sich natürlich ganz verschieden verhalten. In der That wird solches durch die Erfahrung bestätigt, lässt sich aber auch mit Sicherheit voraussagen, da bekanntlich Gerbsäure, also ein die Speicherung veranlassender Körper, sich nicht in allen Pflanzen findet und, wo sie vorhanden, entweder in allen oder in vielen oder auch nur in einzelnen Zellen vorkommt. Wie das spezifisch lokalisirte Vorkommen dieses und anderer Stoffe eine Besonderheit und Arbeitstheilung der im Gewebe vereinigten Zellen anzeigt, wird solche Besonderheit auch durch das ungleiche Verhalten der Zellen gegen Methylenblau markirt. Auf diese Weise kennzeichnet sich der Zellsaft durch Anhäufung des Farbstoffs in vielen Fällen auch dann als stofflich verschieden, wenn Gestaltung der Zelle und unsere bisherige Kenntniss der Inhaltsstoffe eine Differenz nicht anzeigt. In allen Fällen werden also Methylenblau und andere Farbstoffe werthvolle Reagentien sein, mit deren Hülfe, ohne Schädigung, Aufschlüsse über Vorkommen und Vertheilung gewisser Körper in der Zelle auch da noch zu erhalten sind, wo bisher ein Unterschied gegenüber anderen Zellen nicht zu konstatiren war. Mit soleher vielseitig ausnutzbaren Methode lässt sich unter richtiger Erwägung nach vielen Richtungen hin eine Kontrolle des jeweiligen Zu-

standes des Zellsaftes und der Veränderungen dieses im Laufe der Entwicklung erreichen. Wie die Speicherung dieser Farbstoffe zur Entscheidung einzelner Fragen nutzbar gemacht werden kann, wird noch im Laufe dieser Abhandlung gezeigt werden, in der auch noch verschiedene Fingerzeige für Verwendung dieser Reagentien in andern Fällen gegeben werden.

Eine Speicherung in allen Zellen fand sich u. a. in *Spirogyra communis* (Fig. 4) und *setiformis* (bedingt durch Gerbsäure), ebenso in *Zyguema cruciatum*, in welcher neben den Gerbsäurebläschen ein im Zellsaft gelöster anderer Stoff die Ursache der durch Fig. 9 u. 10 dargestellten Anhäufung ist. Anders verhielt sich ein *Oedogonium*, in welchem die Mehrzahl der Zellen farblos blieb, während andere Zellen, mit oder ohne etwas körnige Ausscheidung, alle Abstufungen von sehr tief blau gefärbtem Zellsaft bis zur Farblosigkeit boten. Diese farblosen Zellen waren in ihrer Gestalt den nicht speichernden gleich und traten in einem Faden reichlicher und dann zuweilen zu mehreren aneinandergereiht auf, während sie in einem andern Faden ganz fehlten oder vereinzelt eingesprengt sich fanden. Ganz vereinzelt traf ich auch Zellen mit tief blauem Zellsaft in einigen Kulturen von *Penicillium*, während andere Kulturen keine speichernden Zellen besaßen. Hyphen ohne jede Speicherung traten hingegen nur spärlich in *Saprolegnia ferax* auf, bei welcher einzelne Zellen in reichstem Maße, andere in nur geringem Grade Methylenblau anhäufte.

Ob es höhere Pflanzen gibt, die in allen Organen zu jeder Zeit Methylenblau in den lebendigen Zellen speichern, lasse ich dahingestellt. In einzelnen Organen scheint dieses zuzutreffen, z. B. in der Wurzel von *Lemna minor*, *Azolla caroliniana*, vielleicht auch in denen von *Helianthus annuus* und, abgesehen von den Wurzelhaaren, in der Wurzel von *Trianea bogotensis*. In den drei zuletzt genannten Pflanzen ist Gerbsäure die Ursache der Speicherung, welche in der Wurzel von *Lemna*, neben einem andern Stoffe, nur in Spuren mitwirkt. Nicht auf Gerbsäure beruht die ansehnliche Farbstoffanhäufung in den Blattzellen von *Elodea canadensis*.

Als Beispiel für Speicherung in einer nur beschränkten Zahl von Zellen mag hier die Wurzel von *Cucurbita Pepo* genannt sein, welche eine Färbung zunächst dem Urmeristem und dann, durch eine farblose Zone getrennt, in bestimmten Zellen der noch wachsenden und ausgewachsenen Regionen aufzuweisen hat. Auch die Wurzeln von *Allium cepa*, *Triticum vulgare*, das hypokotyle Glied von *Polygonum fagopyrum*, Stämmchen und Blätter von *Bryum caespiticium* färben sich nur in einzelnen Zellen, worüber das Nähere im speziellen Theil nachzusehen ist. Auch mag hier des Prothalliums von *Ceratopteris* gedacht werden, als eines Beispiels dafür, dass nur minimale Speicherung, hier in Form von Körnchen, auftritt, die in manchen Zellen bis auf unsichere Spuren herabgedrückt ist.

Wie in derselben Zelle neben Gerbstoff ein anderer speichernder Körper sich öfters findet — es wurde dessen vorhin gedacht —, so kann auch

eine mehr oder weniger vollständige Vertheilung der verschiedenen speichernden Stoffe auf benachbarte Zellen vorliegen. Ein schönes Beispiel dieser Art ist die Wurzel von *Euphorbia peplus*, in deren Epidermis in longitudinaler Richtung Zellreihen mit sehr reichlicher körniger Ausscheidung (etwa der Figur 4 von *Spirogyra* entsprechend) mit andern alterniren, in welchen (ähnlich wie in der auf *Lemma* bezüglichen Fig. 8) mehr oder weniger tief gefärbter Saft mit oder ohne Körnchen enthalten ist. In diesen Zellreihen fehlt bis auf verschwindende Spuren die Gerbsäure, welche in den alternirenden Reihen die Ursache für die Entstehung des farbigen Niederschlags abgibt. Im Binnengewebe der Wurzel finden sich gleichfalls die beiden Kategorien von Zellen in einer nicht näher ermittelten Vertheilung zwischen sich nicht färbenden Zellen vor.

Etwas ähnliches findet sich in der Keimwurzel von *Ricinus communis*, in welcher reichlich körnigen blauen Niederschlag bildende und Gerbsäure führende Zellen mit andern alterniren, in welchen oft gar keine oder doch eine zumeist nur schwache blaue Lösung im Zellsaft bei Einwirkung von Methylenblau sich einstellt.

Diese Beispiele mögen genügen, um ein allgemeines Bild von der mannigfach verschiedenen Vertheilung Methylenblau speichernder Zellen zu geben. Solche finden sich aber, wie bemerkt, nicht in allen Pflanzen und wurden u. a., wenigstens in dem von mir untersuchten Materiale, vermisst in *Funaria hygrometrica* (Stengel und Blatt), *Lophocolea bidentata*, *Plagiochila asplenioides*, *Nitella spec.*, *Vaucheria terrestris* (?), *Cladophora spec.*, einigen Arten von *Oedogonium*, in *Volvox globator*, *Pilobolus crystallinus*.

Es ist nicht unmöglich, dass diese mit negativem Resultat geprüften Pflanzen in anderen Fällen eine gewisse Speicherung von Methylenblau ergeben. Denn die Entwicklung des speichernden Stoffes kann mit Entwicklungsstadien zusammenhängen und wahrscheinlich können bei der Ausbildung jenes gelegentlich individuelle Eigenthümlichkeiten oder äußere Einwirkungen in irgend einer Weise eine Rolle mitspielen. Solches ist, soweit es sich um Gerbstoff als Ursache dreht, da der Fall, wo dieser Körper in seinem Entstehen oder Vergehen in irgend einer Weise von den genannten Umständen abhängt. Thatsächlich ist Bildung oder Verbrauch des Gerbstoffs mit Entwicklung oder unter anderen Einflüssen in verschiedenen Fällen mit mehr oder weniger Sicherheit bekannt, doch unterlasse ich hier ein näheres Eingehen auf dieses Thema und begnüge mich damit, auf einige Erfahrungen hinzuweisen, die ganz beiläufig gewonnen wurden.

In der Wurzel von *Cucurbita pepo* gehen Speicherung von Methylenblau und Verbreitung des Gerbstoffs wesentlich Hand in Hand, und da, wie schon erwähnt wurde, nicht fern vom Scheitelpunkt mit der Anhäufung des Methylenblaus auch der Gerbstoff fehlt, handelt es sich offenbar um einen Konsum dieses in diesem Theil der wachsenden Region der Wurzel. Nicht sicher hängt die Speicherung vom Gerbstoff ab, welche bei *Bryum caespiti-*

cium in einer beschränkten Zone des Stengels sich findet, in welcher die Internodien und Blätter schon ansehnlich, doch noch im Wachstum begriffen sind. Dieser speichernde Stoff verschwindet aber mit etwas weiterer Entwicklung und erst in älteren Blättern und Stengeltheilen tritt wieder Speicherung ein, von der es zunächst fraglich sein muss, ob sie von demselben Körper abhängt, wie in dem jugendlichen Gewebe.

Dass außer Gerbstoff auch andere speichernde Stoffe schwinden können, lehren die Wurzelhaare von *Trianea*, welche die zunächst so ausgiebige Fähigkeit der Speicherung von Methylenblau, nachdem sie ausgewachsen sind, mehr und mehr verlieren. Bei *Oedogonium* hinwiederum spielen offenbar andere Verhältnisse als die Entwicklungsstadien eine Rolle mit, denn in demselben Faden können Zellen ungleichen Alters den Farbstoff anhäufen, während andere ganz gleichartig aussehende Fäden zuweilen gar keine Speicherung zeigen.

Auf irgend eine Änderung in dem Zellsaft der Wurzel von *Lemna minor* ist daraus zu schließen, dass, wenigstens in meinen Kulturen, jüngere Wurzeln und häufig auch die jüngeren Partien längerer Wurzeln tief farbigen Zellsaft ausbildeten, während sich in den etwas älteren Zonen der Wurzel krystallinische Ausscheidungen mit partieller oder gänzlicher Entfärbung des Zellsaftes einzustellen pflegten. Aus diesen Beobachtungen allein lässt sich aber auf Ungleichwerthigkeit des speichernden Stoffes nicht schließen, da verschiedene Umstände einen Einfluß auf Eintreten oder Ausbleiben der Ausscheidung haben können. In jedem Falle sind diese und ähnliche Vorgänge ein Indicium für irgend eine Veränderung in der Zelle, und so können auch solche Beobachtungen als Hebel benutzt werden, um über die Konstitution des Zellsaftes in lebendigen Zellen, resp. um über Änderungen in diesen Aufschluss zu erhalten.

Eine Aufnahme von Methylenblau in lebendige Zellen ist naturgemäß in unseren Versuchen nur zu konstatiren, insofern eine Anhäufung eintritt, denn wenn ohne solche sich der Farbstoff nach diosmotischen Gesetzen, aus den allein zulässigen verdünnten Lösungen, in den Zellsaft bewegt, so ist doch bei dem endlichen Gleichgewichtszustand die Lösung zu verdünnt, um bei so geringer Schichtendicke eine sichere Färbung zu erzeugen. Doch darf man mit Sicherheit annehmen, dass Methylenblau allgemein durch lebendige Protoplasmakörper seinen Weg bis zum Zellsaft findet. Denn überall, wo in einer Zelle mit der Gerbsäure ein nachweislich speichernder Körper vorhanden ist, lässt sich auch die Aufnahme unseres Farbstoffes beobachten. Auch lehrt z. B. ein Faden von *Oedogonium*, der in seinen Zellen alle Abstufungen vom tiefen Blau bis zur nicht mehr sicher nachzuweisenden Färbung bietet, dass nur die Existenz und die Menge des speichernden Stoffes das Sichtbarwerden der Aufnahme bedingt. Die Unabhängigkeit dieses Erfolgs von einer mangelhaften Aufnahmefähigkeit einzelner Zellen, an welche man ja denken kann, wird dadurch gekennzeichnet, dass die Färbung

nicht gesteigert wird, wenn ein Faden dieser Alge in eine 0,004 % Lösung gebracht wird, nachdem er während einiger Tage in einer 0.0004 % Lösung von Methylenblau Gelegenheit hatte, seine Zellen mit diesem Farbstoff zu sättigen.

Ein weiteres Argument für allgemeine Aufnahmefähigkeit liefert *Chondrioderma difforme*, dessen Plasmodien eine Aufnahme gewöhnlich nur dann erkennen lassen, wenn sie fremde Partikel enthalten, welche durch Methylenblau tingirt werden. Bei Fehlen solcher ist demgemäß das Eindringen von Methylenblau sogleich festzustellen, nachdem man das Plasmodium zuvor kleine Fragmente von koagulirtem gerbsaurem Albumin hat aufnehmen lassen.

Dieses Eindringen des Methylenblaus in den Protoplasmakörper, sowie die Speicherung im Zellsaft geht ohne Schädigung des Lebens vor sich, ist aber, wie später mitzutheilende Beobachtungen lehren, an die Lebensfähigkeit des Protoplasmas nicht gekettet. (Kap. XVIII, 3).

Durch die Speicherung aus relativ sehr verdünnten Lösungen kommt eine sehr ansehnliche Anhäufung zu Stande. Es lehrt dieses sogleich die Massenhaftigkeit des blauen Niederschlags z. B. in *Azolla*, *Spirogyra*, sowie die tiefe Färbung des Zellsaftes in *Zygnema*, in der Wurzel von *Lemma minor* und in den Wurzelhaaren von *Trianea*. Bei tiefer Färbung der beiden zuletzt genannten Objekte entspricht das Colorit ungefähr einer 4procentigen Lösung der Handelswaare Methylenblau. Denn in eine Lösung dieser Konzentration mußten die gefärbten Objekte eingelegt werden, damit sie weder heller noch dunkler in dem umgebenden Medium erschienen. Und wenn nun auch die Intensität der Färbung durch verschiedene Methylenblauverbindungen verschieden sein mag, so wird doch durch obige Bestimmung immerhin die sehr hohe Anhäufung des Farbstoffs in den speichernden Zellen demonstriert.

Trotz solcher ansehnlichen Anhäufung wird selbst da, wo das Methylenblau im Zellsaft gelöst bleibt, der Organismus nicht geschädigt. Es ist dieses dadurch bedingt, dass, wie ja auch die Anhäufung und der Verbleib in der Zelle lehrt, die entstandene lösliche Methylenblauverbindungen ihren Weg in das Protoplasma nicht zu finden vermag, der Anprall des gelösten Materials an die Vakuolenhaut aber eine Schädigung nicht zur Folge hat. Auch durch solchen Anprall wäre schon eine Schädigung denkbar, doch werden sicher viele Körper, so gut wie das Methylenblau und die anderen gespeicherten Farbstoffe, nur insofern den Protoplasmakörper nachtheilig beeinflussen, als sie den Weg ins Innere desselben finden.

Innerhalb des Protoplasmakörpers wirken schon geringe Massen von Methylenblau tödtlich, wie die Vernichtung des Lebens durch ziemlich verdünnte Lösung lehrt. Bei genügend verdünnter Lösung ist solche Schädigung dadurch vermieden, dass immer nur minimale Mengen des Farbstoffs sich im Protoplasma befinden, auch dann, wenn die Pflanze nach

Sättigung mit Methylenblau in der gebotenen Lösung verbleibt. Unter diesen Umständen muss sich nothwendig endlich ein Gleichgewichtszustand herstellen, wobei es indess fraglich bleibt, ob die den Protoplasmakörper durchtränkende Flüssigkeit, bei den besonderen Imbibitionsverhältnissen des Organismus, den Farbstoff in demselben Verhältnis wie die gebotene Außenflüssigkeit enthält.

Aus gleichen Gründen wie im Zellsaft ist ohne Speicherung auch im Protoplasma die Existenz einer so geringen Menge von Methylenblau nicht nachzuweisen. Mit beginnender Speicherung im Protoplasma war aber in allen bisher beobachteten Fällen eine Schädigung des Organismus eingetreten, und ohne solche lässt sich durch Darbietung konzentrierter Lösungen eine größere Menge von Methylenblau nicht in den Protoplasmakörper einführen. In der Hoffnung, vielleicht vorübergehend ohne Schädigung eine sichtbare Menge von Methylenblau in das Protoplasma einführen zu können, wurden Wurzeln von *Trianea bogotensis* kurze Zeit in eine 0,4 procentige Lösung des Farbstoffs getaucht, ohne dass nach dem Behandeln mit salpeterhaltigem Wasser eine Färbung des strömenden Plasmas wahrgenommen werden konnte. Aus verschiedenen Gründen ist indess dieses Experiment nicht entscheidend.

Nach der Speicherung verbleibt der Farbstoff, auch der gelöste, bei Aufenthalt der Pflanzen in Regenwasser entweder dauernd in der Zelle, wie bei *Trianea*, *Azolla*, *Lemna*, *Elodea*, oder geht langsam, unter allmählicher Entfärbung des Objectes, in die umgebende, relativ sehr ansehnliche Wassermenge über, wie bei *Spirogyra communis*, *setiformis* und bei *Zygnema cruciatum*. Indess vermag auch in den zuerst genannten Pflanzen z. B. sehr verdünnte Citronensäure eine langsame Exosmose und allmähliche Entfärbung einzuleiten und es ist darnach verständlich, wie ohne solche Außenwirkung ein genügend saurer Zellsaft den Austritt des Farbstoffs veranlasst. Da diese Verhältnisse erst weiterhin behandelt werden, mag hier dieser Hinweis und die Bemerkung genügen, dass der Farbstoff faktisch exosmirt und nicht etwa durch dessen Verarbeitung in der lebendigen Zelle Entfärbung erzielt wird. Eine Verarbeitung dieses normal nicht gebotenen und für die Pflanze bedeutungslosen Stoffes ist bis dahin in keinem Falle bekannt geworden und es ist auch sehr fraglich, ob Methylenblau in einem nicht gärthätigen Protoplasmakörper zu einer Leukofarbe reduziert werden kann. (Kap. XVI.)

Dass Aufnahme und Ansammlung des Methylenblaus ohne Schädigung vor sich gehen, wird durch die Protoplasmaströmungen, wo solche vorhanden, sowie durch das Wachsen dokumentirt, welches bei Darbietung stark verdünnter Lösungen fortdauert, desgleichen wenn nach der Speicherung die Pflanzen in Regenwasser gebracht werden. Sowohl der Protoplasmaströmungen als der Speicherung halber ist die Wurzel von *Trianea bogotensis* ein sehr schönes Demonstrationsobject, doch lässt sich auch in

Spirogyra die Fortdauer der Strömung während und nach der Aufnahme von Methylenblau gut verfolgen. Außer an den genannten Pflanzen wurde Wachstum während und nach der Speicherung u. a. für die Wurzeln von *Lemma minor* und *Azolla caroliniana*, sowie für *Zygnema cruciatum* festgestellt. Mit Verweisung auf die näheren Belege in den speziellen Mittheilungen sei hier noch bemerkt, dass beim Wachsen der im Zellsaft gespeicherte Farbstoff auf die Tochterzellen sich vertheilt und natürlich mit dem Wachsen im Wasser ein allmähliches Abblässen des sich vergrößernden Pflanzentheils erzielt wird. Ohne die Sache näher verfolgt zu haben, vermag ich doch soviel zu sagen, dass bei Vorhandensein körniger Ausscheidung zuweilen diese auf nur eine der Tochterzellen übergeht.

Aus der Thatsache des Wachsens mit Verbleib des farbigen Niederschlags oder des gelösten Farbstoffs im Zellsaft sowohl der wachsenden als der nicht wachsenden Zellen ist zu ersehen, dass durch die Beschlagnahme des Gerbstoffs oder anderer speichernder Stoffe durch Methylenblau die Pflanze nicht leidet. Zugleich wird, wenigstens in den wachsenden Zellen, fortdauernd Gerbstoff, resp. ein anderer speichernder Körper erzeugt. Dieses folgt unmittelbar aus der Fähigkeit der gewachsenen Zellen, sich bei genügender Darbietung von Methylenblau tiefer zu färben. Näher habe ich die nach dieser Seite hin sich anschließenden Fragen nicht verfolgt.

Sehr beachtenswerth ist die sehr schnelle Aufnahme von Methylenblau, vermöge welcher, sofern die Zellwände den Farbstoff leicht zum Protoplasma gelangen lassen, schon in kurzer Zeit aus sehr verdünnten Lösungen verhältnismäßig sehr große Mengen von Methylenblau in einer Zelle gespeichert werden können. Einige Beispiele mögen dieses illustriren.

Bei gewöhnlicher Temperatur in eine 0,0008 % Lösung von Methylenblau gebracht, waren schon nach 4 Minuten in den Wurzelhaaren von *Trianea bogotensis* einige blaue Körnchen und eine schwache Färbung des Zellsaftes zu bemerken. Nach 20—30 Minuten hatte sich eine ungefähr der Figur 5 entsprechende Färbung eingestellt, und nach 4 — 4½ Stunden hatte der Zellsaft ein noch tieferes Kolorit angenommen und anscheinend das Maximum der Färbung erreicht. In der Epidermis und in den oberflächlichen Zellen der Haube der Wurzel war gleichfalls nach 4 Minuten, wenigstens in einem Theil der Zellen, der Beginn der farbigen Ausscheidung zu bemerken, welche nach 30 Minuten in allen Zellen ziemlich reichlich zu finden war.

Eher noch schneller beginnt und schreitet fort die Ausscheidung in der dünnfädigen und mit zarter Zellwand versehenen *Spirogyra communis* (vgl. Fig. 4). In der robusten und mit dicker Wandung ausgestatteten *Spirogyra setiformis* geht die Aufnahme etwas langsamer vor sich, so dass merkliche Ausscheidung erst eingetreten war, als diese Alge während 15

Minuten, zugleich mit *Spirogyra communis*, in 0,0008% Methylenblaulösung verweilt hatte. In solcher Lösung war erst nach $\frac{3}{4}$ — 1 Stunde beginnende Färbung der Gerbsäurebläschen in *Zygnema cruciatum* (vgl. Fig. 9 u. 10) zu konstatiren, welche von einer ziemlich dicken Zellwand und ansehnlicher Schleimschicht umhüllt ist.

Unter den genannten Bedingungen ließen die Wurzeln von *Azolla caroliniana* und *Lemna minor* ungefähr so schnell wie *Trianea*, vielleicht ein wenig langsamer, die Aufnahme von Methylenblau erkennen.

In 500 ccm einer 0,0001% Lösung von Methylenblau war nach 1—2 Stunden schon eine recht ansehnliche Speicherung in den Wurzeln von *Trianea*, *Azolla*, *Lemna minor*, sowie in *Spirogyra communis* eingetreten.

In 2 Liter einer 0,00004% Lösung von Methylenblau (1 : 40 Millionen) hatten die Wurzeln von *Trianea*, *Azolla*, *Lemna minor* nach 24 Stunden eine ziemliche Aufnahme bewerkstelligt und nach 48 Stunden war die Speicherung, wenn auch nicht ganz, so doch beinahe bis zum Maximum fortgeschritten. Nach gleicher Zeit war eine geringere, doch immerhin ansehnliche Aufnahme in den Wurzeln derselben Pflanzen zu bemerken, welche in 3 Liter einer Flüssigkeit verweilt hatten, die in 20 Millionen Theilen Wasser einen Theil Methylenblau enthielt.

Selbst bei einer Verdünnung von 1 : 400 Millionen (0,000001%) (5 Liter) konnte nach 48 Stunden eine, wenn auch geringe Aufnahme von Methylenblau in der Wurzel von *Trianea* konstatirt werden. Diese Flüssigkeit erschien in einem Cylinder von 20 cm Durchmesser nicht mehr gefärbt, während bei gleicher Dicke der Schicht schwaches bläuliches Kolorit bei einer Verdünnung von 1 : 20 Millionen zu erkennen war.

Um eine Vorstellung von der ansehnlichen Anhäufung des Farbstoffs zu bekommen, sei daran erinnert, dass in einer Zelle der Wurzel von *Lemna minor*, in welcher fast der ganze Binnenraum von dem Vakuolensaft eingenommen wird, sich in diesem bei maximaler Speicherung ungefähr eine 1procentige Lösung von Methylenblau befindet. Diese Farbstofflösung ist also 10 000mal konzentrierter als eine 0,0001% Außenflüssigkeit. Bei der geringen Größe der Zelle ist freilich die absolute Menge des in einer Zelle gesammelten Farbstoffs gering. Nach einigen Messungen hat eine mittelgroße Zelle der Wurzelepidermis von *Lemna minor* ungefähr ein Volumen von 0,000045 cmm. Nehmen wir an, dass dieser ganze Rauminhalt speichernder Zellsaft ist, so wird der in diesem bei maximaler Anhäufung gesammelte Farbstoff in 4, 5 cmm einer 0,00001% Lösung von Methylenblau geboten. Ein aus solchen Zellen gebauter Cylinder von 4 mm Durchmesser und 10 mm Länge¹⁾, also von 7,85 cmm Rauminhalt, fände aber erst in 785 ccm den nöthigen Farbstoff, wenn alle Zellen in gleicher Weise diesen anhäufen und eine 0,00001% Methylenblaulösung geboten wird.

1) Die Wurzel von *Lemna* ist bekanntlich viel dünner.

Aus diesen Betrachtungen erhellt, wie es insbesondere bei verdünnten Lösungen nöthig ist, eine große Menge Flüssigkeit und wenig Pflanzentheile zu verwenden, sowie für mechanische Mischung in der Flüssigkeit zu sorgen. Denn die Farbstoffe verbreiten sich durch Diffusion nur sehr langsam in Wasser, wie man leicht sieht, wenn man etwas Methylenblau an den Boden eines mit Wasser gefüllten Cylinders bringt und diesen zitterfrei und bei konstanter Temperatur stehen lässt, oder indem man die Diffusion des Farbstoffs in Kieselgallerte verfolgt. Bei Vermeidung aller Wasserströmung würde bald eine sehr farbstoffarme Schicht um eine aufnehmende Wurzel entstehen und damit das Fortschreiten der Aufnahme sehr beeinträchtigt. Diese Hemmung muss namentlich bei Aufspeicherung einer absolut größeren Menge von Farbstoff ansehnlich werden, denn wenn z. B., wie im obigen Beispiel, aus mindestens 700 ccm Flüssigkeit der Farbstoff bezogen werden muss, haben die in ferneren Flüssigkeitsschichten gelösten Moleküle einen im Verhältnis zur langsamen Diffusion sehr großen Weg zurückzulegen, den sie günstigstenfalls erst in Wochen durchwandern würden.

Ist aber für eine große Menge Lösung und für dauernde mechanische Mischung gesorgt, so kann die Konzentration der an die speichernde Zelle anstoßenden Lösung als konstant angesehen werden. Wird dann im Zellsaft das eindringende Methylenblau sogleich in eine nicht diosmirende gelöste oder unlösliche Verbindung übergeführt, so bewegt sich der Farbstoff zu jenem nach den Gesetzen der Diffusion und der Diosmose mit der Schnelligkeit, welche dem Konzentrationsunterschiede zwischen Lösung und Wasser entspricht. Je steiler der Abfall der Konzentration, eine je dünnere Schicht Zellhaut und Protoplasma bilden, um so schneller werden dem Zellsaft durch Diffusion und Diosmose weitere Farbstoffmoleküle zugeführt. Die ausgiebigste Aufnahme in den Zellsaft ist natürlich dann möglich, wenn um die den Zellsaft umgrenzende Hautschicht des Protoplasmas dieselbe Konzentration besteht, wie in der dargebotenen Farbstofflösung. Wird ein solcher Zustand wohl auch nie absolut, so wird er doch um so annähernder erreicht, je mehr mechanische Bewegungen für schnellere Fortschaffung der gelösten Farbstoffmoleküle bis zur Vakuolenwand sorgen. Im Protoplasma und im Zellsaft sind aber wohl immer Mischungsbewegungen in ausgiebiger Weise thätig und Wasserströmungen fehlen während des Lebens wohl nie in der Zellwand.

Bei der Komplizirtheit und der Veränderlichkeit der hier in Betracht kommenden Umstände lässt sich nicht sicher für jeden Fall sagen, in wie weit Hemmung und Begünstigung eine Rolle bei der Speicherung des Farbstoffs mitspielen. Soviel ist indess aus allen Versuchen leicht zu ersehen, dass eine dicke Zellwand die Anhäufung verzögert. Diese Hemmung wird sogar sehr weitgehend, wenn die Wandungen durch Kutikula-

risirung u. s. w. eine geringere Durchlässigkeit für Wasser und gelöste Stoffe erreicht haben, wie bald mitzutheilende Erfahrungen lehren.

Voraussichtlich wird die Hautschicht des Protoplasmas ebenfalls durch spezifisch verschiedene Permeabilität einen Einfluss auf die Schnelligkeit der Aufnahme in das Protoplasma und der Ausgabe in den Zellsaft haben. Auch die Schnelligkeit, mit welcher der Farbstoff von der äußeren Hautschicht zur Plasmenschicht der Vakuolenflüssigkeit gelangt, ist wohl nicht gleich in verschiedenen Fällen. Während der Lebensthätigkeit sind gewiss immer mischende Bewegungen im Protoplasma thätig und bei dünnem Wandbelag ist eine schnelle Durchwanderung des Plasmas selbst dann wahrscheinlich, wenn in diesem sichtbare Strömungsbewegungen nicht vorhanden sind. Wo solche geboten, ist damit eine schnelle Fortführung der eintretenden Farbstoffmoleküle gesichert, und bei mächtigerem Wandplasma insbesondere dürfte die Protoplasmaströmung vielleicht von hervorragendem Einfluss auf die Schnelligkeit der Aufnahme sein. Es spricht dafür, dass der Zellsaft in den Wurzelhaaren von *Trianea* sich langsamer färbte, als die hier sehr ansehnliche Protoplasmaströmung durch Chloroform sistirt war.

Die möglichst günstigen Verhältnisse für schnelle Aufnahme sind natürlich (*ceteris paribus*) in einer isolirten Zelle geboten. In dieser wird wieder die Konzentration um so schneller fortschreiten, je geringer der Rauminhalt im Verhältnis zur Oberfläche, je kleiner also im Allgemeinen die Zelle ist. Deshalb speichern auch Algenfäden zumeist verhältnismäßig schnell.

Die Epidermiszellen einer Wurzel befinden sich schon in ungünstigeren Verhältnissen, da nur ein Theil ihrer Oberfläche in direkte Berührung mit der umgebenden Farbstofflösung kommt. Noch ungünstiger sind die Binnenzellen situirt, da, um in diese zu gelangen, die Farbstoffmoleküle durch die umgebenden Zellen oder innerhalb der Zellwandungen sich zu bewegen haben. Wird dabei der Farbstoff im Zellsaft der Epidermiszellen zurückgehalten, so kann er zunächst nur innerhalb der Zellwandungen oder durch Vermittlung des nicht speichernden Protoplasmas zu den angrenzenden Binnenzellen gelangen. Thatsächlich kann bei Darbietung stark verdünnter Lösungen (1:4 Million oder 10 Millionen) schon eine ansehnliche Menge Methylenblau in der Epidermis der Wurzel von *Lemna*, *Azolla* oder *Trianea* gesammelt sein, ehe in Binnenzellen eine Speicherung bemerklich wird. Diese beginnt indess der Regel nach lange bevor die Epidermiszellen mit Methylenblau gesättigt sind. Damit ist erwiesen, dass der Farbstoff auf dem gekennzeichneten Wege, voraussichtlich wesentlich in den Zellwandungen, nach innen vordringt, denn in den genannten Pflanzen wird der in dem Zellsaft gespeicherte Farbstoff dauernd zurückgehalten. Findet solche Bindung nicht statt, so wird unter sonst gleichen Ver-

hältnissen der Farbstoff von Anfang an reichlicher zu speichernden Binnenzellen gelangen.

Die soeben dargelegten Verhältnisse sind leicht in den Wurzeln von *Lemna*, *Azolla* und *Trianea* zu beobachten. In der Wurzel der letztgenannten Pflanze fand sich z. B. nach einem 10stündigen Aufenthalt in einer 0,0001 % Lösung von Methylenblau eine ziemliche Menge von feinkörnigem Niederschlag in der Epidermis, während in manchen der unterliegenden Zellen nur Spuren von Ausscheidungen zu bemerken waren. Ein ähnliches Verhältnis war während $\frac{3}{4}$ Stunden in einer 0,0008 % Lösung erreicht, in der ebenfalls die Epidermiszellen in der Versuchszeit nicht das Maximum der Speicherung erreicht hatten.

Auch die Deckung durch überliegende Organe kann das Vordringen des Farbstoffs in die umkleideten Organe sehr erheblich hemmen. So trifft man die peripherischen Zellen der Wurzelhaube bei *Trianea*, *Lemna*, *Azolla* schön gefärbt, während die Epidermiszellen, so weit sie unter dem Schutz der Haube liegen, wenig oder gar keinen Farbstoff gespeichert haben. Dieses war u. a. auch in dem soeben mitgetheilten Versuche mit *Trianea* der Fall, nachdem die Wurzeln 10 Stunden in einer 0,0001 % und $\frac{3}{4}$ Stunden in einer 0,0008 % Lösung verweilt hatten. Sehr auffällig fand ich solchen Einfluss auch bei *Elodea canadensis*. In einem Falle waren z. B. nach 24stündigem Aufenthalt der Sprosse in einer 0,0008 % Lösung von Methylenblau die freien oberen Theile jüngerer Blätter tingirt, während die in den noch ungestreckten Internodien aufeinanderliegenden basalen Theile der Blätter zumeist noch farblosen Zellsaft besaßen, faktisch aber die Fähigkeit hatten, Methylenblau reichlich anzusammeln.

Trotz der kapillaren, mit der Farblösung kommunizirenden Wasserschichten, welche zwischen den sich deckenden Blattbasen, resp. zwischen Haube und Epidermis vorhanden waren, gelangte also doch der Farbstoff nur sehr langsam zu den gedeckten Partien. Die Ursache hierfür liegt in der nur sehr langsamen Diffusionsbewegung des Farbstoffs, auf die unter ruhigen Verhältnissen das Eindringen des Farbstoffs in die Kapillarspalten im wesentlichen angewiesen war, denn quer durch die Zellen der Wurzelhaube konnte der Farbstoff zunächst nur langsam vordringen, weil diese Zellen ihn aufspeicherten.

Die ansehnliche Hemmung der Farbstoffaufnahme durch die Cuticula der an Luft befindlichen Organe wird durch alle Versuche gekennzeichnet und mehrfache Beispiele sind aus der Mittheilung der Experimente zu entnehmen. Während in einer 0,0008 % Lösung von Methylenblau die mehrfach erwähnten Wurzeln sehr schnell speichern und in 24 Stunden der Farbstoff meist bis in die innersten Zellen vordringt, findet man bei gleichlangem Aufenthalt von Stengeltheilen, Blattstielen, Haaren an der Luft lebender Organe in der Farbstofflösung gewöhnlich nur in einigen oder auch in gar keinen Zellen Farbstoff gespeichert. Ich habe dabei natürlich

nur Pflanzen im Auge, deren Zellen die Fähigkeit haben, Methylenblau anzusammeln, und in denen in konzentrierter Lösung dieses Farbstoffs die Speicherung konstatiert wurde.

Erfahrungen dieser Art wurden u. a. gemacht mit dem hypokotylen Glied von *Euphorbia peplus*, *Ricinus communis*, *Vicia faba*, mit den Haaren an Stengeln und Blättern von *Primula chinensis*, *Bryonia dioica*, *Momordica elaterium*, mit den Gelenken von *Mimosa pudica* und mit jungen Zweigen von *Salix spec.*

In den Haaren von *Momordica*, welche freilich eine ansehnlich entwickelte Cuticula besitzen, hatten nach 48stündigem Aufenthalt in einer 0,0008 % Lösung von Methylenblau nur einzelne Zellen farbigen Saft und selbst nach 48 Stunden waren noch nicht alle speicherungsfähigen Zellen merklich gefärbt. Wesentlich weiter war die Speicherung nach 48 Stunden in einer 0,005 % Lösung fortgeschritten, in welcher noch sämtliche Zellen strömendes Protoplasma besaßen. Nach einem im speziellen Theile mitgetheilten Versuche drang sogar bei *Salix spec.* in einer 0,0008 % Lösung während 28 Tagen durch die intakte Cuticula des Stengels keine merkliche Menge von Methylenblau ein. Selbst der normal im Wasser eingetauchte Blattstiel von *Trianea* ließ in einer 0,0008 % Lösung während 4 Tage keine merklichen Mengen von Methylenblau eindringen, das in dieser Zeit, jedoch in beschränkterer Weise als in die Wurzeln, seinen Weg in die Zellen der auf dem Wasser schwimmenden Unterseite des Blattes gefunden hatte. Auch der Stengel von *Elodea canadensis* nahm verhältnismäßig nur langsam Methylenblau auf.

Es ist also selbst an den nicht in hervorragender Weise der Stoffaufnahme angepassten submersen Organen der Wasserpflanzen die Aufnahmefähigkeit für Methylenblau in einer Weise eingeschränkt, die nicht allein von der Dicke der Zellwandungen abhängen kann, sondern durch die Qualität dieser Zellwände bedingt sein muss, denn Wurzeln nehmen auch dann relativ schnell Methylenblau auf, wenn die Zellwand der Epidermis der Wandungsstärke der Oberhaut des Blattstiels von *Trianea* nicht nachsteht. Weit ansehnlicher freilich wird diese Hemmung in oberirdischen Organen, in denen durch Imprägniren mit wachs- und harzartigen Stoffen die cuticularisirten Außenwände der Epidermis bekanntlich für Wasser und gelöste Stoffe schwieriger durchlässig geworden sind¹⁾. Dieses gibt sich auch darin kund, dass es verhältnismäßig längerer Zeit bedarf, ehe Salpeter oder gar Zucker Plasmolyse der intakten Organe hervorruft, und selbst Ammoniak und Ammonkarbonat, welche so leicht ihren Weg in lebende Zellen finden, dringen doch nur langsam durch solche Wandungen²⁾. Ob durch diese Methylenblau besonders schwierig

1) Vgl. meine Physiologie I. p. 50.

2) PFEFFER, Osmot. Unters. 1877. p. 144, 199.

seinen Weg findet, wie es scheint, muss ich dahin gestellt lassen. Jedenfalls ist auch zu bedenken, dass dieser Farbstoff öfters in der Cuticula gespeichert und so sein Vordringen verlangsamt wird.

Schleimschichten, wie sie z. B. an *Zygnema* sich finden, werden, selbst bei einiger Mächtigkeit, weil sie leichtere Diösmose gestatten, die Aufnahme des Farbstoffs wohl in etwas, jedoch in mäßigerem Grade beeinflussen. Es geht dies aus meinem Versuche mit *Trianea* hervor, nach welchem ein Überzug aus 6 prozentiger Gelatine die Aufnahme von Methylenblau jedenfalls nur wenig verlangsamt¹⁾.

Bei schwieriger Durchlässigkeit der Cuticula vermögen natürlich die so geschützten Pflanzen sich in konzentrierteren Lösungen des Farbstoffs am Leben zu erhalten, denn in jedem Augenblick prallt nur eine geringere Menge von Farbstoffmolekülen an den Protoplasmakörper. So ertrugen z. B. die Haare von *Momordica elaterium* eine 0,04 % Lösung und selbst eine 0,4 % Lösung von Methylenblau während 12 bis 24 Stunden, während unter solchen Umständen bei Vorhandensein einer leicht durchlässigen Zellhaut schnell der Tod des Protoplasmas erfolgt.

Solcher Eigenschaften halber sind die in Luft ragenden, mit Cuticula überzogenen Pflanzentheile im allgemeinen weniger geeignet für das Studium über den Vorgang der Aufnahme der Farbstoffe, während diese mit Vortheil benutzt werden können, um gewisse Eigenschaften der cuticularisirten Zellhäute zu studiren. Zur Prüfung der Aufnahmefähigkeit wird man gewöhnlich gut thun, die cuticularisirten Organe zu zerschneiden und sein Augenmerk auf die der Schnittfläche benachbarten Zellen zu richten. Die Schädigung bei längerem Aufenthalt in Wasser ist aber immer ein Nachtheil, welcher bei Verwendung der normal in Wasser lebenden Organe vermieden wird.

Gelangt Methylenblau bis zum Protoplasmakörper, so lässt sich selbst bei einer Verdünnung von 1 : 400 Millionen (0,000004 %) noch eine Speicherung nachweisen, und hiernach ist der Schluss gestattet, dass jedes noch so vereinzelt an den Protoplasmakörper anprallende Methylenblaumolekül aufgenommen werden kann, also dass eine gewisse Schwelle der Konzentration nicht überschritten sein muss, um in dem Protoplasmakörper Aufnahmehätigkeit einzuleiten. Bei allzuweit getriebener Verdünnung wird freilich endlich aus naheliegenden Gründen der Nachweis der Speicherung mehr und mehr erschwert oder unmöglich werden, selbst wenn das eingebrungene Methylenblau unverändert in der Zelle festgehalten wird.

1) Eine haarfreie Wurzel wurde mit der flüssigen Gelatine so überzogen, dass die erstarrte Schicht einen 1—2 mm dicken geschlossenen Mantel bildete. Nach 22-stündigem Aufenthalt in 0,0004 % Methylenblaulösung war in der Epidermis ungefähr ebenso viel blauer Niederschlag als in den nicht mit Gelatine überzogenen, aber in derselben Lösung gehaltenen Pflanzen. In diesen war aber der Farbstoff weiter ins Innere fortgerückt, als in der mit Gelatine umhüllten Wurzel.

Sofern aber eine nachweisliche Exosmose des aufgenommenen Farbstoffs eintritt, wie es für *Zygnema* und *Spirogyra* der Fall ist und wie es durch verdünnte Säuren auch in den andern Pflanzen eingeleitet werden kann, muss natürlich bei irgend einem Grade der Verdünnung die Ausgabe des Farbstoffs aus der Zelle den Eintritt überwiegen und eine Speicherung wird dann unterbleiben. So stellte sich in einem konkreten Falle bei *Spirogyra communis* in einer 0,000005 % Methylenblaulösung nicht in allen Zellen eine merkliche Menge blauen Niederschlags ein, während bei *Zygnema* schon in 0,0004 % Lösung (in welcher *Spirogyra* gut speichert) keine oder nur minimale Färbung in einem Theil der Zellen eintrat. Ebenso muss auch bei Zusatz von Citronensäure die Farbstofflösung sehr verdünnt werden, damit eine Speicherung unterbleibt (Kap. XVIII, 3). Die Ausgabe des Farbstoffs findet also in solchen Fällen sehr langsam statt, so dass sich dabei eine schädigende Menge Methylenblau nie im Protoplasma sammelt.

Bei Vorhandensein solcher diosmotischer Auswanderung tritt der empirischen Erfahrung naturgemäß die sichtbare Speicherung als eine Funktion der Konzentration entgegen, doch findet dieses Resultat in dem Antagonismus von Einnahme und Ausgabe seine naturgemäße Erklärung. Ob in irgend einem Falle die wirkliche Aufnahmehätigkeit erst mit einer gewissen Konzentration eingeleitet wird, muss nach den vorher erwähnten Erfahrungen bezweifelt werden, doch hat man freilich kein Recht, dem Verhalten einzelner Pflanzen sämtliche vegetabilische Organismen unterzuordnen, und die Möglichkeit spezifischer Eigenthümlichkeiten kann man auch in diesem Falle nicht unbedingt verneinen. Ich habe hierbei den Protoplasmakörper allein im Auge und lasse demgemäß die Zellhaut außer Acht, die vermöge ihrer Qualität möglicherweise in manchen Fällen dem Farbstoff erst bei gewisser Konzentration gestattet, bis zum Protoplasma zu gelangen.

Ist auch Allgemeinheit der Aufnahmefähigkeit anzunehmen, so wird doch schwerlich Methylenblau mit gleicher Leichtigkeit in jeden Protoplasmakörper gelangen. Solche muthmaßliche spezifische und individuelle Differenzen lassen sich nicht so leicht nachweisen, da die Qualität der Zellhaut, sowie verschiedene andere Umstände einen nicht leicht zu eliminirenden Einfluss auf die Aufnahme und auf das Sichtbarwerden der Speicherung haben. Aus der erheblich verschiedenen Widerstandsfähigkeit gegen Methylenblau geht übrigens so viel hervor, dass in derselben Pflanze verschiedene Zellen sich different gegenüber Methylenblau verhalten und solche Unterschiede auch zwischen verschiedenen Pflanzen bestehen.

Sehr auffällig ist dieser Unterschied in der Wurzel von *Euphorbia pepus*. In der Epidermis dieser waren z. B. nach 24 stündigem Aufenthalt in einer 0,0008 % Methylenblaulösung sämtliche Längsreihen der feinkörnigen blauen Niederschlag bildenden Zellen todt, während die alternirenden Zellreihen mit farbigem Zellsaft noch lebten. Ja schon nach einem dreistündigen Aufenthalt in solcher Lösung waren einzelne der mit blauem Nieder-

schlag versehenen Zellen geschädigt, die übrigens auch bei Einwirkung von Ammoncarbonat viel leichter zu Grunde gehen als ihre Nachbarzellen. Ein ähnlicher Unterschied besteht in der Wurzel von *Ricinus communis*, in welcher mit den empfindlichen, Gerbsäure führenden und mit Methylenblau blauen Niederschlag bildenden Längsreihen von Zellen in der Epidermis Zellreihen alterniren, in welchen zumeist keine oder geringe Speicherung des Farbstoffs eintritt.

Bei diesen aneinander stoßenden Epidermiszellen kann die ungleiche Resistenz nicht wohl in der Qualität der Zellwand gesucht werden, die sicherlich auch nicht die Ursache abgibt, dass die älteren Wurzelhaare von *Trianea* im allgemeinen leichter durch Methylenblau getötet werden, als die jüngeren Haare. Gänzlich fehlt aber die Zellwand dem Plasmodium von *Chondrioderma difforme*, welches während 21 Stunden in 0,0033 % Methylenblaulösung nur partiell geschädigt wurde und in einer 0,0008 % Lösung während 24 Stunden keinen Schaden nahm, während in solcher Lösung *Spirogyra communis* zum Theil nach 4, zum Theil nach 8 Stunden getötet war.

In wie weit die spezifische Resistenz der Protoplasmakörper oder der Schutz durch Zellwandungen in konkreten Fällen eine Rolle spielt, bedarf jedesmal besonderer Ermittlung, doch dürfte in den mit leicht durchlässiger Haut unkleideten Zellen die ungleiche Widerstandsfähigkeit gegen Methylenblau wesentlich von der spezifischen Qualität des Protoplasmas abhängen.

Eine nähere Ermittlung in dieser Hinsicht lag nicht in meiner Absicht, und ich begnüge mich hier mit Andeutung einiger beiläufig gewonnenen Erfahrungen. Viel resistenter als die schon erwähnte *Spirogyra communis* sind *Spirogyra setiformis* und *Zygnema cruciatum*, welche beide freilich von derberer Wandung, und namentlich *Zygnema* (vgl. Fig. 9 u. 10) mit dicker Schleimschicht umkleidet sind und langsamer als die zuerst genannte Alge Methylenblau speichern. In 0,0008 % Methylenblaulösung lebte *Spirogyra setiformis* meist noch nach 24 Stunden und *Zygnema cruciatum* hielt ohne Schädigung 9 Tage in solcher Lösung aus.

Bei gleicher Konzentration (0,0008 %) werden im Laufe von 24 Stunden die Wurzeln von *Lemna minor*, *Azolla*, *Trianea* meist nicht geschädigt, doch kann gewisse Schädigung eintreten und insbesondere gehen zuweilen die Wurzelhaare von *Azolla* und *Trianea* zum Theil zu Grunde. Individuelle Eigenschaften spielen offenbar eine Rolle mit, wie namentlich bei einem auf 4 Tage ausgedehnten Aufenthalt in einer 0,0008 % Methylenblaulösung hervortrat. In einem Falle war die Mehrzahl der Wurzeln in dieser Zeit zu Grunde gegangen, in einem andern Falle dagegen am Leben geblieben; dabei machte sich aber der Einfluss des Methylenblau durch eine Sistierung des Wachstums der Wurzeln bemerklich, welches nach Übertragung der Versuchspflanzen in Wasser wieder begann. In einer schwächeren Lösung

von Methylenblau (0.0004 %) wuchsen die Wurzeln von *Lemna minor*, *Azolla*, *Trianea* freudig weiter. Ob dabei das Wachsthum ein wenig gehemmt war, habe ich nicht festzustellen versucht. Eine starke Beeinträchtigung des Wachsthums bewirkt in dem in mancher Hinsicht sehr resistenten *Penicillium glaucum*¹⁾ eine 0,0005 % Methylenblaulösung. In solcher mit Nährstoffen versetzten Farbstofflösung keimten die Sporen dieses Pilzes im Laufe von 4 Tagen nur spärlich unter Entwicklung kurzer Mycelfäden, während auf der farbstofffreien Nährlösung in derselben Zeit eine üppige Pilzdecke entstanden war.

Auffallend schädlich wirkt Methylenblau auf Wurzel und hypokotyles Glied der Keimpflanzen von *Vicia faba*, doch erweisen sich die Zellen der Wurzelhaube und einzelne Zellen des Binnengewebes merklich resistenter als die Mehrzahl der lebendigen Zellen. Nach den im speziellen Theil mitgetheilten Beobachtungen wird in dieser Pflanze der Protoplasma-körper offenbar durch eindringendes Methylenblau leicht geschädigt und damit zur Speicherung dieses Farbstoffs veranlasst, der, in dieser Weise festgehalten, in den Gerbsäure enthaltenden Zellsaft oft dann erst in merklicher Weise gelangt, wenn der Protoplasma-körper bereits getödtet ist.

Wie in *Vicia faba* ist es auch in anderen Pflanzen Regel, dass mit beginnender Schädigung zunächst das Kernkörperchen, dann der übrige Zellkern sich tingirt und weiterhin Chromatophoren und der übrige Protoplasma-leib mehr oder weniger Methylenblau speichern. Mit dem ersten Beginn der Färbung des Kernkörperchens, oder schon ehe solche bemerklich, fand ich stets die Protoplasmaströmung erloschen (z. B. beobachtet in den Epidermiszellen von *Vicia faba*, in den Haaren von *Momordica elaterium*, *Bryonia dioica*, in Wurzelhaube und Haaren von *Trianea*). Soweit ich beiläufig gesehen, gingen nach bemerklicher Kernfärbung die Zellen zu Grunde, auch wenn sie sogleich in Wasser gebracht wurden, doch habe ich diese Verhältnisse nicht näher verfolgt, um behaupten zu können, dass der Tod unter solchen Umständen immer unvermeidlich ist.

Die Ursache der spezifisch ungleichen Resistenz verschiedener Pflanzen vermag ich nicht zu erklären. So viel lehren aber die empirischen Erfahrungen, dass diese Differenzen nicht mit der Speicherefähigkeit im Zellsaft oder mit dem Vorhandensein eines bestimmten speichernden Stoffes Hand in Hand gehen. Denn in der Wurzel von *Euphorbia peplus* speichern alle Zellen der Epidermis, aber nur die Niederschlag bildenden sind besonders empfindlich. Wie in diesen veranlasst gleichfalls Gerbsäure eine ebenso reichliche Ausscheidung in den Haaren von *Azolla*, die keineswegs leicht durch Methylenblau geschädigt werden. Endlich wurde, ohne Speicherefähigkeit zu besitzen, eine dickwandige *Cladophora* in 0,0008 % Methylenblaulösung leichter geschädigt, als *Spirogyra setiformis* oder gar

1 Vgl. PFEFFER, Physiologie Bd. II. p. 454.

Zygnema cruciatum, welche beide reichlich den Farbstoff anhäufen. Ich will damit nicht behaupten, dass die Speicherung des Farbstoffes und die damit verknüpfte Beschlagnahme gewisser Stoffe im Zellsaft gar keinen Einfluss auf die Lebensfähigkeit der Zellen hat. Auch ist wohl möglich, dass die Existenz irgend welcher Stoffe, welche den Farbstoff leichter binden, in dem Protoplasma eine Rolle in der ungleichen Widerstandsfähigkeit mitspielt. Gerbstoff wenigstens wurde bisher in keinem Falle in der das Protoplasma durchtränkenden Flüssigkeit beobachtet, denn von dieser sind die Gerbsäurebläschen separirt, welche dem Protoplasmakörper eingebettet sein können.

2) Spezielle Beobachtungen.

Um bei dem Entwurf über das allgemeine Verhalten des Methylenblaus eine den Zusammenhang störende Erläuterung der einzelnen Versuche zu vermeiden, werden diese hier getrennt mitgetheilt, und wird damit zugleich das Verhalten der einzelnen Pflanzen näher charakterisirt. Gleichzeitig finden hier einige Beobachtungen eine Besprechung, die erst in ferneren Kapiteln zu Schlussfolgerungen benutzt werden.

Sofern nichts anderes bemerkt, ist immer die Handelswaare benutzt, welche eine Chlorzinkverbindung des salzsauren Salzes vorstellt und nach den Untersuchungen von BERNTSEN¹⁾ folgende empirische Zusammensetzung hat: $C_{16}H_{15}N_3SCl + ZnCl_2$. Nach einer freundlichen Mittheilung der Badischen Anilin- und Sodafabrik ist dem Präparate ein wenig Kochsalz beige-mengt. In dieser farbigen Base, welche als Tetramethylthyonin bezeichnet werden kann, ist, gegenüber anderen Anilinfarben, der Schwefelgehalt eigenthümlich. Doch ist an diesen speziell die Aufnahme nicht gekettet, wie die Erfahrung mit anderen schwefelfreien Anilinfarben lehrt. Da überhaupt die Thatsache der Aufnahme oder Nichtaufnahme, sowie die Speicherung in Pflanzenzellen aus der Strukturformel dieser und anderer Anilinfarben nicht erklärt werden kann, hätte es keine Bedeutung, hier das zu besprechen, was über chemische Konstitution bekannt ist.

Die Giftigkeit der Handelswaare bei genügender Konzentration hängt nicht von dem Gehalt an Chlorzink ab, denn dieses ist in prozentisch geringer Menge in dem Präparate und schädigt nicht in solcher Verdünnung, wie sie in den benutzten Farbstofflösungen geboten wird. Übrigens besitzen das citronensaure Salz und die freie Base ähnliche giftige Eigenschaften.

Trianea bogotensis Karst.

Diese Pflanze, welche sehr leicht auf Wasser zu kultiviren und während des ganzen Jahres zu haben ist, gibt ein sehr empfehlenswerthes Versuchsmaterial ab. Denn die Plasmaströmung, welche in den protoplasmareichen Haaren besonders lebhaft, jedoch auch in den Zellen der Haube,

1) Annal. d. Chemie 1885. Bd. 230. p. 74.

der Epidermis u. s. w. in der Wurzel vorhanden ist, lässt immer leicht entscheiden, ob die Zellen noch lebendig sind. Ferner werden durch das ungleiche Verhalten der Wurzelhaare und des übrigen Wurzelkörpers gleichzeitig zwei verschiedene Formen der Speicherung des Methylenblaus vorgeführt.

Sofern es sich nicht um Ausdehnung der Versuche auf längere Zeit handelt, kann man mit abgetrennten Wurzeln operiren. Nach der Speicherung ist schon mit freien Augen an den Wurzeln die blaue Färbung, insbesondere hervorstechend an den Wurzelhaaren, zu bemerken. Ein Aufenthalt von 1—4 Stunden in einer Lösung von 0,004—0,0005 % genügt, um eine intensive Speicherung zu erzielen, und die so gewonnenen Präparate können ebenso vortheilhaft wie die Staubfädenhaare von *Tradescantia* benutzt werden, um farbigen Zellsaft neben farblosem Protoplasma zu demonstrieren.

Die Färbung der Haare dieser Pflanzen ist schon charakterisirt und wird durch Fig. 5 versinnlicht, welche ein sehr speicherungsfähiges Haar vorstellt, das noch lange nicht mit Methylenblau gesättigt ist. Bei der Einwirkung des Farbstoffs erscheinen zunächst die feinkörnigen Ausscheidungen und gleichzeitig beginnt der Zellsaft sich zu färben. In dem Zellsaft finden sich meist in ziemlicher Menge kleine sternförmige Kryställchen, von denen ich dahin gestellt lasse, ob sie vielleicht Calciumoxalat sind, das noch in andern Krystallen in der Zelle vorkommt. Jedenfalls färben sich diese Kryställchen und Krystalle, sowie überhaupt geformte Körper nicht.

Die früher beschriebene Entfärbung des Zellsaftes unter Ausscheidung mehr oder weniger krystallinischer Massen tritt zuweilen schon nach 4—6 Stunden, in andern Fällen erst nach 2—3 Tagen ein und war bisweilen auch nach dieser Zeit noch nicht realisirt. Weitgehende Unterschiede finden sich namentlich in verschiedenen Wurzeln, doch auch in erheblichem Grade in den Haaren derselben Wurzel. Die besonderen Bedingungen für diese Ausscheidung sind nicht aufgeheilt. Jedenfalls hängt diese nicht von der Sättigung mit Farbstoff ab, welche immerhin einen gewissen Einfluss haben mag, denn die Ausscheidung stellte sich auch an Haaren ein, welche in Wasser kamen, nachdem sie nur einen Theil des Farbstoffs erlangt hatten, welchen sie hätten speichern können. Deshalb kann bei sehr langsamer Zufuhr des Farbstoffs die Ausbildung eines tief farbigen Zellsaftes unterbleiben. Ich beobachtete solches bei Darbietung einer 0,00004 % Lösung in manchen Haaren, die nach Verlauf von 3 und 5 Tagen eine ziemliche Menge krystallinischer Ausscheidung gebildet hatten.

Die Intensität der Farbenspeicherung ist individuell different. Im allgemeinen färben sich am intensivsten die Haare mittlerer Größe¹⁾. Von diesen nimmt gewöhnlich die Färbung nach den ältern Haaren ab, um end-

1) Meine Beobachtungen wurden an Wurzeln angestellt, die höchstens einige Centimeter lang waren.

lich nicht mehr in bemerkbarer Weise einzutreten. Zuweilen erscheinen dann noch einige blaue Körnchen, doch können auch diese in den älteren Haaren ausbleiben.

Die Haaranlagen, welche vor der Hervorwölbung durch ihren plasmatischen Inhalt von den umgebenden Epidermiszellen zu unterscheiden sind, speichern schon in diesem Jugendstadium meist eine ansehnliche Menge von Methylenblau in der Vakuolenflüssigkeit, in welcher auch die farbigen Körnchen sich nicht selten in relativ, aber kaum absolut reicherer Menge einstellen als in den vergrößerten Haaren. Mit der Hervorwölbung der Haare nimmt die Menge des den farbigen Zellsaft bedingenden Stoffes oft relativ und jedenfalls immer absolut zu. Weiterhin verschwindet dieser speichernde Körper mehr und mehr aus den Haaren, deren Vergrößerung das Ablassen und die endliche Farblosigkeit um so weniger erklären kann, als öfters eben ausgewachsene oder fast ausgewachsene Haare noch tief blauen Zellsaft erhalten, der in etwas älteren aber nicht mehr vergrößerten Haaren fehlt.

Die jüngsten und jüngeren Haare enthalten eine kleinere Menge Gerbstoff, welcher indess zur Erklärung der ansehnlichen Speicherung unbedingt unzureichend ist. Dagegen dürfte die zunächst entstehende feinkörnige Ausscheidung aus gerbsaurem Methylenblau bestehen. Auch diese Ausscheidung schwindet, wie der Gerbstoff, mit dem Alter der Haare mehr und mehr.

In den Zellen der Haube, der Epidermis und des Binnengewebes der Wurzel wird durch Methylenblau immer in nur mäßiger Menge feinkörnige Ausscheidung erzielt, wie sie in Fig. 6 für eine Oberhautzelle dargestellt ist. Während des Entstehens sind diese durch Fällung aus dem Zellsaft entstehenden Körnchen öfters isolirt und tanzen in der Vakuolenflüssigkeit, meist aggregiren sie sich indess sehr bald in irgend einer Weise. Im Binnengewebe mancher Wurzeln finden sich einzelne Zellen mit rothem Vakuolensaft, in welchem diese blauen Körnchen ebenfalls durch Methylenblau gefällt werden. Außerdem ist der Zellsaft an sich farblos oder doch so schwach röthlich, dass man erst nach Plasmolyse dieses unbestimmte Kolorit bemerkt. Ganz vereinzelt beobachtete ich in der Epidermis oder in dem Binnengewebe nach Einwirkung des Methylenblaus mäßig oder eben merklich blau gefärbten Zellsaft ohne oder mit körniger Ausscheidung. Vermuthlich war in diesen Fällen durch irgend welche Verhältnisse die Ausscheidung verhindert oder unvollständiger geworden.

Die blaue Ausscheidung scheint in allen lebenden Elementen des Wurzelkörpers in mäßiger oder auch in sehr geringer Menge sich zu bilden. Dieser Niederschlag entsteht auch, und sogar in relativ ziemlich ansehnlicher Menge, in den Zellen des Urmeristems. Das Eindringen des Farbstoffs geht ziemlich schnell von statten, denn in einer 0,0008 % Lösung war nach 24 Stunden die Reaktion bis in die Mitte dünnerer Wurzeln

zu bemerken. Dagegen führten nach 30stündigem Aufenthalt in 0,0001 % Lösung nur einige peripherische Zellsagen blauen Niederschlag.

In allen diesen Zellen findet sich eine ziemlich geringe Menge eisen-grünenden Gerbstoffs, welcher die Ursache dieser ja auch nur in mäßiger Menge auftretenden blauen Ausscheidung ist.

Über die Schnelligkeit der Speicherung, sowie über Aufnahme aus sehr verdünnten Lösungen ist das Nöthige mitgetheilt (p. 197).

Um eine Vorstellung über die in dem Zellsaft der Wurzelhaare gespeicherte Farbstoffmenge zu erhalten, brachte ich mit Methylenblau gesättigte Objekte unter Deckglas in eine Lösung von 0,5 resp. 1 Procent Methylenblau. Kurze Zeit dauert in solcher die Protoplasmaströmung fort, und sogleich nach dem Einlegen mit schwacher Vergrößerung betrachtet, erschienen in der 1procentigen Lösung sehr intensiv tingirte Haare etwas dunkler gefärbt als die umgebende Flüssigkeit. Angenommen, daß das Färbungsvermögen der Handelswaare mit dem Eingehen einer neuen Verbindung im Zellsaft unverändert bleibt, würde also im günstigen Falle in dem Zellsaft eines Haares von *Trianea* mehr Methylenblau gespeichert werden, als in einer 1procentigen Lösung der Handelswaare enthalten ist.

Mitgetheilt ist auch schon, dass in einer 0,0008 % Lösung die Wurzeln von *Trianea* nicht merklich wuchsen, doch zum Theil sich einige Tage (bis 9 Tage) lebend erhielten. In einer 0,0004 % Lösung wuchsen dagegen die sich färbenden Wurzeln kräftig weiter. Im Laufe von 7 Tagen verlängerte sich z. B. in solcher Farbstofflösung eine Wurzel von 4 mm auf 9 mm, eine andere von 14 mm auf 20 mm. In diesen, wie in allen auf längere Zeit ausgedehnten Versuchen wurde mit möglichst kleinen intakten Exemplaren operirt, welche zuvor ihrer Wurzeln bis auf eine oder einige beraubt worden waren.

Solche Exemplare mit einigen kleineren Wurzeln dienten auch dazu, um das Wachsthum nach der Speicherung zu verfolgen. In einem Falle wurden 4 Exemplare während 24 Stunden in einer 0,0004 % Lösung gelassen. Nachdem konstatiert, dass sich blaue Ausscheidung durch den ganzen Körper der zarten Wurzeln gebildet hatte, kamen die Objekte während 2 Stunden in eine größere Menge 0,4 % Salpeterlösung, um das in der Wandung festgehaltene Methylenblau thunlichst zu entfernen. Dann wurden die 3 Pflanzen in ein Gefäß mit ungefähr $4\frac{1}{2}$ Liter Regenwasser gebracht und verweilten in diesem bei einer Temperatur zwischen 14—19° C. vom 15.—28. Oktober; doch wurden inzwischen einige Wurzeln behufs der Untersuchung abgenommen. Sechs näher bezeichnete Wurzeln, die zu Beginn eine Länge zwischen 6 und 27 mm hatten, waren während dieser 13 Tage um 90 bis 310 % gewachsen.

In den zu Beginn des Versuches ausgewachsenen Partien der Wurzel fanden sich nach 13 Tagen die blauen Ausscheidungen anscheinend ebenso reichlich wie zu Anfang. Im Urmeristem fehlten diese Ausscheidungen

entweder ganz oder waren bei den schwächer gewachsenen Wurzeln in einzelnen Zellen reichlicher, in anderen spärlich, in anderen auch gar nicht vorhanden. Diese Vertheilung der Farbstoffmassen zeigte auch die Epidermis rückwärts vom Urmeristem, in der also farblose Zellen in größerer oder geringerer Zahl zwischen solchen eingesprengt waren, die wenig oder viel blaue Ausscheidung enthielten. Dabei fand natürlich ein allmählicher Übergang zu den zu Beginn des Versuches ausgewachsenen Zellen statt. In den mehr oder weniger farblosen Zellen entstand durch Methylenblau (0,0005 %) in normaler Weise die blaue Ausscheidung.

Ohne näheren Verfolg dieser Verhältnisse ist doch so viel zu entnehmen, dass während der Vermehrung durch Zelltheilung nicht immer beide Tochterzellen von der blauen Ausscheidung mit bekamen. Ferner dass eine merkliche Auswanderung des Farbstoffs in den ausgewachsenen Zellen nicht stattfand und eine solche anscheinend auch nicht in der wachsenden Region thätig war, in welcher insbesondere ein Übergang des gespeicherten Farbstoffs von einer Zelle zur andern unterblieb. Ob keine Spur Farbstoff austrat, kann nach diesen allgemeinen Beobachtungen nicht beurtheilt werden. Übrigens konnte ich in den zu Beginn des Versuches ausgewachsenen Zellen eine Abnahme der farbigen Körnchen nicht konstatiren, als andere, in der oben beschriebenen Weise gefärbte Wurzeln während 34 Tage in Regenwasser gehalten wurden. In diesem, wie in dem zuerst beschriebenen Versuche wurde das Regenwasser jeden fünften Tag erneuert und für sofortige Entfernung absterbender Blätter oder Wurzeln Sorge getragen. Es geschah dieses, um die Entwicklung von Bakterien und fremden Organismen zu vermeiden, die möglicherweise durch Produktion von Säuren oder durch andere Einwirkungen Veranlassung zur Entfärbung hätten geben können. Über die künstliche Entfärbung vergl. Kap. XVIII, 3.

Zu Untersuchungen dieser Art sind aus verschiedenen Gründen die Wurzelhaare von *Trianea* weniger geeignet. Ohne näheres Studium derselben machte es den Eindruck, dass mit dem Altern der Haare die blaue Ausscheidung mehr und mehr schwindet, was der geringeren Speichermöglichkeit älterer Haare entsprechen würde. Doch wäre es auch möglich, dass thatsächlich, ohne Verminderung des speichernden Körpers, etwas Farbstoff aus den Wurzelhaaren exosmirt.

Nach Einwirkung nicht zu verdünnter Methylenblaulösung wachsen nach dem Einbringen in Regenwasser die gefärbten Wurzelhaare öfters nicht mehr weiter, während an dem neuen Zuwachs der Wurzel Haare üblicher Länge entstehen, so dass ein sprungweiser Übergang von kleinen zu großen Wurzelhaaren vorhanden ist. Ein solcher Erfolg scheint aber durch verschiedene Einwirkungen erzielt werden zu können. Denn ich beobachtete gleiches an einzelnen Wurzeln, die nach kurzem Aufenthalt in $\frac{1}{4}$ % Salpeterlösung in Wasser kamen, ferner an Wurzeln, die zu anderen Zwecken 24 Stunden in einer Lösung mit 0,04 % Katechu und 0,02 %

Kaliummonoehromat verweilt hatten. Nach 9 tägigem Aufenthalt in Wasser war noch kein Wachsthum an den zu Beginn jener Behandlung bereits hervorgewölbten Haaren zu bemerken, die, wie beim Übertragen in Wasser, eine gelbbraun gefärbte Wandung und schön strömendes Protoplasma besaßen. Offenbar handelt es sich also um irgend eine Wachsthumshemmung, welche speziell die Haare traf, und es ist zu hoffen, dass solche Thatsachen mithelfen können, um Licht in den Wachsthumsvorgang der Zellhaut zu bringen.

Das Blatt nimmt mit seiner auf dem Wasser aufliegenden Unterseite leichter Methylenblau auf, als der Blattstiel. In letzterem war u. a. nach 9 tägigem Aufenthalt in 0,0008 % Lösung nur im basalen Theil körnige blaue Ausscheidung, ähnlich wie in den Wurzelzellen zu finden, während im Blatt so ziemlich sämtliche lebende Zellen durch die gleiche Reaktion die Aufnahme von Methylenblau anzeigten. Da aber der Blattstiel faktisch in seinen lebenden Zellen Speichercapazität besitzt, war also in der Versuchszeit durch die Außenwand der Epidermis Farbstoff in merklicher Menge nicht eingedrungen und nur auf kleiner Strecke war von der Wurzel aus in diesen 9 Tagen Methylenblau im Blattstiel vorgerückt. Das Blatt aber hatte das zur Speicherung gekommene Methylenblau durch seine Unterseite aufgenommen, von der aus der Farbstoff von Zelle zu Zelle vordrang, wie sich aus der Verbreitung desselben nach kürzerer Versuchszeit sofort ergab. Die Versuche wurden bei 43—47° C. im November angestellt und es ist wohl möglich, dass bei stark gesteigerter Transpiration der Farbstoff schneller im Blattstiel fortrückt.

Azolla caroliniana L.

Die Wurzeln dieser Pflanze stellen ihr Scheitelwachsthum frühzeitig ein, wachsen aber interkalar noch einige Zeit weiter, wobei durch die produzierten Haare die Wurzelhaube endlich abgestoßen wird¹⁾. Weder in den Zellen der Epidermis, noch in den Haaren ist das Protoplasma in bemerklicher Strömung. Beiderlei Zellen enthalten, wie es aus den Figuren 4 und 3 hervorgeht, Chlorophyllkörner, welche indess in den Haaren meist spärlich und zum Theil nur mäßig ergrünt sind.

In den Haaren, der Epidermis, der Haube, wie es scheint überhaupt in allen lebenden Zellen der Wurzel erzeugt Methylenblau einen blauen Niederschlag, welcher durch die Anwesenheit eines Gerbstoffs veranlasst wird, der mit Eisen eine dunkle Färbung gibt. Dieser Niederschlag ist dem in *Trianea* ähnlich, pflegt aber in der Epidermis (Fig. 4), dem Wurzelparenchym und der Haube reichlicher zu sein, als in den gleichnamigen Zellen von *Trianea bogotensis*. Besonders reichlich tritt der Niederschlag in den Haaren auf, in welchen er nicht selten zu schönen baumförmigen, netz-

1) Näheres bei WESTERMAIER und AMBRONN, Abhandlg. d. bot. Vereins d. Prov. Brandenburg. 1880. Bd. XXII. p. 58.

förmigen u. s. w. Massen vereinigt ist. Die Figur 3 stellt ein jüngeres Haar mit sehr reichlichem Niederschlag dar. In den jungen Haaren tritt der Niederschlag im allgemeinen relativ am reichlichsten auf, doch ist derselbe in absolut gleicher oder vielleicht etwas verstärkter Menge in den vergrößerten Haaren zu finden.

In manchen Wurzeln finden sich in den jüngsten Zellen Kugeln einer Verbindung von Gerbsäure mit einem Proteinstoff, die in allen Zellen durch Plasmolyse erzeugt werden können (vgl. Kap. VI). Bei Existenz solcher präformirter Massen färben sich diese, die feinkörnige Ausscheidung aber entsteht durch Ausfällen eines gelösten Stoffes.

Hinsichtlich der Aufnahme aus stark verdünnten Lösungen verhält sich *Azolla* ähnlich wie *Trianea*, und wie bei dieser erschwert schon die Haube das Vordringen in die gedeckten Zellen. In einer 0,00004 % Lösung war im Laufe von 2 Tagen die Ausscheidung in den Haaren und in der Epidermis anscheinend ziemlich vollendet, dagegen war in gleicher Zeit in einer 0,000005 % Lösung eine geringere Menge von Ausscheidung gebildet.

In so verdünnten Lösungen, auch noch in 0,0004 % Lösung, wuchsen die Haare, während in einer 0,0008 % Lösung ein merkliches Wachsen nicht stattfand. In der letztgenannten Lösung sprach sich die Schädigung durch Methylenblau in einem Abfallen insbesondere der größeren Wurzel aus, deren Ablösung in einer basalen Trennungszone durch verschiedene äußere Einflüsse verhältnismäßig leicht veranlasst wird.

Ein Wachstum nach dem Färben wurde an Pflanzen konstatiert, welche nach 6 stündigem Aufenthalt in 0,0008 % Methylenblaulösung in der bei *Trianea* beschriebenen Weise behandelt worden waren. Nach 47 tägigem Aufenthalt in Wasser war an den zu Beginn des Versuches ausgewachsenen Zellen (Haare und Epidermis) eine Abnahme der farbigen Ausscheidung nicht zu bemerken. In Wurzeln, die anfänglich 4—6 mm lang waren und nach 8 Tagen es bis zu 24 mm Länge gebracht hatten, fand sich der Farbstoff in der Weise vertheilt, wie es das früh erlöschende Scheitelwachsthum und die Fortdauer des interkalaren Wachsthum fordert. Es war nämlich bis in die Wurzelspitze hinein, zumeist in mäßiger Menge, blaue Ausscheidung zu finden. Doch fehlte diese in manchen Zellen gänzlich und war jedenfalls immer spärlich in allen neu gebildeten Haaren, welche höchstens die verhältnismäßig geringe Menge des blauen Niederschlags enthielten, welcher in einer Epidermiszelle vor dem Auswachsen zu einem Haare entstanden war.

Nach beiläufigen Beobachtungen erzeugt Methylenblau in den Blättern von *Azolla* eine ähnliche blaue Ausscheidung.

Lemma minor L.

Die Figuren 7 und 8 geben ein ungefähres Bild der Extreme, innerhalb welcher sich die Form der Speicherung in der Haube, der Epidermis

und, so weit ich gesehen, überhaupt in den lebenden Zellen der Wurzel von *Lemna minor* hält. Viele Zellen erhalten durch Methylenblau einen tief blauen Zellsaft, in welchem meist eine geringe Menge feinkörnigen Niederschlags sich findet (Fig. 8). In anderen Zellen dagegen ist neben farblosem oder mäßig gefärbtem Zellsaft ein größeres Quantum krystallinischer Ausscheidung vorhanden (Fig. 7). In vielen Fällen wenigstens hat diese Ausscheidung deutlich die Struktur von Sphärokrystallen, doch vermisst man in anderen Fällen eine ausgesprochen krystallinische Struktur. Bildet dann diese Ausscheidung zugleich kleine Kugeln, so ist sie nicht mehr sicher von der feinkörnigen Ausscheidung unterschieden, wie sie in Fig. 8 vorhanden ist und wie sie sich auch neben deutlichen Sphärokrystallen findet. Aus den in Kap. IV, 3 mitzutheilenden Gründen besteht die feinkörnige Ausscheidung wahrscheinlich aus gerbsaurem Methylenblau und entsteht demgemäß durch die sehr geringe Menge Gerbsäure, welche sich in der Wurzel von *Lemna* findet, während in den Sphärokrystallen und in dem farbigen Zellsaft sicher eine gerbstofffreie Verbindung vorliegt.

Ob in der farbigen Lösung und in der krystallinischen Ausscheidung dieselbe Verbindung vorhanden ist und nur besondere Verhältnisse darüber entscheiden, ob eine Ausscheidung stattfindet oder nicht, lässt sich nicht sicher sagen. Jedenfalls nimmt mit Zunahme der Färbung des Zellsaftes die Menge der krystallinischen Ausscheidung ab. In dem einmal farbigen Zellsaft entsteht aber weder nach längerer Zeit, noch durch starke Konzentration vermittelt Plasmolyse durch 4 bis 8 % Salpeter eine weitere Ausscheidung.

In dem von mir benutzten Materiale bildeten die bis zu 40 mm langen Wurzeln meist nur farbigen Zellsaft. Dieser herrschte bei längeren Wurzeln in dem Spitzentheile vor, während in den älteren Partien gewöhnlich Sphärokrystalle mit oder ohne farbigen Zellsaft dominirten. Da indess diese Vertheilung keineswegs konstant auftrat, vielmehr manche ältere Wurzeln gar keine Sphärokrystalle enthielten, in anderen Wurzeln Zellen mit Sphärokrystallen und farbigen Zellsaft bunt durcheinander gewürfelt lagen, muss ich dahin gestellt lassen, ob nicht individuelle Eigenthümlichkeiten oder Kulturbedingungen einen Einfluss auf die Form der Speicherung haben. Vielleicht hängt es mit irgend solchen Verhältnissen auch zusammen, dass in manchen Wurzeln die Zellen in sehr ungleichem Grade Farbstoff anhäufeten. Die lichter gefärbten Zellen lagen öfters unbestimmt vertheilt zwischen den tief blauen Zellen, in anderen Fällen war eine lichter gefärbte Zone in der Wurzel vorhanden. Diese fiel öfters mehr oder weniger mit der Wurzelregion zusammen, in welcher das Längenwachsthum am ausgiebigsten war, doch möchte ich darauf kein besonderes Gewicht legen, da ich nicht selten auch eine andere Vertheilung beobachtete.

Nicht ohne Einfluss auf diese Verhältnisse dürfte die häufige Ansiedelung fremder Organismen, vegetabilischer und animalischer, an und in der

Wurzel von *Lemna minor* sein, in der auf diese Weise nicht selten eine größere Menge von Zellen getödtet und diesen damit die Speichermöglichkeit geraubt wird. Es ist deshalb zu empfehlen, möglichst reine Kulturen und namentlich jüngere schnell herangewachsene Wurzeln zu den Versuchen zu wählen.

Für Aufnahme aus verdünnten Lösungen und Wachstum in diesen gilt wesentlich dasselbe wie für *Trianea* und *Azolla*. Im allgemeinen scheint die Speicherung in *Lemna* in stark verdünnten Lösungen etwas langsamer von statten zu gehen, als die in den beiden anderen genannten Pflanzen. Mit diesen letzteren theilt sie auch eine ungefähr gleiche Resistenz gegen Methylenblau.

Zur Beobachtung des Wachstums wurden u. a. 46 Exemplare von *Lemna* gleichzeitig mit *Azolla* (vergl. p. 243) durch sechsständigen Aufenthalt in einer 0,0008 % Methylenblaulösung gefärbt. Beim Übertragen in Wasser maßen die längsten Wurzeln 48 mm; nach 8 tägigem Aufenthalt in Wasser bis zu 37 mm. In den ausgewachsenen Partien hatte sich die Färbung in der anfänglichen Weise erhalten, in den jüngeren Partien ließ das mit dem Wachstum mehr und mehr fortgeschrittene Abblenden des Zellsaftes auf eine dauernde Vertheilung des gelösten Farbstoffs auf die Tochterzellen schließen. In den am besten gewachsenen Wurzeln war das Urmeristem und die jüngste Partie der Wurzel zum Theil nicht mehr deutlich gefärbt.

Anscheinend wurden mit dem Altern der Zelle aus dem farbigen Zellsaft farbige Krystalle ausgeschieden, doch habe ich dieses nicht näher verfolgt, und nicht immer wird farbige Ausscheidung in älteren Zellen gebildet. Jedenfalls diessmirte auch der gelöste Farbstoff innerhalb der Beobachtungszeit in keiner nennenswerthen Weise weder in das umgebende Wasser, noch in die durch Wachstum farbstoffärmer gewordenen Zellen. Ich habe dabei natürlich nur Wurzeln im Auge, die von fremden Organismen thunlichst verschont geblieben waren.

In die Sprosse von *Lemna minor* tritt, ähnlich wie in die Blätter von *Trianea*, der Farbstoff von der dem Wasser aufliegenden Unterseite ein, um sich allmählich durch den ganzen Spross zu verbreiten und in den Zellen neben körniger Ausscheidung mehr oder weniger tief gefärbten Zellsaft zu erzeugen.

In der Wurzel und in den Sprossen von *Lemna trisulca* scheint, nach flüchtiger Beobachtung, die Speicherung von Methylenblau eine ähnliche zu sein, wie bei *Lemna minor*.

Zygnema cruciatum Ag.

Mit Beschreibung und Abbildung dieser Art stimmt die benutzte Form von *Zygnema* einigermaßen überein, an der ich Zygosporen nicht beobachtete. Die ziemlich ansehnliche Schleimschicht der Zellwandung wird durch

Methylenblau nicht selten blau, doch gewöhnlich durch $\frac{1}{2}$ prozentige Salpeterlösung von dem Farbstoff befreit.

Dem schön strömenden Protoplasma eingebettet oder adhärennd und gern um den Zellkern gehäuft finden sich zahlreiche Gerbsäurebläschen (vergl. Kap. IV, 3), welche durch Methylenblau schön gefärbt werden. Außerdem wird der Zellsaft entweder tief blau oder es bleibt Methylenblau nicht oder in nur geringer Menge in Lösung, wenn farbige Krystalle sich ausscheiden (Fig. 9 u. 10).

Der Farbstoff dringt verhältnismäßig nicht schnell ein, doch hatte nach einstündigem Aufenthalt in 0,0008 % Methylenblau die Färbung von Gerbsäurebläschen zumeist merklich begonnen und nach 2 Stunden, zuweilen aber auch erst nach 3 bis 4 Stunden war eine deutliche Färbung im Zellsaft zu bemerken. Nach 24 Stunden war die Mehrzahl der Gerbsäurebläschen schön blau, doch waren einzelne nur matt oder gar nicht gefärbt. Übrigens sind alle Bläschen tingierbar, denn nach 2 bis 3 tägigem Aufenthalt in der genannten Lösung fanden sich öfters sämtliche Gerbsäurebläschen einer Zelle gefärbt ¹⁾.

In manchen Fäden wird der Zellsaft, in welchem der speichernde Körper nicht Gerbsäure ist, tief blau (Fig. 9) und erst nach 2 bis 3 Tagen beginnt die Ausscheidung von Krystallen. Diese erschienen zuweilen in fast allen, zuweilen in einzelnen Zellen, während die anderen Zellen ihren farbigen Zellsaft bewahrten, auch wenn die Alge während 8 Tage in einer 0,0008 % Methylenblaulösung verweilte. Diese nachträgliche Ausscheidung ist indess nur graduell verschieden und durch Bindeglieder verknüpft mit dem, was andere Fäden oder auch einzelne Zellen desselben Fadens bieten, dass nämlich schon nach schwacher oder gar nicht merklicher Färbung des Zellsaftes die blauen Krystalle erscheinen. Da diese immer den gleichen Formenkreis entwickeln, mögen sie sogleich oder später erscheinen, ist wohl in allen Fällen derselbe speichernde Stoff vorhanden und bis dahin unbekannte Ursachen veranlassen, dass die fragliche Methylenblauverbindung im Zellsaft gelöst bleibt oder ausgeschieden wird. Offenbar spielen hier Entwicklungsverhältnisse und Kulturbedingungen eine Rolle mit, denn dieselbe Algenkultur, welche fast nur farbigen Zellsaft und nachträgliche Ausscheidung von Krystallen geliefert hatte, gab nach einigen Wochen vorwiegend sofortige Ausscheidung der Farbstoffkrystalle, ohne vorausgegangene merkliche Färbung des Zellsaftes.

Der Formenkreis der Krystalle, mögen sie sogleich oder später ausgeschieden sein, ist ziemlich groß. So schön, wie in Fig. 10, sind die Krystalle seltener. Außer den säulenförmigen und drusenförmigen Gestalten, wie

1) Nach LOEW u. BOKORNY (Die chem. Kraftquelle im Protoplasma 1882, p. 42) enthält *Zygnema cruciatum* neben eisenbläuendem Gerbstoff noch einen andern, dem Morin und der Moringersäure nahestehenden Gerbstoff.

sie die Abbildung zeigt, kommen z. B. auch feinstrahlige Sphärokrystalle (ähnlich wie in *Lemma* Fig. 7) und raphidenähnliche Nadeln vor, welche die Länge der Zelle erreichen können. Häufig sind übrigens die Ausscheidungen unvollkommen ausgebildete Krystalle.

Unsere *Zygnema* ist sehr widerstandsfähig, denn nach einem 9tägigen Aufenthalt in 0,0008 % Methylenblau strömte das Protoplasma in fast allen Zellen und wahrscheinlich hatte ein gewisses Wachstum der Fäden stattgefunden. In manchen Fällen war indess durch den Stillstand der Strömung eine gewisse Schädigung angezeigt und nach 14 Tagen war in einer Anzahl Zellen eine gewisse Deformation oder auch Tödtung des Protoplasmas eingetreten.

Die Entfärbung bei Aufenthalt in Wasser wurde in verschiedenen Versuchen festgestellt, von denen ich hier einen mittheile. Es diente zu diesem ein Quantum von *Zygnema*, das 3 Tage lang in 0,0008 % Methylenblaulösung zugebracht hatte. Die Gerbsäurebläschen waren jetzt so ziemlich alle schön gefärbt und der Zellsaft enthielt zum Theil gelösten, zum Theil in Krystallen ausgeschiedenen Farbstoff. Nach einstündigem Aufenthalt in 0,4 % Salpeterlösung kam dieses Quantum von Fäden in viel Regenwasser und verblieb bei einer Temperatur von 13—18° C. in hellem diffusen Licht. Schon nach 24 Stunden war in manchen Zellen ein starkes Abblässen vieler Bläschen und ein merklicher Farbstoffverlust aus dem Zellsaft zu bemerken. Nach 2 Tagen war in einzelnen Zellen der Vakuolensaft nicht mehr blau und die Krystallreste zeigten eine zum Theil weit fortgeschrittene Lösung dieser Ausscheidung an. Nach 4 und 5 Tagen war aus manchen Zellen und Fäden der Farbstoff ganz verschwunden. In einzelnen Zellen eines Fadens traf man indess noch jetzt und selbst nach 14 Tagen einige gefärbte Gerbsäurebläschen und seltener noch etwas farbigen Zellsaft oder Reste der krystallinischen Ausscheidung.

Übereinstimmend lehrten auch andere Experimente, dass das Vermögen der Entfärbung allgemein, jedoch schon in den aneinander stoßenden Zellen eines Fadens ungleich ausgebildet ist. Diese Entfärbung ist nicht an das Wachstum gekettet, denn ich beobachtete z. B. einen bestimmten Faden, der sich während 2 Tage fast ganz entfärbt hatte, inzwischen aber nur von 11 mm auf 11,5—12 mm gewachsen war. Mit dem Wachstum und der Vermehrung der Zellen wird natürlich der Zellsaft blasser und neue ungefärbte Gerbsäurebläschen treten in den Zellen auf.

Vermöge dieser ausgiebigen Entfärbung kam in unserer *Zygnema* in einer 0,0004 % Methylenblaulösung selbst nach 13 Tagen entweder gar keine merkliche Färbung zu Stande oder es waren einzelne Gerbsäurebläschen ganz schwach blau tingirt, und nur höchst vereinzelt sah ich auch Spuren krystallinischer Ausscheidung oder Färbung im Zellsaft. Dabei war jedenfalls an Methylenblau kein Mangel, denn ein nur kleines Quantum von *Zygnema* befand sich in 600 kbem Farbstofflösung, welche jeden 3. oder

4. Tag durch neue ersetzt wurde. Die individuellen Differenzen erklären sich aus der ungleichen Entfärbungsthätigkeit und treten in anderen Individuen vielleicht noch ausgedehnter auf. Nach der ungleichen Aufnahme von Farbstoff in die Gerbsäurebläschen einer Zelle scheint in den einzelnen Gerbsäurebläschen eine verschiedene Befähigung der Farbstoffaufnahme, resp. der Entfärbung vorhanden zu sein.

Die Entfärbung des Zellsaftes und der Gerbsäurebläschen geht ebenso im Dunkeln vor sich. Auch erhielten sich in einer während 12 Tage verdunkelten Kultur die Gerbsäurebläschen und ergaben, ebenso wie der Zellsaft, die übliche Farbenspeicherung.

In schön vegetirender *Zygnema* sah ich keine Öltropfen, die sich indess reichlich in einer Kultur eingefunden hatten, welche während des Dezembers und des Januars in einer Schale gestanden hatte. Diese Öltropfen färbten sich nicht, während Gerbsäurebläschen und Zellsaft in normaler Weise Methylenblau speicherten.

In einer unbestimmten Art von *Mesocarpus* färbten sich die zumeist der Chlorophyllplatte anliegenden Gerbsäurebläschen ebenso wie bei *Zygnema*, doch schneller, während im Zellsaft keine merkliche Speicherung von Methylenblau eintrat.

Spirogyra communis Ktz. und *setiformis* (Roth) Ktz.

Die feinfädige und dünnwandige *Spirogyra*, von welcher in Fig. 4 eine Zelle abgebildet ist, bestimmte ich als *Sp. communis*. Von dieser lagen mir Zygosporen vor, während ich nur steril *Sp. setiformis* sah, welche dickfädig ist und eine dicke Membran mit schleimiger Umkleidung besitzt. Bei beiden färbt sich in manchen Fäden die Membran durch Methylenblau, wird aber meist durch $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ prozentige Salpeterlösung leicht entfärbt. Lässt man eine 5prozentige Salpeterlösung auf eine lebende *Spirogyra setiformis* einwirken, so löst sich die Außenschicht der gefärbten Wandung häufig in Bändern, Lappen u. s. w. ab.

In dem Zellsaft dieser Algen findet sich reichlich eisenbläuer Gerbstoff¹⁾ und in beiden erzeugt Methylenblau, ähnlich wie in *Azolla*, einen feinkörnigen Niederschlag von gerbsaurem Methylenblau. In *Sp. communis* fand ich wenigstens etwas bläulich gefärbten Zellsaft, während der Regel nach, sogleich mit dem Eindringen des Farbstoffs, blaue Körnchen ausgeschieden werden, welche zunächst wohl im Zellsaft einzeln tanzen, jedoch sich schnell zu zusammenhängenden Massen aggregieren. In diese werden auch zuvor vorhandene Kryställchen aufgenommen, welche wohl aus Calciumoxalat bestehen.

Größere zusammenhängende Farbmassen liegen gewöhnlich ruhig, während kleinere Partikel, dem Protoplasma adhärierend, von den Strö-

1) Vgl. auch DE VRIES, Jahrb. f. wiss. Bot. 1885. Bd. 16. p. 575.

mungen dieses streckenweise mitgeführt werden. Bei *Sp. setiformis* sah ich solches häufiger, bei *Sp. communis* nur selten.

In der größeren *Sp. setiformis* sind die größeren farbigen Massen meist in auffälliger Weise einseitig gelagert. Es wird dieses durch Senkung nach dem Gesetze der Schwere erreicht, wie folgender Versuch lehrt. Ein kräftiger Faden von *Sp. setiformis* wurde in vertikaler Stellung gehalten, indem das eine Ende durch Adhäsion an der Wandung eines Becherglases oberhalb des Wasserniveaus festgehalten war, während der im Wasser befindliche Theil durch eine Algenmasse gespannt wurde, welche dem anderen Ende anhing. Nach 24 stündigem Aufenthalt in dieser Lage waren die größeren farbigen Aggregate im allgemeinen sehr deutlich in dem erdwärts gewendeten Ende der Zellen zu finden. Nun wurde der Faden um 480° gedreht und nach 10 Stunden waren die farbigen Massen auf die entgegengesetzten, nunmehr erdwärts gewandten Enden der Zellen übergegangen.

Hinsichtlich der Schnelligkeit der Farbstoffaufnahme, welche besonders ansehnlich in *Spirogyra communis* ist, wurde schon früher (p. 197) Mittheilung gemacht, ebenso (p. 205) über die ungleiche Resistenz dieser beiden Algen. Sehr empfindlich gegen Methylblau scheint nach einer beiläufigen Beobachtung auch *Spirogyra orthospira* zu sein.

In Wasser findet Entfärbung statt, die, wenigstens in meinen Versuchen, schneller in *Sp. setiformis* als in *Sp. communis* eintrat.

In einem Versuche hatte *Sp. setiformis* während eines $2\frac{1}{2}$ stündigen Aufenthalts in Methylblaulösung eine reichliche Menge blauen Niederschlag gebildet und kam nach 1 stündigem Aufenthalt in 0,1 % Salpeterlösung in Regenwasser. Nach 2 Tagen war Abnahme des blauen Niederschlags deutlich zu bemerken und nach 5 Tagen, vom Beginn ab gerechnet, enthielten nur vereinzelte Zellen noch Spuren von Niederschlag. Dass diese Abnahme nicht etwa mit der Vermehrung der Zellen durch Wachsthum zusammenhängt, lehrte die Messung einiger Fäden. Im Laufe von 4 Tagen war im Wasser der Niederschlag fast verschwunden, inzwischen hatte der eine Faden von 25 mm auf 28 mm, der andere von 27 mm auf 34 mm sich verlängert.

Sp. communis, welche durch Aufenthalt während 40 Minuten in 0,0008 % Methylblaulösung reichlich mit blauem Niederschlag versehen war, wurde außerdem ebenso wie *Sp. setiformis* behandelt und gleichzeitig mit dieser in Wasser gehalten. Nach 4 Tagen hatte der Niederschlag wohl etwas abgenommen, aber erst nach 8 Tagen war er in einigen Zellen ziemlich verschwunden, während andere noch nach 13 Tagen merkliche, jedoch verminderte Mengen von Niederschlag enthielten.

An dieser Stelle mag auch ein Versuch angeführt werden, in welchem von gefärbter *Sp. communis* ein Theil in Regenwasser, der andere Theil in eine Lösung von 0,1 % Natriumbicarbonat kam. In beiden Fällen war nach

14 Tagen ein Theil der Zellen entfärbt und ein Unterschied zu gunsten einer der Proben war nicht zu bemerken.

In diesem wie in dem anderen Entfärbungsversuche befanden sich die Objekte in hellem diffusen Licht bei einer Temperatur zwischen 13—19° C. In allen Fällen wurde nur nach Zellen geurtheilt, in welchen sich das Protoplasma in schöner Strömungsbewegung befand.

Das Gleichgewicht zwischen Aufnahme und Ausgabe von Methylenblau wird in *Spirogyra* erst bei weit größerer Verdünnung erreicht, als in *Zygnema*. Denn in einer 0,0001 % Farbstofflösung entstand in *Sp. communis* und *setiformis* reichlichst blauer Niederschlag. Dieser bildete sich in *Sp. communis* in vermindelter, doch noch ansehnlicher Menge in 0,00004 % Lösung und erst bei einer 0,000005 % Lösung fehlte der blaue Niederschlag in einigen, jedoch nicht in allen Zellen der *Spirogyra communis*.

Oedogonium spec.

Während 3 verschiedene Formen von *Oedogonium* keine Speicherung von Methylenblau ergaben, trat solche in einem Theil der Zellen in einem *Oedogonium* ein, das aus einem Wasserkübel des Gewächshauses stammte. Bei Mangel von Oogonien konnte ich diese Pflanze nicht bestimmen, die allenfalls zu *Oedogonium tumidulum* Ktz. gehören könnte, also eine Form von verhältnismäßig größerem Durchmesser ist.

In den speichernden Zellen trat blauer Zellsaft mit oder ohne blaue Körnchen auf, welche letzteren meist etwas größer waren, als die feinkörnigen Ausscheidungen in *Lemna* oder *Spirogyra*. In der Färbung des Zellsaftes fanden sich alle Abstufungen vom tiefsten Blau (etwa wie Fig. 8) bis zu einer nicht mehr sicher wahrnehmbaren Färbung.

Im höchsten Falle war etwa die Hälfte der Zellen, meist eine geringere Zahl, tiefer oder leichter gefärbt und in manchen Fäden fehlte eine wahrnehmbare Speicherung gänzlich. Die gefärbten und ungefärbten Zellen unterschieden sich im allgemeinen nicht in äußerer und innerer Gestalt und waren ohne erkennbare Regel in einem Faden vereinigt. Zuweilen war eine einzelne speichernde Zelle zwischen nicht speichernde Zellen eingeschaltet, häufig folgten aber zwei oder einige gefärbte Zellen aufeinander.

Offenbar ist der speichernde Stoff in verschiedener Menge und nicht in allen Zellen gebildet, denn die Beobachtungen sprechen dafür, dass jede Zelle zur Aufnahme befähigt ist, wie schon früher (p. 194) dargethan wurde. Die Qualität des speichernden Körpers ist noch unbekannt. Gerbsäure war in diesem *Oedogonium* nicht nachzuweisen¹⁾ und kann also auch die Ursache für Ausscheidung der zum Theil auftretenden Körnchen nicht sein.

Wie es kommt, dass die Zellen verschiedenen Inhalt im Zellsaft führen,

1) LOEW u. BOKORNY (Die chem. Kraftquelle im lebenden Protoplasma 1882, p. 43) fanden keinen Gerbstoff in einem *Oedogonium*.

ist aus meinen Beobachtungen nicht zu entnehmen. Beiläufig sei deshalb auch nur bemerkt, dass nach 17 tägigem Aufenthalt im Dunklen die Speichungsverhältnisse anscheinend sich nicht verändert hatten. Möglich wäre es aber wohl, dass spezielle Untersuchungen gerade für ein Objekt dieser Art die Bedingungen feststellen könnten, unter welchen der nicht immer vorhandene speichernde Stoff produziert wird.

Die Aufnahme des Farbstoffes findet schnell statt. Nach zweistündigem Aufenthalt in 0,0008 % Methylenblaulösung war die Speicherung anscheinend vollendet. Bei verlängertem Aufenthalt in dieser Farbstofflösung begann nach 2 bis 4 Tagen ein Absterben, das gewöhnlich zuerst die farbenspeichernden Zellen traf.

Das einmal gespeicherte Methylenblau wird jedenfalls nur langsam an Wasser abgegeben. Ob osmotische Ausgabe gar nicht stattfindet, habe ich nicht festgestellt.

Von anderen Algen hat nur noch eine Art eine schöne Färbung des Zellsaftes ergeben, nämlich eine *Ulothrix*, die vielleicht zu *subtilis* Ktz. gehörte. Eine ähnliche Form, welche ich späterhin prüfte, gab aber gar keine Speicherung von Methylenblau.

Negatives Resultat gaben ferner *Vaucheria terrestris* (Vauch.), welche zuvor in Wasser kultiviert worden war; eine Form der *Cladophora fracta* Ktz.; *Rhizoclonium* spec.; *Nitella* sp. (vielleicht *gracilis*); *Nostoc commune* Vauch.; *Cosmarium Botrytis* (Bory); *Pleurotaenium cosmarioides* de Bary; *Cymbella gastroides* Ktz.; *Volvox globator* L., *Euglena viridis*. In *Cladophora*, *Rhizoclonium*, *Vaucheria* und *Nitella* konnte weder mit der von Moll verbesserten Eisenreaktion, noch mit molybdänsaurem Ammoniak in Chlorammonium, noch mit Kalibichromat eine Spur Gerbstoff entdeckt werden. In *Nostoc*, *Cosmarium*, *Pleurotaenium* und *Cymbella* wurde nur mit Kalibichromat, jedoch ohne Erfolg, auf Gerbstoff geprüft. Auch LOEW und BOKORNY¹⁾ fanden in einer *Cladophora* keinen, in einer *Vaucheria* nur Spuren von Gerbstoff, doch ist es wohl möglich, dass andere Arten oder Formen sich verschieden verhalten, denn SCHNETZLER²⁾ gibt für *Vaucheria* Tannin gehalt an.

Saprolegnia ferax.

Ich untersuchte nur eine dem Formenkreis der *Saprolegnia ferax*³⁾ angehörige Pflanze. In dieser erzeugte Methylenblau, z. Th., neben einer meist geringen Menge blauer Körnchen, einen mehr oder weniger gefärbten Zellsaft, während andere Hyphen derselben Pflanze ungefärbt blieben. Solche

1) Die chem. Kraftquelle im lebenden Protoplasma 1882, p. 43.

2) Botan. Centralblatt 1883. Bd. 16. p. 157.

3) Vergl. DE BARY, Untersuchungen über die Peronosporen und Saprolegnien 1884. p. 30.

Unterschiede sah ich sowohl in den rhizoidähnlichen, als in den vom Substrat abstehenden Hyphen. Auch in den Zoosporen und in den Eizellen der Oogonien wurden z. Th. kleine blaue Vakuolen oder blaue Körnchen beobachtet.

Dieses Resultat wurde erhalten mit Kulturen auf Fliegenbeinen, welche während 4 bis 5 Stunden in 0,0008 % Methylenblaulösung verweilt hatten, und auch mit den in einer 0,0004 % Methylenblaulösung auf Fliegenbeinen erwachsenen *Saprolegnien*.

Gerbstoffreaktion war nicht in den Versuchspflanzen zu erhalten.

Penicillium glaucum Link.

Während in manchen Kulturen keine Spur von Speicherung zu bemerken war, traf ich in anderen ganz vereinzelt Zellen mit schön blau gefärbter Vakuolenflüssigkeit. Dieses Resultat wurde übereinstimmend erhalten mit jungen, auf Zuckerlösung erzeugten Kulturen, die während 24 Stunden in 0,0008 % Methylenblaulösung kamen, als auch mit *Penicillium*, welches aus Sporen in einer Nährlösung erwachsen war, die neben Zucker und den nöthigen anorganischen Stoffen 0,0005 % Methylenblau enthielt. Übrigens bewirkte dieser Zusatz von Methylenblau, dass Keimung und Wachstum sehr langsam von statten ging.

Von anderen Pilzen wurden mit negativem Erfolge geprüft *Pilobolus crystallinus* Tod. und *Phycomyces nitens* Kz., welche beide keine Gerbsäure enthalten.

Chondrioderma difforme Rostfk.

Benutzt wurden in Wasser erzeugene kleine Plasmodien, welche entweder unter Deckglas mit Methylenblau behandelt oder ohne Bedeckung mit dem Objektträger in die Farbstofflösung kamen. In letzterem Falle erhielten sich während 23 Stunden die Plasmodien in normaler Bewegung in einer 0,0008 % Farbstofflösung, während sie in 0,0033 % Lösung in dieser Zeit zum Theil etwas geschädigt waren. In den lebenden Plasmodien wurde ein Theil der eingeschlossenen Fremdkörper und hier und da eine Vakuole gefärbt. Einzelne Plasmodien zeigten keine Speicherung. Ich ließ diese Plasmodien dann kleine Partikel von koagulirtem gerbsaurem Albumin (erhalten durch Fällung, Erhitzen und Pulverisiren nach dem Trocknen) aufnehmen und konstatierte die baldige Färbung dieser Fremdkörper nach Einwirkung von 0,0008 % Methylenblaulösung.

Das während des Lebens sich nicht färbende Plasma speichert mit dem Tode Methylenblau.

Ähnliche Resultate hinsichtlich der Aufnahme von Methylenblau erhielt ich mit einer kleinen Amöbe.

Wie in dieser wurden in Infusorien (*Vorticella*, *Paramecium*) die Nahrungsballen gefärbt, das Protoplasma aber blieb ungefärbt.

Um hier die geprüften niederen Organismen zu erledigen, sei noch erwähnt, dass ich keine Speicherung in mit Milchzucker ernährter, also nicht gährthätiger Bierhefe fand. Ferner scheint *Bacillus subtilis* sich nicht zu färben.

Elodea canadensis Rich.

Junge und alte Blätter dieser Pflanze speichern Methylenblau so reichlich, dass sie nach der Aufnahme dieses blaugrün erscheinen. In den meisten Fällen wird in den bekanntlich zweischichtigen Blättern der Zellsaft tief blau, während sich zugleich krystallinische oder körnige Ausscheidung in ziemlicher Menge bildet. In den Zellen der mehrschichtigen Mittelrippe ist gewöhnlich der Zellsaft weniger tief gefärbt, ebenso zuweilen in den Randzellen des Blattes, doch fehlen in diesen Zellen krystallinische oder feinkörnige Ausscheidungen nie.

Die Aufnahme erfolgt zwar langsamer, als etwa in die Wurzel von *Lemna*, doch immerhin schnell, und nach 24 Stunden dürften die Blätter in einer 0,0008 % Methylenblaulösung mit Farbstoff gesättigt sein. Bei mehrtägigem Aufenthalt in dieser Lösung beginnt allmählich Schädigung der Blätter.

Ebenso wie unter normalen Verhältnissen¹⁾ werden auch in den mit Methylenblau gefärbten Blättern erst nach dem Abschneiden die Chlorophyllkörner durch Protoplasmaströmung in Bewegung gesetzt.

Nach der Speicherung tritt der Farbstoff jedenfalls nur in geringer Menge aus; wenigstens war nach 8 tägigem Aufenthalt der mit Methylenblau gefärbten Sprosse in Wasser nur eine minimale Farbstoffausgabe aus den Blättern zu bemerken.

In den intakten Stengel wird Methylenblau nur langsam aufgenommen, und nach 24 stündigem Aufenthalt in 0,0008 % Lösung fand sich nur schwache Speicherung in einzelnen Epidermiszellen. Bei Verwendung von Längsschnitten des Stengels tritt der Farbstoff leichter ein, doch war nach 24 Stunden in 0,0008 % und selbst in 0,0033 % Methylenblau immer nur ein Theil der Zellen gefärbt. Meist waren diese Zellen schwach gefärbt, doch hatten es einzelne Zellen auch zu tiefer farbigem Zellsaft gebracht. Näher habe ich die Speicherung im Stengel nicht untersucht, ebenso nicht die in der Wurzel. In dieser nehmen die Zellen leicht Farbstoff auf, werden aber leicht geschädigt.

Eine minimale, aber nicht sicher nachweisbare Menge von Gerbstoff scheint in der Mittelrippe und in den Randzellen der Blätter vorhanden zu sein. Da außerdem nicht einmal solche zweifelhafte Reaktion auf Gerbstoff in dem übrigen Blatt und im Stengel eintritt, kann dieser Körper für die auffällige Speicherung nicht in Betracht kommen.

1) Vergl. FRANK, Jahrb. f. wiss. Bot. 1872. Bd. 8. p. 233.

Vallisneria spiralis L.

In Wurzeln und Blättern findet Speicherung im Methylenblau statt, die ich indess nicht näher untersuchte.

Haare der an Luft befindlichen Organe wurden untersucht bei *Momordica elaterium*, *Bryonia dioica* und *Primula chinensis*.

Momordica elaterium L.

In den Haaren des Blattstieles und Stengels wird durch Methylenblau farbiger Zellsaft erzielt, in welchem gewöhnlich einige, zuweilen auch in ziemlicher Menge blaue Körnchen sich finden. Ich habe nicht untersucht, in wie weit die sehr ungleiche Speicherung in benachbarten Zellen in der Natur dieser oder in der Hemmung des Eintritts des Farbstoffs begründet ist, welcher durch die schwieriger permeable Cuticula bedingt wird. Dieser erschwerten Aufnahme halber war in 0,0008 % Lösung nach 48 Stunden nur in einzelnen Zellen eine meist schwache Färbung zu bemerken und selbst nach 48 Stunden waren nicht alle speicherungs-fähigen Zellen gefärbt. Es ergab sich dieses aus der reichlicheren und tieferen Färbung der Haare, welche 48 Stunden in einer 0,4 % Methylenblaulösung zugebracht hatten. Vermöge des langsamen Eindringens des Farbstoffs durch die Cuticula besaßen auch in diesem letztgenannten Objekte nach 48 Stunden die Haare zumeist noch strömendes Plasma.

Etwas leichter als in die großen Haare dringt der Farbstoff gewöhnlich in die kleineren Drüsenhaare, welche übrigens hinsichtlich der Speicherung sich ähnlich verhalten. Auch in Zellen der Epidermis und des Binnengewebes des Blattstiels und des Stengels wurde Speicherung von Methylenblau beobachtet.

Zu den Versuchen dienten, wie auch bei *Bryonia* und *Primula*, Stücke des Blattstiels und des Stengels, welche theilweise zuvor mit Wasser unvollständig injicirt wurden. Die so behandelten Objekte gingen zumeist schneller zu Grunde, als die nicht injicirten.

Besonders nach Verwendung konzentrierterer Methylenblaulösung schälten sich bei darauf folgender Behandlung mit Salpeterlösung an der Oberfläche der Haare öfters faserige oder blätterige blaue Massen ab, deren Natur noch näher zu bestimmen ist.

Gerbstoff findet sich nur in geringen Spuren und nicht in allen Zellen der Haare von *Momordica*.

Bryonia dioica L.

Die Haare dieser Pflanze verhalten sich ähnlich, wie die von *Momordica*, lassen aber Methylenblau ein wenig leichter eindringen. Nach zweitägigem Aufenthalt in 0,0008 % Methylenblau fand sich deshalb Speicherung in fast allen lebenden Zellen.

Primula chinensis Lindl.

Die Drüsenhaare dieser Pflanze speichern schon nach 24 stündigem Aufenthalt in 0,0008 % Methylenblau den Farbstoff ziemlich reichlich. An Schnittflächen sind dann auch farbiger Zellsaft und farbige Körnchen im Binnengewebe des Blattstiels und theilweise in den Epidermiszellen zu bemerken. In manchen der letzteren findet sich je eine tief blau gefärbte Blase, welche präformirt war, in der aber vielleicht die Ursache der Speicherung nicht durch Gerbsäure bedingt ist. Gerbsäure ist, übrigens in meist nur geringer Menge, in den Haaren, der Epidermis und den Binnenzellen vorhanden.

Mimosa pudica L.

Die Färbung der Gerbsäureblasen ¹⁾ wurde in den Zellen des primären Gelenkes des Blattstiels untersucht, nachdem dieses, der Länge nach gespalten, 2 und 4 Tage in 0,01 % Methylenblaulösung gelegen hatte. In der Nähe der Schnittfläche waren die Blasen sehr tief blau, weiterhin nur schwach blau und endlich gar nicht gefärbt. Direkt durch die Cuticula war selbst nach 4 Tagen nur wenig Methylenblau eingedrungen, denn die Gerbsäureblasen der darunterliegenden Zellen zeigten nur geringe Färbung.

Wie im ungefärbten Zustande vergehen auch die schwach gefärbten Gerbsäureblasen mit jeder Tödtung der Zellen, während sie nach Sättigung mit Methylenblau als farbige Kugeln bleiben und deshalb auch in diesem Zustande in den durch den Farbstoff getödteten Zellen zu finden sind.

Salix spec.

Ein Zweigstück einer unbestimmten Weidenart (vielleicht *S. amygdalina*) wurde mit dem unteren Ende in 0,0008 % Methylenblaulösung gestellt und verblieb in dieser bei einer Temperatur zwischen 44—48° C. vom 6. November bis 4. Dezember. Am Schlusse des Versuchs hatten sich Wurzeln bis zu einer Länge von 60 mm entwickelt und hatte die Flüssigkeit eine etwas leichtere Färbung, etwa einer 0,0005 % Lösung entsprechend, angenommen. Blätter waren nicht entfaltet worden.

Die Gerbsäureblasen waren schön blau gefärbt in der Wurzel, ferner im Zweige auf etwa 7 mm Entfernung von der Schnittfläche und in der nächsten Umgebung des Ursprungsorts der Wurzeln. Außerdem war kein Methylenblau gespeichert und quer durch die Epidermis war dieser Farbstoff also während 28 Tage nicht in merklicher Menge eingedrungen. Mit der Bindung des Farbstoffs musste natürlich das Vorrücken des Methylenblaus von der Schnittfläche aus stark verlangsamt werden.

Von verschiedenen untersuchten Keimpflanzen nenne ich zunächst

1) Über diese vergl. PFEFFER, Physiolog. Unters. 4873. p. 43.

Vicia faba L.

In dieser Pflanze wird in der Mehrzahl der Zellen der Protoplasma-körper mit dem Eindringen des Methylenblaus sehr leicht geschädigt und getötet. Damit zusammenhängend wird in dem immer reichlich speichernden Protoplasma-körper der Farbstoff zurückgehalten und gelangt zunächst nicht in den Zellsaft, welcher meist in großer Menge eisengrünenden Gerbstoff gelöst enthält¹⁾. Inzwischen wird die Struktur des Protoplasmas so weit zerstört, dass der bisher auf den Zellsaft beschränkte Gerbstoff in das Protoplasma und in die Umgebung dringen kann. Das jetzt gefällt werdende gerbsaure Methylenblau mischt sich nun dem schon tief tingirten, körnig aussehenden todten Plasma bei, und bei Mangel an Methylenblau in der Zelle, mag die Fällung wohl theilweise innerhalb oder auch außerhalb der Zellwand zu Stande kommen.

Mit dieser Deutung stehen die thatsächlichen Beobachtungen im Einklang, welche hauptsächlich mit 5—7 cm langen Stengeln von Keimpflanzen und zwar mit den mittleren Internodien angestellt wurden, welche längsgespalten in die Methylenblaulösung kamen. Hatten diese Stengelstücke z. B. 24 Stunden in einer 0,0033 % Methylenblaulösung gelegen, so wurde folgendes beobachtet. Die Epidermiszellen, zu welchen die Cuticula den Farbstoff nur langsam dringen lässt, boten zum Theil im Protoplasma schöne Strömung. Diese war aber schon in allen Zellen erloschen, in welchen das Kernkörperchen eine Spur blauer Färbung erkennen ließ. Als Folge weiterer Einwirkung war in anderen Zellen der ganze Zellkern blau gefärbt und gleich darauf begannen die Chlorophyllkörner und das übrige Plasma Methylenblau zu speichern. Bei ganz matt gefärbtem Plasma lässt sich zuweilen noch der ganze Protoplasma-körper mit Salpeter kontrahiren, bei etwas fortgeschrittenerer Färbung löst sich entweder die Vakuolenwand ab oder auch diese ist desorganisirt und dem Salpeter steht der Eintritt in den Zellsaft offen.

Gleicher Erfolg ist an einem Theil der Binnenzellen in der Nähe der Schnittflächen zu erkennen und in Folge des allmählichen Vorrückens des Methylenblaus nach innen ist an einem entsprechend geführten Längsschnitt die besagte Einwirkung des Methylenblaus in allen Abstufungen zu verfolgen. In einer beschränkten Anzahl der Zellen des Binnengewebes pflegt blauer Zellsaft, z. Th. mit körniger Ausscheidung entstanden zu sein, ohne dass der Protoplasma-körper irgend eine Färbung annahm. In anderen Zellen ist, ohne Färbung des Zellsaftes, eine meist geringe Menge blauen Niederschlags in der Gestaltung wie in der Wurzel von *Azolla* entstanden, während zugleich der Protoplasma-körper ungefärbt ist oder nur eine mehr oder weniger weitgehende Färbung im Kerne aufzuweisen hat.

1) Vgl. KUTSCHER, Flora 1883. p. 54 u. 69. In den hier benutzten Organen von Keimpflanzen war die Gerbsäure eisengrünend.

In diesen Fällen ließ also der Protoplasmakörper den Farbstoff so weit passiren, dass im Zellsaft eine Speicherung eintrat. Das Unterbleiben der Speicherung in anderen Zellen muss mit dem thatsächlich durch die Färbung ausgesprochenen Zurückhalten des Methylenblaus im Protoplasma und den damit verknüpften vorhin geschilderten Folgen zusammenhängen, da nachweislich im Zellsaft der lebenden Zellen Gerbsäure, also ein speichernder Körper, reichlich vorhanden ist.

Die Vertheilung des Gerbstoffs innerhalb der Zelle lässt sich nach dem Vorgehen von DE VRIES¹⁾ verfolgen, indem man die Eigenschaft des Protoplasmakörpers benutzt, mit beginnendem Absterben allmählich permeabler zu werden. Wird z. B. zu einem Schnitt aus dem Stengel von *Vicia faba* eine Lösung von molybdänsaurem Ammon in Chlorammonium gebracht, so beginnt nach einiger Zeit in Folge des Eindringens des Reagens der Zellsaft röthlich zu werden und endlich einen der Gerbsäurereaktion entsprechenden Niederschlag zu bilden, während das Protoplasma dauernd farblos bleibt. Es trifft dieses ebensowohl zu in Zellen, in welchen der ganze Protoplasmakörper kontrahirt, als in solchen, in welcher die Vakuolenwand bei schnellerer Plasmolyse abgerissen wurde. Ebenso kann man mit Kalibichromat das Fehlen des Gerbstoffs im Protoplasma nachweisen. Es färbt sich nämlich nach Plasmolyse mit 5 prozentiger Lösung Salpeter, die $\frac{1}{2}$ Prozent Kalibichromat enthält, der Zellsaft bald rothbraun und beginnt dann die bekannte Ausscheidung der Gerbstoffreaktion zu geben, während das Protoplasma von dieser Reaktion frei bleibt, denn nach Auswaschen mit 5 prozentiger Salpeterlösung erscheint es farblos, so lange die Vakuolenwand den Hinzutritt der Gerbsäure, resp. des mit Kalibichromat entstandenen Produktes verhindert.

Durch Gerbstoff wird also jedenfalls nicht die Färbung veranlasst, welche Methylenblau zunächst im Protoplasmakörper erzeugt. Da dieser aber mit der Tödtung ausgiebiger Methylenblau speichert, als z. B. das Protoplasma in den Wurzelhaaren von *Trianea*, müssen besondere, vielleicht durch stoffliche Qualität bedingte Verhältnisse im Spiele sein. Möglich wäre, dass schon im Leben im Protoplasma von *Faba* eine besondere Affinität zum Methylenblau besteht und dieserhalb jenes leicht geschädigt und getödtet wird, doch lässt sich das nicht nach dem Erfolg behaupten, da die Speicherung erst eintritt, nachdem ein schädlicher Einfluss schon stattgefunden hat.

Mit 0,0008 und 0,01 % Methylenblaulösung fiel das Resultat analog aus, nur kam ein gleicher Erfolg langsamer, resp. schneller zu Stande, als in der 0,0033 % Lösung.

Die nur wenig untersuchte Keimwurzel gab ein im Prinzip ähnliches Resultat. Außer manchen Binnenzellen brachten es namentlich die Zellen

1) Jahrb. f. wiss. Bot. 1885. Bd. 16. p. 575.

der Haube oft zu einer Speicherung im Zellsaft, bevor eine blaue Färbung im Protoplasma eingetreten war. Bemerkenswert mag noch werden, dass die Zellwände, insbesondere die der Wurzelhaare, doch auch vielfach die Wandungen der Zellen des Stengels, sich stark mit Methylenblau färben und sich nicht mit Salpeterlösung entfärben lassen.

Ein einzelner Versuch wurde auch angestellt mit Blättern der Keimpflanze, welche nach einem Aufenthalt von 23 Stunden in einer 0,01 % Methylenblaulösung zur Prüfung kamen. Der Farbstoff war nur an einzelnen Stellen, die dem freien Auge als blaue Flecken kenntlich waren, in's Innere gedrungen. Die so dem Farbstoff zugänglich gewordenen Zellen zeigten ähnliche Verhältnisse wie die parenchymatischen Binnenzellen des Stengelgewebes.

Euphorbia peplus L.

In der Wurzelepidermis dieser Pflanze alternieren reichlich gerbstoffführende Längsreihen mit andern, welche frei sind von Gerbstoff oder nur Spuren dieses Körpers enthalten. Diese gerbstofffreien Zellen pflegen allein Wurzelhaare zu bilden¹⁾, abgesehen von der Keimwurzel, an welcher solche auch aus gerbsäureführenden Zellen entstehen. Wie dem sei, durch Methylenblau wird immer in den gerbsäureführenden Zellen ein feinkörniger blauer Niederschlag von gerbsaurem Methylenblau, etwa so reichlich wie in *Spirogyra* (vgl. Fig. 4), erzeugt, während in den anderen Epidermiszellen, in welchen die Speicherung nicht durch Gerbstoff bedingt wird, schön blauer Zellsaft sich ausbildet, in welchem oft, doch nicht immer, einige blaue Körnchen erscheinen. In dieser Weise färben sich also auch die Haare, und meist nur bei den Keimpflanzen finden sich daneben Wurzelhaare mit blauem Niederschlag. Ähnlich den gerbsäurefreien Zellreihen verhalten sich ferner die Zellen der Wurzelhaube und, der Gerbsäurevertheilung entsprechend, sind im Wurzelparenchym Zellen vorhanden, welche blauen Niederschlag oder blauen Zellsaft durch Methylenblau erhalten.

Die ihrem Inhalt nach verschiedenen Zellen sind sehr ungleich resistent. Während nach 20 stündigem Aufenthalt in 0,0008 % Methylenblaulösung die Epidermiszellen mit blauem Zellsaft leben, sind die gerbsäureführenden Reihen getödtet und enthalten blauen Niederschlag neben dem todtten Protoplasma. Letzteres war aber nach nur 3 stündigem Aufenthalt in obiger Lösung zumeist noch lebend und ungefärbt, während sich im Zellsaft schon der blaue Niederschlag in ziemlich reichlicher Menge gebildet hatte. Ähnlich war das Resultat nach 24 stündigem Verweilen in 0,0001 % Methylenblaulösung.

Viel leichter als die gerbsäurefreien werden die gerbsäureführenden Zellen auch durch Ammoncarbonat getödtet. Dieses erzeugt nur in den

1) Vgl. DARWIN, Linnæan Soc. Journal 1882. Bd. 19. p. 240.

letztgenannten Zellen einen Niederschlag von gerbsaurem Eiweiß, von welchem fernerhin die Rede sein wird (Kap. V).

In Spaltstücken des hypokotylen Gliedes jüngerer Keimpflanzen (die Kotyledonen waren seit kurzem entfaltet) kam durch 0,0008 % Methylenblaulösung nach 24 Stunden in einem Theil der Zellen eine ähnliche Reaktion zu Wege, wie in den gerbsäurefreien Zellen der Wurzel. Der Farbstoff war hauptsächlich von der Schnittfläche aus eingedrungen, doch war an einzelnen Stellen auch durch die intakte Cuticula Methylenblau in die nächst angrenzenden Zellen gelangt.

Auch in den Keimblättern wird Methylenblau gespeichert.

Ricinus communis L.

Die Wurzeln der Keimpflanze von *Ricinus* bieten eine ähnliche Vertheilung von Zellen, die eisenbläuernden Gerbstoff¹⁾ führen, und gerbsäurefreien Reihen, wie die Wurzeln von *Euphorbia pepus*. Mit dieser Pflanze stimmen im wesentlichen, was Niederschlag und geringe Resistenz anbelangt, die gerbsäureführenden Reihen überein. Die alternirenden Zellreihen speichern entweder kein Methylenblau oder färben sich ähnlich, jedoch meist viel schwächer, als die entsprechenden Zellreihen bei *Euphorbia*. Wie bei dieser verhalten sich ferner die Zellen der Wurzelhaube.

In den Zellen des hypokotylen Gliedes findet ebenfalls Speicherung in den gerbsäureführenden Zellen statt und bei Vorhandensein von Gerbsäureblasen färben sich diese. Es gilt dieses ebenso für die von Haus aus roth gefärbten Gerbsäureblasen, welche sich namentlich in den röthlichen Kotyledonen finden.

Cucurbita Pepo L.

An jungen Keimpflanzen, welche im Begriff standen, die Samenlappen aus der Samenschale zu ziehen, wurden die Seitenwurzeln 4. Ordnung untersucht, nachdem sie 24 Stunden in 0,0008 % Methylenblaulösung verweilt hatten.

Außer einer Speicherung in der Haube (farbiger Saft mit blauen Körnchen) fand sich feinkörnige Ausscheidung im jungen Dermatogen und Periblem bis ins Urmeristem. Dann kam eine farblose Zone, doch traten in der noch nicht ganz ausgewachsenen Region wieder Zellen mit blauen Körnchen in der Innenrinde auf, und zerstreut fanden sich im Gefäßbündel Zellen, welche farbigen Saft mit einigen blauen Körnchen führten.

In gleicher Weise ist nach der Reaktion mit Kalibichromat Gerbsäure in übrigens mäßiger Menge vertheilt.

Ähnlich wie *Cucurbita* verhalten sich die Wurzeln der Keimpflanze

1) Vgl. KUTSCHER, Flora 1883. p. 42.

von *Triticum vulgare* Vill. Bei *Zea Mays* L. erstreckt sich diese Ähnlichkeit auf die Spitze der Wurzel, in den älteren Theilen fehlt aber Speicherung. Beide Pflanzen häufen Methylenblau in Zellen der jungen Blätter an.

Allium cepa L.

Die jungen Keimpflanzen dieser Pflanze ergeben Speicherung von Methylenblau in der Wurzelhaube, außerdem in einer Anzahl Zellen der Wurzel und der Kotyledonen. Die im oberen Theil der Wurzel reichlich vorhandenen Öltröpfchen färbten sich nicht.

Auch in jungen Keimpflanzen von *Helianthus annuus* L. blieben die vorhandenen Öltröpfchen ungefärbt, während die an Gerbstoff reichen Zellen viel Methylenblau speicherten.

Speicherung von Methylenblau wurde u. a. noch in den gerbsäureführenden Keimpflanzen von *Phaseolus multiflorus* Willd., sowie in den Keimpflanzen von *Polygonum fagopyrum* L. beobachtet. Bei letzterer Pflanze sind in den Samenlappen sich mit Methylenblau färbende Gerbsäureblasen vorhanden.

Mit negativem Resultat wurden die Wurzeln von *Pistia stratiotes* L. und *Selaginella Kraussiana* Kze. auf Speicherung von Methylenblau untersucht.

Von Farrenkräutern prüfte ich das junge Prothallium von *Ceratopteris thalictroides* Brogn. In allen vegetativen Zellen, doch auch in der Wandung junger Antheridien, entstand eine ganz geringe Menge blauer Körnchen von der Gestaltung wie bei *Azolla*. Die Samenfäden dieses Farrenkrauts schwärmten kurze Zeit in einer 0,0004 % Methylenblaulösung, ohne sich zu färben. Als die Bewegung sich verlangsamte und aufhörte, wurde der Körper des Samenfadens bläulich, die mitgeschleppte Blase blieb ungefärbt.

Unter Laubmoosen fand ich gewisse Speicherung in *Bryum caespiticium* L., welches 20 Stunden in 0,0008 %, resp. 0,01 % Methylenblaulösung gelegen hatte. In den in Streckung übergegangenen jungen Internodien fanden sich in Einzahl und Mehrzahl blaue Kugeln, welche auch in die Basis der ansitzenden Blätter reichten. In den etwas weiter entwickelten Stengeln und Blättern waren diese farbigen Blasen verschwunden, doch kehrten speichernde Blasen in älteren Blättern theilweise wieder. Allgemein zeigten ferner die in den Blattwinkeln stehenden Haare farbige Vakuolen. Bei dem kaum nachweisbaren Gehalt an Gerbsäure in den jungen Internodien mögen diese farbigen Blasen wohl Vakuolen im Zellsaft sein, welche einen besonderen Stoff führen, der mit dem Wachstum verbraucht wird. Diese und andere Fragen werden indess durch nähere Untersuchung zu entscheiden sein.

In *Funaria hygrometrica* Hedw. und *Hypnum aduncum* Hedw. fand ich keine Speicherung von Methylenblau und keine Gerbsäure. Gleiche nega-

tive Resultate erhielt ich mit *Lophocolea bidentata* (L.) und *Plagiochila asplenoides* (L.). In beiden blieben die Ölkörper¹⁾ ungefärbt.

Eine Speicherung von Methylenblau fand sich in *Marchantia polymorpha* L., deren Brutknospen ich untersuchte, nachdem sie auf Wasser Rhizoiden entwickelt hatten. In den Rhizoiden bildete sich in mäßiger Menge ein blauer feinkörniger Niederschlag. Solcher fand sich auch neben farbigem Zellsaft in Zellen der Brutknospe, in welcher außerdem die gerbsäureführenden Ölkörper²⁾ sich blau gefärbt hatten.

3) Qualität der speichernden Stoffe.

Um Speicherung von Methylenblau zu ermöglichen, muss in jedem Falle eine nicht oder doch nur sehr wenig diosmirende Verbindung entstehen. Die Bildung einer solchen im speichernden Zellsaft ist in der That, wie früher (p. 490) gezeigt, unzweifelhaft zu erweisen, ohne dass man im näheren die Stoffe kennen muss, welche sich mit Methylenblau vereinigen, sei es, dass dieses Gerbsäureblasen oder den Zellsaft färbt oder im letzteren eine amorphe oder krystallinische Ausscheidung erzeugt. Über die Qualität der mit der Speicherung entstehenden Methylenblauverbindungen vermag ich keinen allseitigen Aufschluss zu geben, denn nur Gerbsäure ist bis dahin als ein Körper erkannt, der, wo er vorhanden, stets Anhäufung des in die Zelle eindringenden Methylenblaus verursacht. Es ist aber gewiss, dass noch andere und wahrscheinlich verschiedene Stoffe Speicherung veranlassen können, welche z. B. in den Blättern von *Elodea canadensis*, in *Saprolegnia ferax*, *Oedogonium* spec., in der Wurzel von *Lemna* eintritt, obgleich diese Pflanzen keine Gerbsäure oder doch nur eine so verschwindende Menge Gerbsäure enthalten, dass diese die weitgehende Speicherung nicht verursachen kann. Überhaupt scheint nicht Gerbsäure, sondern gewöhnlich ein anderer Körper, die Ursache der Anhäufung zu sein, wo tief farbiger Zellsaft oder eine ausgesprochen krystallinische Ausscheidung entsteht. Natürlich können in einer Zelle gleichzeitig Gerbsäure und ein oder einige Stoffe die Anhäufung von Methylenblau verursachen.

Die Gerbsäureblasen färben sich ihrer ganzen Masse nach, wo aber Gerbsäure im Zellsaft gelöst ist, entsteht der Regel nach der beschriebene feinkörnige Niederschlag (vergl. Fig. 1, 3, 4, 6). Dieser enthielt in den Pflanzen, deren Niederschlag näher untersucht wurde, bei *Azolla*, *Spirogyra communis*, *Trianea* und *Euphorbia pepus*, neben gerbsaurem Methylenblau eine gewisse Menge eines eiweißartigen Körpers. Ob ein solcher immer vorhanden ist, muss zweifelhaft scheinen. Jedenfalls würden die Eigenschaften des gerbsauren Methylenblaus eine Speicherung ohne solche Bei-

1) Vergl. PFEFFER, Flora 1874. p. 2.

2) Vergl. PFEFFER, l. c. p. 25.

mengung ermöglichen, welche bei besagten Pflanzen Proteinstoffen entstammt, die im Zellsaft zugleich mit Gerbsäure gelöst sind. Da aber gelöste Eiweißstoffe für sich Methylenblau nicht zu speichern vermögen, die Gerbsäure also jedenfalls die Ursache der Ausscheidung ist, so dürfen wir diesen Niederschlag als gerbsaures Methylenblau bezeichnen. Dabei ist nicht ausgeschlossen, dass die mit niedergerissenen Proteinstoffe bei der Speicherung des Farbstoffs mehr oder weniger mitwirken.

Der Beweis, dass Gerbsäure die Speicherung von Methylenblau verursacht, wird durch Folgendes geliefert. Alle Zellen, in welchen mikrochemisch Gerbsäure zu erkennen ist, speichern Methylenblau. Gerbsäure ist direkt in dem entstandenen blauen Niederschlag nachzuweisen, welcher in seinen Eigenschaften dem gerbsauren Methylenblau entspricht. Letzteres vermag, in gelöster Form von außen dargeboten, nicht seinen Weg in die lebendige Zelle zu finden¹⁾. Wird in den vorhin genannten Pflanzen durch Ammoncarbonat ein aus gerbsaurem Eiweißstoff entstehender Niederschlag erzeugt, so ist in diesem der speichernde Körper enthalten, denn nun entsteht durch Methylenblau keine weitere Fällung im Zellsaft, während sich der Niederschlag schön blau färbt.

Es mögen hier zunächst einige Eigenschaften des durch Fällung mit Tannin (Galläpfelgerbsäure) dargestellten gerbsauren Methylenblaus mitgeteilt werden. Es ist dieses ein feinkörniges Pulver, welches in reinem Zustande sich so wenig in kaltem Wasser löst, dass eine Färbung erst in dickerer Schicht zu erkennen ist. In warmem Wasser, ebenso in kaltem und besonders in heißem Alkohol löst sich etwas mehr gerbsaures Methylenblau. In etwas erheblicherem Maße wird gerbsaures Methylenblau von verdünnten Säuren, Zitronensäure, Salzsäure u. a. aufgenommen, und aus der heiß gesättigten Lösung setzen sich mit dem Erkalten feinkörnige Massen ab, die in ihrer Gestaltung zuweilen einigermaßen den in den Zellen entstehenden Niederschlägen gleichen. Selbst 0,00014 % Zitronensäure wirkt zwar schwach, doch merklich lösend. Auch Gerbsäure hat eine, doch viel schwächer lösende Wirkung. Ätzkali löst leicht.

Trotz dieser Unlöslichkeit des gerbsauren Methylenblaus entsteht in einer tief blauen Lösung des möglichst reinen Farbstoffs, sowohl der Handelswaare, als der freien Base, durch eine unzureichende oder überschüssige Menge von Gerbsäure während einiger Tage kein Niederschlag. Dieser erscheint aber sogleich nach Zusatz irgend eines Salzes und die Anwesenheit von $\frac{1}{10}$ % Salpeter oder $\frac{1}{4}$ % Zucker genügen, um den Niederschlag sofort entstehen zu machen. Mit einer solchen salzfreien Lösung von gerbsaurem Methylenblau lässt sich der Nachweis führen, dass die Verbindung durch lebende Pflanzenzellen nicht diosmirt (vgl. Kap. XVIII).

1) Vergl. Kap. XVIII. Dort ist auch die geringe Aufnahme von Methylenblau besprochen, welche *Azolla* unter solchen Umständen zu Wege bringt.

Worauf die merkwürdige Eigenschaft vieler Farbstoffe, durch Salzlösungen ausgeschieden zu werden, beruht, ist unaufgeklärt und bedarf hier keiner Diskussion. Jedenfalls ist der Gehalt gelöster Stoffe im Zellsaft immer ausreichend, um ausfällend zu wirken. Doch mögen im Zellsaft hier und da besondere Dispositionen bestehen, welche eine Ausfällung theilweise oder ganz verhindern können. In der That wird solches durch Beobachtungen von gefärbtem Zellsaft in einzelnen Zellen von *Spirogyra communis* und in der Epidermis von *Trianea* wahrscheinlich gemacht. In geringen Spuren wird gerbsaures Methylenblau stets in dem Zellsaft gelöst sein, da Salzlösungen keine absolut vollständige Ausscheidung erzielen. In etwas vermögen auch auf Lösung freie Säuren hinzuarbeiten, doch sind diese in den sich färbenden Zellen zumeist in zu geringer Menge vorhanden, um sehr wirksam einzugreifen, wie aus dem Verbleiben des Farbstoffs in der Zelle zu schließen ist (vgl. Kap. XVIII).

In den näher untersuchten Pflanzen befand sich bei Gegenwart von Gerbsäure neben dieser ein gelöster Proteinstoff. In der That ist gerbsaures Albumin in verdünnter Zitronensäure (auch in anderen Säuren, etwas auch in Gerbsäure) ziemlich löslich und Ammoncarbonat erzeugt durch Neutralisation der Säure im Reagenrohr eine amorphe Fällung, wie sie auch im Zellsaft der fraglichen Pflanzen entsteht (Kap. V). Dieser Niederschlag speichert Methylenblau, ist aber feinkörniger und demgemäß im gefärbten Zustande verschieden von der durch Methylenblau in der Zelle erzielten Fällung. Diese Beobachtung, sowie der Umstand, dass Methylenblau aus saurem und sauer bleibendem Zellsaft die übliche Fällung erzielt, lehren, dass es sich hier nicht um Ausscheidung von gerbsaurem Albumin handelt, welches dann als Niederschlag den Farbstoff speichert.

In Übereinstimmung mit diesen Schlussfolgerungen steht das Verhalten der mit gerbsaurem Albumin (aus Hühnereiern) gesättigten verdünnten Zitronensäure. Ist solche Lösung möglichst frei von Salzen und genügend verdünnt, so erzeugt Methylenblau keinen Niederschlag, der aber nach Zusatz von etwas Salpeter ebenso und in ähnlicher Gestaltung entsteht, wie mit Gerbsäure allein. Nach einer nur flüchtigen Prüfung enthält der so erzeugte Niederschlag etwas Albumin, und so ist auch verständlich, wie in der in der Zelle unter ähnlichen Bedingungen entstandenen Methylenblaureaktion Proteinstoffe sich finden. Vielleicht werden diese nur mitgerissen, indem der sich ausscheidende Farbstoff in analoger Weise den gelösten Proteinstoff an sich reißt, wie dieser in ungelöster Form den Farbstoff speichert. Ob dem so ist, oder ob irgend eine festere Vereinigung besteht, ist nicht zu sagen, und so muss dahin gestellt bleiben, ob der im Niederschlag befindliche Eiweißstoff, welcher bei der Speicherung mithilft, nicht dahin wirkt, dass der blaue Niederschlag fester und dauernder in der Zelle zurückgehalten wird, als es der Fall sein würde, wenn reines gerbsaures Methylenblau sich ausgeschieden hätte. Ob letzteres vorkommt, weiß ich

nicht, jedenfalls war in den näher untersuchten Fällen Gerbsäure immer vereint mit einem Eiweißstoff im Zellsaft gelöst vorhanden (vergl. Kap. V u. VI).

Der durch Methylenblau in lebenden Zellen von *Azolla*, *Spirogyra communis*, *Euphorbia pepylus* reichlich, in der Wurzelepidermis von *Trianea* spärlicher entstehende Niederschlag wird (dem Verhalten des gerbsauren Methylenblaus entsprechend) schnell, doch nicht mit gleicher Schnelligkeit in allen Pflanzen, entfärbt, wenn die Objekte, nachdem sie zuvor zum Sieden erhitzt sind, in Wasser, Alkohol, verdünntes Kali, 1 % Zitronensäure oder verdünnte Salzsäure gebracht werden. In kaltem Wasser erhält sich der blaue Niederschlag einige Tage, in kaltem Alkohol war er nach 2 Wochen bis 2 Monaten entfärbt, während 2 tägige Digestion mit 1 % Zitronensäure zur Beseitigung der Farbe hinreichte.

Besonders nach dem Behandeln mit kaltem oder heißem Alkohol ist eine ziemliche Menge eines farblosen Rückstandes zu erkennen, der in verdünnten Säuren und Alkalien sich nicht löst und mit Jod sich bräunt, also wohl sicher aus einem in die unlösliche Modifikation übergegangenen Eiweißstoff besteht. Dieser Rückstand bleibt augenscheinlich auch beim Kochen mit Wasser oder verdünnter Säure, doch ist er hier weniger deutlich, insbesondere der Deformation des Protoplasmas halber, wodurch überhaupt die sichere Beobachtung erschwert wird. Es ist wohl möglich, dass erst mit dem Tode sich fremde Körper dem Niederschlag beigesellen, doch spricht die Erfahrung z. B. beim plötzlichen Fixiren durch Alkohol dafür, dass schon primär der Eiweißkörper im blauen Niederschlag enthalten war. Mit dem Weglösen des gerbsauren Methylenblaus aus diesem bleibt dann der koagulierte Proteinstoff zurück. Eine Speicherung des sich lösenden Farbstoffs im Protoplasma unterbleibt, weil letzterem durch die genannten Agentien das Methylenblau entzogen wird, doch tritt solche Speicherung hervor, wenn die Präparate unter Deckglas mit wenig Wasser erwärmt werden, und besonders bei Vorhandensein der in Wasser leichter löslichen krystallinischen Auscheidungen ist unter solchen Umständen Speicherung im Protoplasma deutlich zu verfolgen.

Um die Gerbsäure in dem Methylenblau-Niederschlag nachzuweisen, wurden gefärbte *Azolla*, *Spirogyra*, *Euphorbia*, *Trianea* mit Kalibichromatlösung, welcher ganz wenig Schwefelsäure zugesetzt war, 8 Tage lang digerirt. Nach dem Auswaschen und Erwärmen mit verdünnter Zitronensäure verblieb der Niederschlag mit Farbe und Eigenschaften der bekannten Gerbsäurereaktion. Der Umsatz der Gerbsäure geht in diesem Falle, nach einem Versuche mit künstlichem gerbsauren Methylenblau, nur langsam von statten und ist vielleicht nur unvollkommen. Jedenfalls ist aber der Niederschlag nach der Digestion noch blau gefärbt, weil chromsaures Methylenblau fast unlöslich ist und Eiweißstoffe zudem den Farbstoff zurückhalten. Deshalb tritt die Gerbsäurereaktion erst nach dem Erhitzen mit verdünnter Zitronensäure rein hervor.

Die Erfahrungen mit Gerbsäureblasen stehen mit dem oben Mitgetheilten im Einklang. Für solche Gerbsäureblasen wurde u. a. die Färbung beobachtet in *Zygnema*, *Mesocarpus*, *Mimosa*, *Salix*, *Ricinus*, *Polygonum fagopyrum*, die Eigenschaften der gefärbten Blasen wurden aber sorgfältig nur bei *Zygnema* und anschließend bei *Mimosa pudica* und *Salix* verfolgt. Bei diesen Pflanzen wenigstens enthalten die fraglichen Blasen neben Gerbsäure immer noch andere Körper, welche eiweißartige und schleimige Körper sein mögen.

Während die Gerbsäureblasen mit der Tödtung der Zelle, mag diese erreicht sein wie immer, schnell in Wasser vergehen¹⁾, bleiben sie nach vollständiger Färbung mit Methylenblau erhalten. Durch Kochen in Wasser, Alkohol oder verdünnter Zitronensäure können die blauen Gerbsäureblasen aber entfärbt werden unter Hinterlassung eines ansehnlichen Rückstandes, welcher mit Jod und MILLON'S Reagens die Reaktion der Proteinstoffe zeigt und Karmin speichert. Dieser Rückstand ist bei *Zygnema* ansehnlicher als bei *Mimosa*, bei der, wohl wesentlich nur der Größe der Blasen halber, die Entfärbung viel schwieriger zu erreichen ist.

Die Eigenschaft der Blasen, sich in Wasser zu lösen oder zu vertheilen, welche demgemäß mit jeder beliebigen Tödtung der Zelle eintritt, hängt also von der Gerbsäure ab, die nach der Einwirkung in schwerlösliches gerbsaures Methylenblau verwandelt ist, welches durch Lösungsmittel allmählich entzogen wird. Dabei kann zunächst dahin gestellt bleiben, ob die sich lösende Gerbsäure eine Vertheilung beigemischter Substanz erzielt oder ob diese in einer löslichen Verbindung mit Gerbsäure in den Blasen besteht, wofür allerdings Beobachtungen zu sprechen scheinen. Insbesondere geht aus noch mitzutheilenden Beobachtungen (Kap. VI) hervor, dass in der Wurzel von *Azolla* durch Plasmolyse Ausscheidungen von gerbsaurem Eiweißstoff in Gestalt von Gerbsäureblasen erzielt werden können. Weiter erhalten sich die Gerbsäureblasen von *Zygnema* bei plötzlicher Einwirkung von absolutem Alkohol. Nachdem sie in einer größeren Menge dieses während 4 Monate zugebracht hatten, vergingen sie noch bei Zutritt von Wasser und ließen noch reichlichen Gehalt von Gerbsäure erkennen. Da diese aber in Alkohol leicht löslich ist, so wäre sie in dieser Zeit entfernt worden, wenn sie nicht in den Blasen in Form einer in Alkohol unlöslichen Verbindung sich fände, wie solche ja thatsächlich Gerbsäure z. B. mit Proteinstoffen bildet²⁾.

Wie die Gerbsäure selbst werden auch die neben dieser vorhandenen Stoffe weder in qualitativer, noch quantitativer Hinsicht in allen Fällen

1) Vergl. PFEFFER, *Physiol. Unters.* 1873. p. 43.

2) Auf solchen Verbindungen mag es wohl zum Theil beruhen, dass sich die Gerbsäure oft nicht vollständig mit Alkohol aus Pflanzen ausziehen lässt. Vergl. z. B. DRAGENDORFF, *Analyse von Pflanzen und Pflanzentheilen.* 1882. p. 38.

dieselben sein, und das Vorkommen freier Gerbsäure ist natürlich nicht ausgeschlossen. Solche Unterschiede werden z. B. dadurch gekennzeichnet, dass nach Sättigung mit Methylenblau die Gerbsäureblasen in *Zygnema* in verdünntem Kali sich erhalten und beim Erwärmen unter Hinterlassung eines Rückstandes sich entfärben, während die Blasen in den Gelenken von *Mimosa pudica* bei gewöhnlicher Temperatur durch Kali zu schnellem Aufquellen, und damit, unter Vertheilung z. Th. ungelöst bleibender Stoffe, zum Verschwinden gebracht werden. Die Qualität der neben der Gerbsäure vorhandenen Stoffe habe ich nicht näher zu präzisiren versucht. Die oben mitgetheilten Reaktionen deuten zwar auf einen Proteinstoff hin, doch könnten auch andere Körper, z. B. Schleimstoffe, in den Blasen vorhanden sein ¹⁾. In allen beobachteten Fällen wenigstens wurde durch die üblichen Reagentien ein ansehnlicher Gehalt an Gerbsäure in den fraglichen Blasen angezeigt und, ohne die Mitwirkung anderer Stoffe bestreiten zu wollen, dürfen wir, wie in dem feinkörnigen Niederschlag, die Gerbsäure als die Ursache der Speicherung des Methylenblaus ansprechen.

Die Gerbsäureblasen habe ich in *Zygnema* und ebenso in *Mesocarpus* stets gefunden, während daneben Öltropfen nur unter schlechten Kulturbedingungen aufzutreten scheinen ²⁾. Diese Öltropfen sind als solche durch die üblichen Reagentien leicht zu erkennen und speichern kein Methylenblau.

Wenn bisher für alle Gerbstoffe, welche als solche durch die Reaktionen mit Kalibichromat, Eisen ³⁾ und molybdänsaurem Ammon in Chlorammonium ⁴⁾ sich zu erkennen gaben, Speicherung des Methylenblaus in gleicher Weise zu konstatiren war, so kann damit doch nicht ein identisches Verhalten für alle die zahlreichen Gerbstoffe gefordert werden, welche ja thatsächlich zum Theil wesentliche Differenzen in ihrem Verhalten bieten. Eine nähere Unterscheidung in dieser Richtung wäre bei der derzeitigen

1) Beiläufig sei hier nur erwähnt, dass Quecksilberchlorid enthaltender Alkohol die Gerbsäureblasen von *Zygnema* nicht unlöslich in Wasser macht, ebenso nicht Kochen in Alkohol. Wenigstens ein Proteinstoff von der Qualität des Albumins kann also nicht vorliegen.

2) Vergl. diese Arbeit p. 218 und SCHMITZ, Die Chromatophoren d. Algen 1882. Die Natur dieser Bläschen wurde von PRINGSHEIM (Jahrb. f. w. Bot. 1879—84, Bd. 12, p. 334) in *Mesocarpus scalaris* richtig erkannt. In dieser Alge liegen die Bläschen vorwiegend der Chlorophyllplatte an, und hierdurch veranlasst, sprach sie PRINGSHEIM als Produkte der Chlorophyllkörper an. Mit SCHMITZ (l. c. p. 464) kann ich mich dieser Deutung nicht anschließen, zu welcher die Lagerung der Gerbsäurebläschen in *Zygnema* auch keine Veranlassung gibt (vergl. p. 216). Die Entstehung dieser Bläschen, die offenbar vielfach mit Öltröpfchen verwechselt wurden, ist noch nicht näher verfolgt.

3) Zumeist führte ich die Eisenreaktion in der von MOLL angegebenen Weise aus. Botan. Centralblatt 1883. Bd. 24. p. 250.

4) Eingeführt von GARDINER, Proceedings of Cambridge Philosoph. Soc. Vol. IV.

Sachlage kaum möglich und wurde nicht erstrebt. Nach den Erfahrungen verhalten sich wenigstens eisenbläuende und eisengrünende Gerbstoffe gleich. Denn in der Epidermis von *Trianea*, in welcher ein eisengrünender Gerbstoff sich findet, fällt die Speicherung und die Gestaltung im wesentlichen ebenso aus, wie etwa in *Azolla*, *Spirogyra*, *Euphorbia peplus*, deren Gerbstoff eisenbläuend ist. Auch steht die ungleiche Widerstandsfähigkeit verschiedener Pflanzen gegen Methylenblau in keiner Beziehung zur Qualität des Gerbstoffs.

Ziemlich häufig ist die Anhäufung des Methylenblaus durch andere Körper bedingt, welche neben Gerbsäure oder ohne solche sich in der Zelle finden. So fehlt die Gerbsäure ganz oder ist doch nur in einer gegenüber der ansehnlichen Speicherung verschwindenden Menge enthalten in *Elodea*, *Saprolegnia ferax*, *Oedogonium*, in der Wurzel von *Lemna minor*, in den haarfreien Längsreihen der Wurzel von *Euphorbia peplus*, in den Wurzelhaaren von *Trianea*. Wie in diesen letzteren und in der Wurzel von *Lemna minor* neben der sehr geringen Menge von Gerbstoff ein anderer speichernder Stoff zweifellos vorhanden ist, dürfte eine solche Vereinigung, in welcher natürlich auch die Gerbsäure dominieren kann, überhaupt häufig vorkommen. So vermüthe ich, dass bei *Trianea* (Fig. 5) und *Lemna* (Fig. 8) die geringe Menge feinkörnigen Niederschlags die Gerbsäure enthält, während ein anderer Körper die farbige Lösung bedingt. Ähnliches mag in den Haaren von *Momordica elaterium*, *Bryonia dioica*, *Primula chinensis*, in der Wurzel von *Zea Mais*, *Allium cepa* und überhaupt öfters geboten sein.

Ohne weiteres kann man keinenfalls alle feinkörnigen Niederschläge als gerbsaures Methylenblau ansprechen, und wenn dieses der Regel nach als Niederschlag sich ausscheidet, so wurde doch schon hervorgehoben, wie unter besonderen Umständen auch wohl gerbsaures Methylenblau im Zellsaft gelöst enthalten sein mag. Zweifellos fehlt aber Gerbsäure in den krystallinischen blauen Ausscheidungen in *Zygnema*, in der Wurzel von *Lemna*, in den Wurzelhaaren von *Trianea* und in den Blättern von *Elodea*. Die krystallinischen Ausscheidungen dürften wohl sämmtlich keine Gerbsäureverbindung sein, denn die Verbindung des Methylenblaus mit Galläpfelgerbsäure ist nicht merklich krystallinisch, und wo in lebenden Zellen gerbsaures Methylenblau vorlag, hatte dieses eine feinkörnige Beschaffenheit.

In allen Fällen, in welchen die Speicherung nicht durch Gerbsäure bedingt wird, ist die Natur des die Anhäufung von Methylenblau verursachenden Körpers nicht erkannt. Dieser ist nicht derselbe in allen Pflanzen, wie aus dem später mitzutheilenden Verhalten verschiedener Pflanzen gegen verschiedene Anilinfarben hervorgeht. Die Beobachtungen mit Methylenblau erlauben in dieser Richtung keinen bestimmten Schluss. Denn die nachträgliche Ausscheidung der zuvor gelösten Methylenblauverbindung in Wurzelhaaren von *Trianea* (p. 208) und in *Zygnema* (p. 216) lehrt, dass über Gelöstbleiben und Auskrystallisiren die besonderen Verhältnisse im

Zellsaft entscheiden können, und diese mögen auch Einfluss auf die Gestaltung krystallinischer Ausscheidungen haben, deren näheres Studium möglicherweise in unserer Frage einmal gewissen Aufschluss geben kann.

Bei solcher Sachlage kann man auch nicht behaupten, dass z. B. in den Blättern von *Elodea* im farbigen Zellsaft eine andere Verbindung vorliegt, als in den ausgeschiedenen Krystallen. Die Ausscheidung ist aber, wenigstens für konkrete Fälle, nicht von Sättigung mit Methylenblau oder von Konzentration des Zellsaftes abhängig, denn die Wurzelhaare von *Trianea* entfärben sich unter Auskrystallisiren einer Methylenblauverbindung auch dann, wenn der Zellsaft nur eine unzureichende Menge von Methylenblau erhält, und in der Wurzel von *Lemna minor* (p. 244) bewirkt weitgehende Plasmolyse keine Ausscheidung in dem tief gefärbten, mit Methylenblau gesättigten Zellsaft. Übrigens können Salzlösungen, wie schon früher bemerkt, einen großen Einfluss auf die Ausscheidung von Methylenblauverbindungen haben, und auch bei Darstellung der Handelswaare wird das Aussalzen in Anwendung gebracht. Doch kann durch solche Ausscheidung eine Speicherung im Zellsaft nicht erzielt werden. Denn da die Ausscheidung immer nur unvollständig ist, würde eine diosmirende Verbindung endlich ganz aus der Zelle entfernt werden.

Die Zellen, deren Vakuolenflüssigkeit mit Methylenblau gefärbt ist, ergeben mit dem Tode in bekannter Weise Färbung des Protoplasmas und Exosmose des Farbstoffs. Die ausgeschiedenen Krystalle sind bei *Zygnema*, *Trianea*, *Lemna* und *Elodea* schwer in kaltem, aber ziemlich leicht in heissem Wasser löslich. Darin weichen diese Krystalle von der leicht in kaltem Wasser löslichen Handelswaare des Methylenblaus ab, und hierin liegt ein weiteres sicheres Argument, dass die Krystalle eine von der Handelswaare verschiedene Verbindung des Methylenblaus sind. Das Fehlen von Gerbsäure in den Krystallen der Wurzel von *Lemna minor* und von *Zygnema* geht auch daraus hervor, dass beim Liegen in Kalibichromat im Laufe einiger Tage Lösung erfolgt, ohne dass eine Gerbsäurereaktion eintritt.

Schon mit Rücksicht auf die unzureichende Kenntniss der Methylenblauverbindung lässt sich nicht wohl eine Vermuthung über die mit der Speicherung entstehenden Verbindungen aussprechen. Ein Versuch, die krystallisirende Verbindung in den Blättern von *Elodea* aus der mit Farbstoff behandelten Pflanze zu gewinnen, führte zwar zu keinem Ziele, doch möchte ich Wiederholung empfehlen.

Ob ein Körper fähig ist, Anhäufung von Methylenblau zu bewirken, lässt sich ermitteln, indem man ihn im Vereine mit dem Farbstoff geeigneten Pflanzen darbietet, denn die Speicherung in diesen unterbleibt, sofern die Verbindung nicht diosmirt, wie bereits hinsichtlich des gelösten gerbsauren Methylenblaus mitgetheilt wurde. In dieser Weise wurden das zitronensaure, chinasäure und gallussaure Salz der Base, ferner Methylen-

blau im Vereine mit Albumin, Eiweiß oder Rohrzucker geprüft, und in allen Fällen wurde eine Speicherung in den Versuchspflanzen gefunden (vergl. Kap. XVIII, 4). In Übereinstimmung mit diesen Versuchen geht auch aus der Nichtanhäufung des Methylenblaus in Zellen, welche gelöste Eiweißstoffe, Rohrzucker, Glykose, Glykogen (*Pilobolus*) enthalten, hervor, dass diese Stoffe eine Speicherung des Farbstoffs nicht veranlassen können. Welcher Art der Stoff oder die Stoffmischung ist, welche Speicherung verursacht, jedenfalls lässt sich nicht von vornherein vermuthen, dass diese Körper mit dem Gerbstoff chemisch verwandt oder dessen physiologische Vertreter sein müssen.

Abgesehen von Fremdkörpern in Myxomyceten, Amöben und Infusorien wurden von geformten Körpern bisher nur Gerbsäureblasen und die Gerbsäure führenden Ölkörper speichernd gefunden. Der Protoplasmakörper mit seinen Organen, also auch Zellkern, Chlorophyllkörner, Stärkebildner, zeigte während des Lebens nie eine Speicherung von Methylenblau. Eine solche vermisste ich auch in den Krystalloiden von *Pilobolus*, in gerbsäurefreien Ölkörpern der Lebermoose und in Öltropfen bei *Vaucheria* und bei Keimpflanzen von *Allium cepa*. Auch Mandelöl nahm beim Schütteln mit Methylenblaulösung keinen Farbstoff auf. Weitere Forschungen lehren aber vielleicht andere geformte Körper kennen, welchen Speicherungsvermögen zukommt, und vielleicht ist in den von mir beobachteten sich färbenden Bläschen im jungen Stengel von *Bryum caespiticium* und *Primula chinensis* nicht Gerbsäure die Ursache der Anhäufung des Methylenblaus.

V. Fällungen durch Ammoncarbonat im Zellsaft.

Wiederholt wurde auf eine Fällung hingewiesen, welche Ammoncarbonat bei verschiedenen Pflanzen in dem Vakuolensaft lebendiger Zellen erzeugt. Um den Zusammenhang dieser an sich interessanten Ausfällung mit der Speicherung des Methylenblaus zu kennzeichnen, ist ein Eingehen auf diese Ammoncarbonatfällung um so mehr geboten, als CH. DARWIN, welcher diese Fällung entdeckte, Ursache und Qualität der Ausscheidung nicht erkannte.

Wenigstens in den näher untersuchten Pflanzen besteht dieser Niederschlag wesentlich aus gerbsaurem Eiweißstoff, welcher in saurem Zellsaft gelöst war und durch den Zutritt von Ammoncarbonat oder anderen Alkalien ausgefällt wird. Dieses, wie die Wiederauflösung nach Entfernung des Fällungsmittels, kann sich ohne Schädigung des Lebens vollziehen. In der Wurzel von *Azolla*, *Euphorbia peplus*, *Ricinus*, in *Spirogyra* und anderen Pflanzen ist der farblose oder gelbbraunliche Niederschlag der Methylenblaufällung gestaltlich ähnlich, doch zumeist feinkörniger als diese. Indess findet in anderen Pflanzen ein Zusammenballen des zunächst feinkörnigen Niederschlags zu größeren Körpern statt, so insbesondere in den

Drüsenhaaren von *Drosera*, wo dieses Zusammenballen unter den Augen des Beobachters zu verfolgen ist. Zwischen diesen Extremen werden sicherlich Zwischenformen aufgefunden werden, worauf schon Beobachtungen DARWIN'S¹⁾ in den Wurzeln von *Sarracenia* und *Pelargonium* hindeuten. In wie weit das Zustandekommen oder Unterbleiben weiterer Zusammenballung in der stofflichen Qualität des Niederschlags, in besonderen im Zellsaft gebotenen Bedingungen oder in anderen Ursachen begründet ist, muss dahin gestellt bleiben. Übrigens wird in der Wurzel von *Azolla* das gerbsaure Eiweiß durch Ammoncarbonat feinkörnig ausgeschieden, während es bei plasmolytischer Ausscheidung größere kugelige Massen bildet (vergl. Fig. 2).

Sogleich nach der Fällung, und anscheinend so lange die Zelle lebendig ist, kann sich der Niederschlag, nach Entfernung des Fällungsmittels, wieder im Zellsaft lösen. Mit der Tödtung der Zellen geht der feinkörnige Niederschlag meist ziemlich bald in eine unlösliche Modifikation über, welche sich, wie koagulierte Eiweißstoffe, sehr resistent gegen Reagentien erweist. Nur diese unlösliche Modifikation hat DARWIN geprüft, welcher die Eigenschaften des feinkörnigen Niederschlags vor der Koagulation sowie dessen Wiederauflösung im Zellsaft übersah und demgemäß einen wesentlichen Unterschied von der genannten Ausscheidung in Drüsenhaaren von *Drosera*²⁾ zu finden glaubte, in denen die Wiederauflösung von DARWIN schon früher entdeckt wurde. Thatsächlich löst sich aber die Ammoncarbonatfällung in lebenden Zellen von *Spirogyra* nach Entfernung des Reagens schneller, als in den Drüsenhaaren von *Drosera*, und auch die in diesen entstehende Ausscheidung geht mit dem Tode der Zelle früher oder später in die unlösliche Modifikation über³⁾.

Diese allgemeinen Erfahrungen basiren auf Versuchen mit *Spirogyra*, sowie mit der Wurzel von *Euphorbia peplus*, *Azolla caroliniana*, gelten aber auch, soweit geprüft wurde, für andere Fällungen durch Ammoncarbonat, so für die Wurzeln von *Ricinus* und *Trianea* und für die Drüsenhaare von *Drosera rotundifolia*. Abgesehen von *Drosera* studierte CH. DARWIN⁴⁾ nament-

1) Linnean Soc. Journal 1882. Bd. 49. p. 249, 258.

2) L. c. p. 259.

3) PFEFFER, Osmot. Untersuchungen 1877. p. 197.

4) Bei seinen Studien über insektenfressende Pflanzen entdeckte Darwin in den Drüsenhaaren von *Drosera* u. s. w. die Fällung durch Ammoncarbonat und behandelte beiläufig auch die feinkörnige Fällung in den Wurzeln von *Euphorbia peplus* (Insektenfressende Pflanzen, deutsch von CARUS 1876. p. 56). Diese feinkörnige Fällung in verschiedenen Pflanzen wurde späterhin (Linnean Soc. Journal 1882. Bd. 49. p. 239 ff.) von CH. DARWIN näher behandelt. Vielleicht gehören auch einige der von DARWIN (Insektenfr. Pflanzen 1876. p. 341) für Drüsenhaare anderer Pflanzen beschriebenen Beobachtungen hierher. Andere Einwirkungen des Ammoncarbonats, wie die Deformation der Chlorophyllkörper (vgl. DARWIN 1882, l. c. p. 262), sind hier nicht zu berücksichtigen.

lich in der Wurzel von *Euphorbia peplus* den feinkörnigen Niederschlag, der seinen Mittheilungen nach in der Mehrzahl der zahlreichen anderen geprüften Pflanzen von wesentlich gleicher Qualität zu sein scheint. In einigen Fällen bemerkte jedoch DARWIN gewisse Unterschiede und ich will nicht behaupten, dass die Ammoncarbonatfällung in allen Fällen identisch ist, denn es könnten mit der Neutralisation des Zellsaftes sehr wohl andere zuvor gelöste Körper, z. B. Phosphate der alkalischen Erden, zur Ausscheidung gebracht werden ¹⁾.

Besonders schön ist Bildung und Wiederauflösung des Niederschlags in *Spirogyra communis* zu verfolgen ²⁾. Lässt man unter Deckglas verdünnte Lösung von Ammoncarbonat (z. B. 0,4 %) hinzutreten, so erscheint fast augenblicklich eine große Menge feinkörnigen Niederschlags, welcher den ganzen Zellsaft trübe macht und, bei Verwendung einer größeren Menge von *Spirogyra*, dem freien Auge diese mit verändertem Kolorit erscheinen lässt. Nach vollständigem Auswaschen des Ammoncarbonats beginnt sogleich die Lösung des Niederschlags, der schon nach einer bis einigen Minuten verschwunden sein kann, ohne dass während dieser ganzen Operationen ein Stillstand der Protoplasmaströmung eingetreten wäre. Die schon unter besagten Umständen schnelle Wiederauflösung des Niederschlags kann man noch beschleunigen, indem man nach dem Auswaschen des Ammoncarbonats die Alge in eine verdünnte Lösung von Zitronensäure (etwa 0,02 %) bringt.

Sehr schnell reagirt auch, wie schon DARWIN hervorhob, die Wurzel von *Euphorbia peplus*, in der nach dem Eintauchen in 0,4 % Lösung von Ammoncarbonat in wenigen Augenblicken ein ebenso reichlicher Niederschlag wie in *Spirogyra communis* eintritt. In dieser Wurzel ist der Niederschlag auf die schon früher erwähnten gerbsäureführenden Längsreihen beschränkt, welche mit gerbsäurefreien Reihen alterniren. Nicht so schnell reagirt *Azolla*, deren Wurzel in 0,4 % Ammoncarbonatlösung indess im Laufe von $\frac{1}{2}$ —4 Stunden sehr reichlichen Niederschlag, besonders in den Haaren ausbildet, welcher sogleich entsteht, wenn man die Wurzel in 4 % Lösung von Ammoncarbonat eintaucht.

Wie mit Verdünnung der Lösung das Erscheinen des Niederschlags in jeder Pflanze verzögert wird, darf ich hier mit Hinweis auf CH. DARWIN'S Abhandlung übergehen. Doch will ich nicht versäumen zu bemerken, dass bei genügender Verdünnung überhaupt Ausfällung nicht mehr eintritt, in *Azolla* z. B. nicht in einer Lösung mit 0,003 % Ammoncarbonat. Dieses Resultat ergibt sich naturgemäß als Resultante, da die Thätigkeit der Zellen auf eine Wiederauflösung gerichtet ist.

1) Vergl. PFEFFER, Physiologie Bd. I. p. 347.

2) Diese Fällung in Arten des Genus *Spirogyra* beobachtete schon CH. DARWIN, 1882, l. c. p. 259, 282. Auch in *Sp. setiformis* entsteht solcher Niederschlag, doch nicht so schnell, als in *Sp. communis*.

Die Auflösung geschieht auch in den Wurzeln von *Euphorbia* und *Azolla*, wenn man sogleich nach der Fällung mit Wasser abwäscht und die Pflanzen in eine größere Menge von Regenwasser bringt. Der Niederschlag ist dann in manchen Zellen schon nach $\frac{1}{2}$ Stunde, in anderen erst nach 10 und 20 Stunden verschwunden. Dieses Wiederauflösen ist aber in kurzer Zeit ($\frac{1}{2}$ —4 Stunden) vollendet, wenn man die Pflanzen statt in Wasser in eine Lösung von Zitronensäure (0,01—0,02 %) überträgt. Nach dem Verschwinden wird der Niederschlag durch Ammoncarbonat wieder hervorgebracht, und insbesondere in *Spirogyra* kann man Bildung und Lösung des Niederschlags oft wiederholen.

Namentlich bei langsamem Fortschreiten der Auflösung oder bei verlängerter Einwirkung von Ammoncarbonat löst sich der Niederschlag in einzelnen Zellen der Wurzel von *Euphorbia* und *Azolla* nicht wieder und diese unlösliche Form pflegt in allen Zellen vorhanden zu sein, wenn die Pflanzen während 24 Stunden in 0,4—0,5 % Lösung verweilten. Unter diesen Umständen geht endlich auch der Niederschlag in *Spirogyra communis* in die unlösliche Modifikation über, doch war letztere in 0,1 % Lösung von Ammoncarbonat nach 2 Tagen erst in einer Anzahl, nach 4 Tagen aber in allen Zellen gebildet. Der Übergang in die unlösliche Modifikation hängt außer von spezifischen Eigenthümlichkeiten auch von äußeren Umständen ab, denn in den sogleich nach dem Fällen in absoluten Alkohol eingelegten Pflanzen wurde der koagulierte Zustand durchgehends langsamer, z. Th. viel langsamer ausgebildet. Nach längerer Zeit war diese Modifikation aber immer gebildet, ebenso auch in den kugeligen Ausscheidungen der Drüsenhaare von *Drosera* ¹⁾. Die Bedingungen dieser schnelleren oder langsameren Umwandlungen näher zu verfolgen lag nicht in meiner Absicht. Das aus Hühnereiweiß mit Gerbsäure gefällte gerbsaure Albumin geht beim Kochen natürlich sogleich, in Alkohol oder auch unter Wasser jedenfalls nur langsam in die koagulierte Form über.

Bei unterbleibender Wiederauflösung waren die Zellen stets todt, was entweder direkt oder bei versuchter Plasmolyse zu erkennen war. Ohne Schädigung scheint hiernach die unlösliche Modifikation des Niederschlags nicht in den Zellen entstehen zu können. Die Empfindlichkeit gegen Ammoncarbonat ist natürlich specifisch verschieden; übrigens werden durch dieses Reagens in der Wurzel von *Euphorbia pepus*, ebenso wie bei Einwirkung von Methylenblau (p. 228), die gerbsäureführenden Längsreihen der Oberhaut viel schneller getödtet, als die alternirenden, keinen Niederschlag gebenden, gerbsäurefreien Reihen.

So lange nicht die unlösliche Modifikation entstanden, löst sich der Niederschlag mit dem Tode der Zelle in verdünntem Kali, beim Erwärmen auch in 1 % Ammoncarbonat, ebenso in verdünnter Salzsäure und Citro-

1) Vergl. PFEFFER, Osmot. Unters. 1877. p. 197 Anmerkung.

nensäure, und diese Eigenschaften zeigt er auch noch, nachdem die Pflanzen nach Eintauchen in Alkohol getötet sind. Der Übergang in die unlösliche Modifikation wird also keineswegs gleichzeitig mit dem Tode der Zelle herbeigeführt. Ist aber einmal die unlösliche Modifikation entstanden, so ist das Verhalten ähnlich wie das koagulirter Eiweißstoffe. Wie DARWIN¹⁾ fand, vermögen dann verdünnte Säuren und Alkalien die Ammoncarbonatfällung nicht zu lösen, während diese durch konzentrierteres Kali in der Wärme zum Verschwinden gebracht wird. Vermöge des Gerbsäuregehaltes nimmt der Niederschlag mit Alkalien die gelbbraune Färbung an, welche er mehr oder weniger weitgehend schon durch verlängerte Wirkung des Ammoncarbonats erreicht, doch, so weit ich gesehen, immer erst nachdem die Zelle getötet ist.

Dieser Übergang in die unlösliche Modifikation, welcher auch durch Kochen sogleich herbeizuführen ist, kennzeichnet den Gehalt an Eiweißstoffen in der Ammoncarbonatfällung. Diese wird dem entsprechend, sogleich nach der Bildung mit Sublimatlösung behandelt, unlöslich, ohne deshalb augenblicklich in den koagulirten Zustand überzugehen. Auch die Reaktionen mit Jod, MILLON's Reagens und Karmin zeigen Proteinstoffe an, welche übrigens Darwin als die muthmaßlichen Bildner dieses Niederschlages ansprach. Die Existenz der Gerbsäure in dem Niederschlag wird vor und nach dem Übergang in die unlösliche Form durch die Reaktionen mit Eisensalz, Kalibichromat und molybdänsaurem Ammon in *Euphorbia*, *Azolla*, *Spirogyra*, sowie in der kugeligen Ausscheidung der Drüsenhaare von *Drosera* unzweifelhaft angezeigt.

Mögen immerhin auch noch andere Stoffe in dem Niederschlag sich finden, jedenfalls hängt von der an sich interessanten Vereinigung von Gerbsäure und Eiweißstoff im Zellsaft in erster Linie diese Ausfällung ab. Die Eigenschaft des gerbsauren Albumins, sich in verdünnten organischen Säuren zu lösen, aus dieser Lösung aber durch Alkalien ausgeschieden zu werden (p. 233), macht das beschriebene Verhalten lebender Zellen verständlich; denn Ammoncarbonat dringt nachweislich schnell in lebende Zellen ein, der Zellsaft aber ist, wenn auch in nur geringem Grade, sauer (vergl. Kap. XVIII, 4). Wie die Wiederherstellung der ursprünglichen Farbe in durch Ammoniak gebläuten Zellsäften beim Auswaschen mit Wasser lehrt, wird unter diesen Umständen der frühere Zustand wieder hergestellt, und damit ist auch die Bedingung für Wiederauflösung des Niederschlags in der lebenden Zelle gegeben. Da aber in diese nachweislich Zitronensäure eindringt (Kap. XVIII), beschleunigt diese natürlich die Wiederauflösung des durch Ammoncarbonat erzeugten Niederschlags.

In ähnlicher Weise, doch langsamer und z. Th. erst in höherer Konzentration wirken auch Kalicarbonat und Natroncarbonat²⁾ ausfällend,

1) L. c. 1882. p. 242, 255.

2) Beobachtet von DARWIN 1882, l. c. p. 241, 257.

ferner Ätzkali und Äthylamin, während Natriumbicarbonat (das wahrscheinlich nicht eindringt) keinen Niederschlag erzeugt. Beachtenswerther ist, dass nach DARWIN'S¹⁾ Beobachtungen auch Ammonphosphat und Ammonnitrat, wenn auch langsamer und bei etwas höherer Konzentration, eine Ausscheidung erzielen, was ich für Ammonnitrat (2 % Lösung) nach einem Versuche mit *Spirogyra communis* bestätigen kann. Dagegen erzeugen Kalinitrat und Natronnitrat diese Fällung nicht, selbst wenn durch sie die Zelle plasmolysirt wird. (Von *Azolla* ist hier abzusehen, vergl. Kap. VI.)

Wodurch diese Ammoniaksalze wirken, ist noch näher zu erforschen. Es wäre möglich, dass vermöge partieller Dissociation des Ammoniaksalzes die Bedingungen für Neutralisation im Zellsaft geboten sind, es könnte aber auch etwas eindringendes Ammoniaksalz eine Wechselersetzung im Zellsaft erzielen, welche zur Ausscheidung führt, oder diese wird vielleicht erzeugt, indem von dem Ammoniaksalz eine Reizwirkung ausgeht, welche geeignete Vorgänge in der Zelle hervorruft. Ich halte letzteres in diesem Falle, wo erst relativ hohe Konzentrationen eine Wirkung, diese aber ziemlich schnell erzielen, nicht für wahrscheinlich. Immerhin ist zu bedenken, dass, wie durch DARWIN entdeckt wurde, Ammoniaksalze auf die Drüsenhaare von *Drosera* und auf andere fleischfressende Pflanzen eine Reizwirkung ausüben, und wenn auch nach DE VRIES'²⁾ jüngsten Untersuchungen bei der auf normale Reizwirkung folgenden Aggregation die durch Ammoncarbonat erzielte kugelige Ausscheidung in den Drüsenhaaren von *Drosera* sich nicht einstellt, erzielt doch in dieser Pflanze die direkte Einwirkung von Ammonsalzen ebenfalls solche kugelige Ausscheidung.

Da die Ammoncarbonatfällung durch Gerbsäure bedingt ist, kommt da, wo solche Fällung eintritt, auch Speicherung von Methylenblau zu Stande. Das umgekehrte trifft aber nicht zu, und wo die Anhäufung unseres Farbstoffes nicht von Gerbsäure abhängt, wie z. B. in der Wurzel von *Lemma*, bringt Ammoncarbonat eine Fällung auch dann nicht hervor, wenn dieses Reagens nach Färbung des Zellsaftes zur Anwendung kommt. Sofern Gerbsäure ohne Eiweißstoffe geboten ist, würde Speicherung von Methylenblau, nicht aber Fällung durch Ammoncarbonat zu erwarten sein. Ich habe nicht vergleichend dieses und die damit verknüpfte, Interesse gewährende Frage geprüft, ob neben Gerbsäure stets Eiweißstoffe im Zellsaft gelöst sind. Jedenfalls ist diese Vereinigung sehr verbreitet und z. B. auch in Epidermis und Haube von *Trianea* konnte ich Fällung durch Ammoncarbonat bemerken, obgleich diese bei geringer Menge leichter übersehen werden kann, als die farbige Ausscheidung durch Methylenblau.

Da durch die Methylenblaufällung die Gerbsäure aus dem Zellsaft ent-

1) L. c. p. 241. DARWIN beobachtete auch eine Ausscheidung durch Fuchsin, ohne indess zu bemerken, dass der Niederschlag farbig ausfiel.

2) Bot. Ztg. 1886. p. 57, 62.

fernt wird, ruft nach dem Sättigen mit Methylenblau Ammoncarbonat keine weitere Ausscheidung hervor und umgekehrt. Die Ammoncarbonatfällung färbt sich aber durch Methylenblau unter Bewahrung ihrer Gestalt und hat dann ein anderes, im allgemeinen feinkörnigeres Aussehen als der bei direkter Einwirkung von Methylenblau erhaltene Niederschlag. Dieser ist ja nicht identisch mit der Ammoncarbonatfällung, denn unser Farbstoff bringt durch seine Vereinigung mit Gerbsäure, und dieserhalb auch in seiner Lösung, den Niederschlag hervor, welcher freilich, wie früher erörtert, Eiweißstoffe mit niederzureißen pflegt. Diese waren nach 8 Tagen in der mit Methylenblau gefärbten lebenden Wurzel von *Trianea* und *Azolla* nicht in die unlösliche Modifikation verwandelt und diese Erfahrung spricht dafür, dass der Übergang der Ammoncarbonatfällung in die unlösliche Modifikation erst mit dem Tode der Zelle eintritt.

Wie die Gerbsäure ist auch die Ammoncarbonatfällung in spezifischer Weise vertheilt und oft nur in bestimmten Zellen eines Gewebes zu finden. Die Frage nach der Bedeutung der durch diese Fällung gekennzeichneten Zellen ist nach Erkennung dieses Niederschlags mit der Frage nach der Bedeutung der Gerbsäure verkettet¹⁾. Wie diese bleibt auch die Ammoncarbonatfällung häufig den Wurzelhaaren fern, vermeidet diese indess nicht so allgemein, wie DARWIN meint, dem nur bei *Cyclamen persicum* eine Ausscheidung durch Ammoncarbonat in den Wurzelhaaren begegnete. In letzterem tritt z. B. die Fällung sehr reichlich ein bei *Azolla* und bei den Keimpflanzen von *Euphorbia peplus* in denjenigen Wurzelhaaren, welche aus den gerbsäureführenden Zellreihen entspringen, die weiterhin frei von Wurzelhaaren zu sein pflegen (vergl. p. 228).

VI. Plasmolytische Ausscheidung in *Azolla*.

Der Wurzel von *Azolla caroliniana* kommt die besondere Eigenthümlichkeit zu, dass der im Zellsaft gelöste gerbsaure Proteinstoff durch Plasmolyse in einer den Gerbsäureblasen ähnlichen Gestalt ausgeschieden wird (Fig. 2). Diese Ausscheidung wird ebensowohl durch Salpeter, als durch Chlorcalcium und Zucker erzielt, sofern nur die Plasmolyse weit genug getrieben wird, und ist demgemäß eine Folge der Konzentrirung des Zellsaftes.

Nach Vollendung der Reaktion liegt meist eine größere Zahl größerer oder kleinerer Kugeln im Zellsaft, welcher auch durch Zusammenschnürung des Protoplasmas in einige Portionen separirt sein kann (vgl. Fig. 2, die ein jüngeres Haar nach Plasmolyse mit 3 % Salpeter vorstellt). Bei Beginn der Ausscheidung treten in dem sich trübenden Zellsaft zahlreiche kleine Kügelchen auf, welche schnell beginnen zu größeren Kugeln zusammenzu-

1) Vergl. DARWIN, 1882, l. c. p. 259.

fließen. Der ganze Vorgang spielt sich überhaupt in ähnlicher Weise ab, wie die durch Ammoncarbonat entstehende Ausscheidung im Zellsaft der Drüsenhaare von *Drosera*.

Gewöhnlich wird schon durch Plasmolyse mit 3 % Salpeterlösung Ausscheidung erzielt, doch kommt diese in andern Fällen erst durch 5 %, sicher immer durch 8 % Salpeterlösung zu Stande. Es hängt dieses augenscheinlich mit dem Stoffgehalt der Zellen innig zusammen, denn unverkennbar tritt die Ausscheidung schon bei geringer Plasmolyse in denjenigen Zellen ein, welche mit Ammoncarbonat eine reichliche Ausscheidung von gerbsaurem Proteinstoff geben. Die Bedingungen für die Ausscheidung sind aber zuweilen schon ohne Plasmolyse in den jugendlichsten, noch unangewachsenen Zellen gegeben, denn in diesen findet man am Scheitelpunkt mancher junger Wurzeln eine oder eine größere Zahl solcher Gerbsäurekugeln.

Bei Rückgang der Plasmolyse lösen sich die Kugeln ohne Rückstand im Zellsaft, wobei sie zunächst häufig in verschiedener Weise vakuolig werden. Nach der Lösung kann dann die Ausscheidung durch Plasmolyse wiederum hervorgerufen werden. Eine Lösung der Kugeln erfolgt, analog wie bei den Gerbsäureblasen, beim Zerquetschen, überhaupt bei jeder Tödtung der Zelle, welche die im umgebenden Zellsaft gelösten Stoffe entfernt.

Mit dem Absterben der Zelle können aber die Kugeln in die unlösliche Modifikation übergeführt werden. Theilweise tritt solches ein bei verlängertem Aufenthalt in Salpeterlösung, ziemlich schnell (nach 8—24 Stunden) wenn man nach der Ausscheidung die reine Salpeterlösung durch solche ersetzt, welche 1 % Ammoncarbonat enthält, dessen Wirkung auf die Substanz der Kugeln offenbar die Entstehung der unlöslichen Modifikation direkt beschleunigt. Ungelöst erhielten sich die Kugeln auch, wenn nach der Plasmolyse eine Übertragung in eine gleiche Salpeterlösung stattfand, welche 0,5 % Quecksilberchlorid enthielt. In dieser Weise fixirt gehen die Kugeln gleichfalls schnell in die unlösliche Modifikation über. Sind die Kugeln in irgend einer Weise nur theilweise unlöslich geworden, so kommen mit Zutritt von Wasser partielle Lösungserscheinungen zu Wege, deren Gestaltung hier nicht näher beschrieben werden soll.

Der Übergang in die unlösliche Modifikation, sowie die für den Niederschlag durch Ammoncarbonat angeführten Reaktionen (p. 243), kennzeichnen den Gehalt an Proteinstoffen, während andere Reagentien einen erheblichen Gehalt an Gerbsäure in den Kugeln nachweisen. Das Vorhandensein des zuvor im Zellsaft gelösten gerbsauren Albumins in diesen Kugeln geht weiter daraus hervor, dass nach weitgehender Ausscheidung jener, durch Ammoncarbonat (das natürlich gelöst in dem plasmolysirenden Stoff anzuwenden ist) keine oder doch nur sehr geringe Ausfällung erzielt wird und umgekehrt nach solcher Ausfällung durch Ammoncarbonat eine Ausschei-

dung der Kugeln durch Plasmolyse unterbleibt. Letzteres trifft ebenfalls zu, nachdem die Gerbsäure durch Methylenblau gefällt ist, welches übrigens die durch Plasmolyse erzeugten Kugeln zu färben vermag (vgl. Kap. XVIII).

In wenig Zitronensäure gelöstes gerbsaures Albumin wird durch Zusatz von etwas Chlorammonium leicht als käsiger Niederschlag ausgeschieden, während Gerbsäure¹⁾ allein nur durch sehr konzentrierte Salzlösungen (leichter durch freie Säuren) zur Ausscheidung gebracht werden kann. Nach solchem Verhalten ist die Ausscheidung in *Azolla* als Folge der Konzentrierung des Zellsaftes wohl verständlich. Indess muss entweder die Qualität des gerbsauren Proteinstoffes oder des Zellsaftes einen entscheidenden Einfluss mitspielen, denn in *Spirogyra communis* und in der Wurzel von *Euphorbia peplus* kommt selbst durch sehr weitgehende Plasmolyse mit 10 bis 12 % Salpeter keine Ausscheidung zu Stande, obgleich in den bezüglichen Zellen die Ammoncarbonatfällung ebenso reichlich ausfällt, als in *Azolla*. Auch in der Wurzel von *Trianea* habe ich eine Ausscheidung durch Plasmolyse nicht bemerkt. Dass aber in *Azolla* diese plasmolytische Ausscheidung nicht Folge einer Reizwirkung ist, geht daraus hervor, dass erst nach Plasmolyse und mit dieser steigend die kugelige Ausscheidung beginnt und fortschreitet²⁾.

Weitere Studien werden voraussichtlich noch andere Pflanzen kennen lehren, welche ähnliche Erscheinungen wie *Azolla* bieten. Diese künstliche Ausscheidung hat aber ein höheres Interesse, weil damit die Umwandlung von zuvor im Zellsaft gelöstem Gerbstoff in Gerbsäureblasen demonstriert wird. Es liegt also die Annahme nahe, dass die Bildung von Gerbsäureblasen wenigstens theilweise in ähnlicher Weise vor sich geht, mag dabei die qualitative oder quantitative Änderung der an den Blasen separirten oder der im Zellsaft verbleibenden Stoffe die Entstehung veranlassen oder reguliren. Zur Separirung ist aber, nach den Erfahrungen bei *Azolla*, ein die Gerbsäureblasen umgebendes Häutchen nicht nothwendig. Doch mag sich ein solches mit der Zeit wohl ausbilden³⁾.

VII. Versuche mit Methylviolett.

4) Färbung im Protoplasma.

Dieser Farbstoff wird nicht nur im Zellsaft gespeichert, sondern vermag auch das lebendige Protoplasma zu färben, doch ist bei der Giftigkeit des Methylvioletts Vorsicht geboten, um Schädigung zu vermeiden. Deshalb

1) Vergl. z. B. BARFOLD, Lehrbuch d. organ. Analyse 1884. p. 50.

2) Die Erfolge der Plasmolyse an Drüsenhaaren von *Drosera* habe ich nicht untersucht. Vergl. darüber FR. DARWIN, Quarterl. Journ. of Microscopical Science 1876. Bd. 16. p. 309 u. DE VRIES, Bot. Ztg. 1886. p. 23.

3) Vergl. PFEFFER, Physiol. Unters. 1873. p. 44.

ist die Anwendung verdünnter Lösungen nöthig, doch reicht auch, sofern die Zellhaut gut durchlässig ist, ein Aufenthalt von einigen Minuten in einer 0,0003 bis 0,0004 % Lösung meist aus, um Färbung des Protoplasmas zu erzielen.

Das Protoplasma färbt sich in spezifisch sehr ungleichem Grade und während des Lebens erstreckt sich die Färbung nicht auf alle Organe dieses Elementarorganismus. Insbesondere habe ich eine zweifellose Färbung des Zellkerns und der Chromatophoren (Chromoplasten, Chloroplasten, Leukoplasten) immer erst als ein Symptom der Schädigung auftreten gesehen, im übrigen Protoplasmakörper aber sind es körnige oder vakuolige Bildungen, welche sich entschieden färben.

Ein ausgezeichnetes Versuchsobjekt sind die Wurzelhaare von *Trianea bogotensis*¹⁾, deren Protoplasma nach kurzer Einwirkung verdünnter Lösung von Methylviolett schön violett wird. Dabei wird zunächst der Zellsaft nicht merklich gefärbt, in welchem weiterhin dieser Farbstoff in ähnlicher Weise gespeichert wird, wie Methylenblau. Erst nach längerer Einwirkung treten in dem übrigens noch lebendigen Protoplasma Deformationen ein, welche insbesondere zur Bildung in den Zellsaft übergehender Vakuolen führen, wie solche Fig. 43 zeigt. Abgesehen von diesen Vakuolen kann diese Figur die Färbung des Protoplasmas durch Methylviolett versinnlichen. In dickerer Schicht erscheint bei schwacher Vergrößerung das Protoplasma sehr ansehnlich, in dünner Schicht aber nur schwach gefärbt und bei sehr dünnem Wandbelag bleibt man wohl gar in Zweifel, ob überhaupt eine Färbung vorhanden ist. Dieses naturgemäßen Verhaltens halber sind Zellen mit schwächlichem plasmatischen Wandbelag zu Beobachtungen über diese Färbung weniger geeignet und es ist immer schwer, die Intensität der Färbung vergleichend abzuschätzen.

Schöne Plasmafärbung beobachtete ich ferner in den Wurzelhaaren der Keimpflanzen von *Cucurbita pepo* und *Triticum vulgare*, sowie in den Hyphen von *Saprolegnia ferax*, in denen sämtlich die Strömung des Protoplasmas das Fortbestehen des Lebens zu kontrolliren gestattete. Solche Kontrolle geht den Wurzelhaaren der Keimpflanzen von *Ricinus*, sowie den Rhizoiden des Prothalliums von *Ceratopteris thalictroides* und der Brutknospe von *Marchantia polymorpha* ab, in welchem gleichfalls das lebendige Protoplasma sich schön mit Methylviolett tingirt. Dagegen speichert nur wenig von diesem Farbstoff das lebensthätige Plasmodium von *Chondrioderma difforme*, welches selbst in dicker Schicht nur schwach violett erscheint und also in unzweifelhafter Weise darthut, dass lebendiges Protoplasma durch Methylviolett in spezifisch ungleichem Grade gefärbt wird.

Andere Pflanzen mit leicht durchlässiger Zellhaut habe ich nur wenig untersucht. Schwach oder unsicher ist die Färbung in Haube und Epider-

1) Die benutzten Wurzelhaare waren höchstens 3 bis 4 mm lang.

mis der Wurzeln von *Trianea*, *Lemna minor*, *Azolla caroliniana*, sowie in *Spirogyra communis*. In diesen Pflanzen, ebenso in den Wurzelhaaren von *Azolla*, ist freilich der plasmatische Wandbelag nur dünn, doch scheint die Tingirbarkeit in den genannten Zellen thatsächlich nur geringer zu sein.

Eine schwache Färbung bemerkte ich im Protoplasma der Drüsenhaare von *Primula chinensis*, während ich in den Haaren von *Momordica elaterium* eine entschiedene Färbung des lebendigen Protoplasmas nicht beobachtete. Allerdings erschwert, insbesondere in der letztgenannten Pflanze, die dicke Cuticula in hohem Grade das Eindringen des Farbstoffs (vgl. p. 224), das indess bei Einwirkung konzentrierter Lösung (0,04 %) nach $\frac{1}{2}$ bis 2 Stunden durch beginnende Färbung des Kernkörperchens oder durch Speicherung im Zellsaft bemerklich wurde, ohne dass das Protoplasma außerdem deutlich tingirt gewesen wäre ¹⁾, und ähnlich fiel das Resultat nach 24 stündigem Aufenthalt in einer 0,001 % Methylviolettlösung aus. Erschweren an den Haaren dieser Pflanze auch manche Umstände (Färbung der Zellwand u. s. w.) die sichere Wahrnehmung einer geringen Färbung, so würde doch eine ansehnlichere Färbung bei der verhältnismäßigen Mächtigkeit des Protoplasmakörpers zweifellos hervorgetreten sein, und man darf nach den mitgetheilten Beobachtungen deshalb annehmen, dass das lebende und strömende Protoplasma der Haare von *Momordica* Methylviolett mindestens in nur sehr geringem Grade zu speichern vermag. Zu diesem Schlusse führten auch die Beobachtungen an einem frei präparirten Vegetationspunkt von *Elodea canadensis* in 0,04 % Methylviolett, in welchem die Zellen des Urmeristems bekanntlich einen relativ massigen Plasmakörper enthalten ²⁾.

In keinem Falle wurde während des Lebens eine sichere Färbung des Zellkerns bemerkt. Ist dieser von farbigem Plasma umhüllt, wie gewöhnlich in den Wurzelhaaren von *Trianea*, so ist freilich die Möglichkeit einer schwachen Färbung nicht abzuleugnen, doch fehlte eine solche bestimmt da, wo der Zellkern frei lag oder das Protoplasma Methylviolett nicht merklich speicherte. Eine beginnende Färbung des Kernkörperchens war, wie auch bei Methylenblau (p. 206), immer erst zu erkennen, wenn die Plasmaströmung aufgehört hatte. Jedenfalls kennzeichnete solcher Färbungsbeginn also eine gewisse Schädigung der Lebensthätigkeit. Ob diese in diesen ersten Stadien der Färbung wiederherstellbar ist, muss ich dahin gestellt sein lassen.

Jedenfalls ist aber die Speicherungsfähigkeit des todten Protoplasmas, in welchem sich der Zellkern am leichtesten und intensivsten färbt, kein

1) Bei Färbung des Kernkörperchens war die Plasmaströmung immer erloschen, dagegen war diese noch bei beginnender Färbung des Zellsaftes bemerklich.

2) Samenfäden von *Adiantum* spec. färben sich während der Bewegung ein wenig durch Methylviolett, gehen aber schnell zu Grunde. Ob Bakterien im Leben sich färben, ist bei der Kleinheit der Objekte und der möglichen Färbung der Wandung halber schwer zu sagen.

Maßstab für die Farbstoffanhäufung im Leben. Dieses gilt ebenso für die Chromatophoren, die nach dem Tode durch Methylviolett relativ ansehnlich tingirt werden, im Leben aber diesen Farbstoff nicht aufnehmen. Ich fand nämlich ebensowohl grüne Chlorophyllkörner ungefärbt, als die mehr oder weniger den Leukoplasten sich nähernden Chromatophoren in den Haaren von *Momordica* und *Azolla*, und in stärkebildenden farblosen Zellen waren gefärbte Leukoplasten nach der Einwirkung von Methylviolett nicht zu bemerken.

Ohne Tödtung, also auch ohne Färbung des Zellkerns, ist aber eine gewisse Deformation im Protoplasma möglich. In den Wurzelhaaren erscheinen nämlich bei genügend intensiver Wirkung von Methylviolett im Zellsaft tief gefärbte Vakuolen (Fig. 43), welche, wie nachher zu zeigen ist, entstehen, indem Plasmamassen unter Speicherung des Farbstoffs anschwellen und in den Zellsaft ausgestoßen werden. Diese Vakuolen adhären oft dem noch strömenden Protoplasma und werden so mit herumgeführt. Auch ohne Bildung von Farbstoffbläschen können Plasmaportionen abgelöst werden (Fig. 43), doch habe ich diese Deformation immer nur spärlich und nie so weitgehend gesehen, wie sie durch andere Eingriffe ohne Vernichtung des Lebens erzielt werden kann¹⁾. Solche Erfolge wurden in 0,00033 % Methylviolettlösung theilweise schon nach 8 Minuten, in 0,0001 % Lösung erst nach längerer Zeit erzielt, während bei größerer Verdünnung (0,00001 %) die Bildung der Farbstoffbläschen unterblieb. Im allgemeinen beginnen die Deformationen zuerst in den älteren Haaren, welche beiläufig im Zellsaft Methylviolett nicht oder wenig speichern (vgl. p. 208).

In wie weit andere Pflanzen ähnliche Erscheinungen bieten, habe ich nicht untersucht. In *Saprolegnia ferax* sah ich nichts derartiges in ziemlich zahlreichen Versuchen auftreten und bei *Chondrioderma difforme* wurde bei intensiverer Wirkung des Methylvioletts nur eine Abrundung unter Einziehen der Plasmastränge angestrebt, wie solches auch bei anderen ungünstigen Bedingungen zu bemerken ist.

Selbst nach tief violetter Färbung durch Methylviolett vermag das Protoplasma weiter zu leben, entfärbt sich allerdings schneller oder langsamer. Wenigstens wurde dieses nach Übertragen in Wasser in den Wurzelhaaren von *Trianea* verfolgt und außerdem beiläufig für *Chondrioderma difforme*, sowie für die Wurzelhaare der Keimpflanze von *Cucurbita pepo* bestätigt gefunden.

In einem Versuche mit *Trianea* war z. B. durch 8 Minuten langes Einwirken von Methylviolett (0,00025 %) das normal strömende Protoplasma intensiv gefärbt, nach 24 stündigem Aufenthalt in Wasser zeigte es indess nur noch Spuren von violetter Färbung und nach längerer Zeit war es ganz entfärbt. In solchen Versuchen ist auch zu verfolgen, wie unter Entfärbung

1) Vergl. PFEFFER, Physiologie Bd. 2. p. 386, 394.

des Plasmas der Zellsaft sich tingirt. Das einmal im Zellsaft gespeicherte Methylviolett vermag aber, weil es nicht eindringt, das fortlebende Protoplasma nicht zu färben. Auch wenn nach längerer Einwirkung obiger Lösung (12 Minuten) die Bildung von Vakuolen begonnen hatte, erhielten sich doch diese Haare am Leben und hatten nach 24 Stunden ein fast entfärbtes Protoplasma, während die Vakuolen verschwunden waren. Freilich ist Vorsicht in diesen Versuchen nöthig, da Methylviolett leicht schädigt, und bei manchen Pflanzen dürfte die Erhaltung des Lebens nach tüchtiger Färbung gar nicht gelingen, auch wenn das Protoplasma zunächst noch strömte. Ein solches Resultat scheint sich gewöhnlich mit *Saprolegnia ferax* zu ergeben, während *Chondrioderma difforme* sich nach dem Färben vortrefflich am Leben erhält und sich z. B. nach 24 Stunden fast ganz entfärbt hatte, als es während 10 Minuten mit 0,001 % Methylviolett behandelt worden war.

Aus dem Mitgetheilten ist schon zu entnehmen, wie sehr schnell, sofern die Zellhaut leicht durchlässig ist, das Protoplasma sich färbt. In einer 0,00033 % Methylviolettlösung waren die Haare von *Trianca* schon nach 3 Minuten, in einer 0,0004 % Lösung nach 10 Minuten ansehnlich gefärbt und nach 15, resp. 30 Minuten war die Färbung auf dem Höhepunkt angelangt. Ähnlich war der Erfolg in den Wurzelhaaren von *Cucurbita pepo* und *Ricinus*, sowie in *Saprolegnia*.

Der entfärbenden Thätigkeit halber wird bei genügender Verdünnung voraussichtlich eine Färbung des Protoplasmas nicht mehr eintreten, doch war solche nach 16stündigem Aufenthalt in einer 0,00004 bis 0,000005 % Farbstofflösung noch ansehnlich, aber anscheinend schwächer, als bei kurzer Einwirkung konzentrierter Lösung. *Chondrioderma difforme* scheint sich schon in 0,0004 % Lösung schwächer zu färben als in einer 0,001 % Methylviolettlösung.

Bei solcher schnellen Färbung des Protoplasmas verzögert dieses das Vordringen des Methylvioletts bis zum Zellsaft nicht wesentlich und bald beginnt deshalb auch eine Speicherung im Zellsaft bemerklich zu werden. Während so Farbstoffmoleküle durch das Protoplasma sich bewegen, werden auch die in diesem festgehaltenen Moleküle, wie es aus der Entfärbung des Plasmas hervorgeht, sich fortwährend losreißen und weiter eilen, aber auch dauernd durch andere Farbstoffmoleküle ersetzt werden, so lange ein Nachschub dieser andauert.

Wie schon erwähnt, färbt sich das Protoplasma abgesehen von Zellkern und Chromatophoren nicht gleichmäßig. So weit ich gesehen, waren es körnige oder vakuolenähnliche Massen, welche das Methylviolett speicherten, während das Hyaloplasma, d. h. die homogenere Masse des Protoplasmakörpers, eine merkliche Färbung nicht zeigte. Hinsichtlich der sich färbenden Massen lässt aber schon die Erfahrung an nur wenigen Pflanzen spezifische Verschiedenheiten erkennen.

In den Wurzelhaaren von *Trianea bogotensis* (Fig. 44) färben sich tief violett die Mikrosomen, während eine viel geringere, zum Theil sogar schwache Färbung größere Massen annehmen, welche präformirt im Plasma vorhanden sind und als Grana¹⁾ bezeichnet werden mögen. In *Saprolegnia ferox* (Fig. 44, 45) erscheinen die verhältnismäßig großen glänzenden Mikrosomen ungefärbt, wohl aber färben sich kleine Vakuolen im Protoplasma. In den Haaren von *Momordica* und in dem Urparenchym des Stengels von *Elodea canadensis* kommt, wie früher bemerkt (p. 249), eine sichere Färbung durch Methylviolett nicht zu Stande und so sind auch die verhältnismäßig großen und zahlreichen Mikrosomen bei *Momordica* ungefärbt, oder, wie es mir manchmal schien, doch nur minimal gefärbt. In den Wurzelhaaren der Keimpflanze von *Cucurbita pepo* und in den Rhizoiden der Brutknospen von *Marchantia polymorpha* scheinen, nach beiläufigen Beobachtungen, nur die Mikrosomen zu speichern. In *Chondrioderma difforme* sah ich, außer einer Anzahl zweifelloser Fremdkörper, auch einzelne Körnchen gefärbt, die wohl den Mikrosomen gleichwerthig sein mögen, und außerdem hatten vereinzelt kleine Vakuolen etwas Methylviolett gespeichert.

Die körnchenfreie Grundmasse des Protoplasmas erscheint immer ungefärbt und demgemäß auch ein Pseudopodium und die oft ansehnliche Schicht von Hyaloplasma bei *Chondrioderma*. In den Wurzelhaaren von *Trianea* ist zuweilen das Hyaloplasma ansehnlich genug, um namentlich nach der Plasmolyse dessen Nichtfärbung zu bemerken, und diese ist auch in den theilweise körnchenfreien Verbindungsfäden zu konstatiren, welche sich bilden, wenn der Plasmakörper eines Haares durch Plasmolyse in zwei oder einige Portionen getrennt wird.

In jedem Falle kennzeichnet die Färbung besondere Qualitäten der den Farbstoff aufnehmenden Körpertheile, mag nun die Ursache des besonderen Verhaltens in den färbenden Theilen allein oder in ihrer Umgebung begründet sein (vgl. Kap. XVII). So geht aus dem Mitgetheilten z. B. hervor, dass die Mikrosomen²⁾ verschiedener Pflanzen nicht identische Qualität besitzen, und auch in derselben Pflanze verhalten sich nach einigen Er-

1) So nannte, im Anschluss an A. MEYER, SCHIMPER (Unters. über d. Chlorophyllkörper 1885, p. 402, 452), die in den Chromatophoren in vakuolenähnlichen Kammern eingeschlossenen farbigen Massen, hinsichtlich deren es noch fraglich ist, ob ihnen ein flüssiger oder etwa gelatinöser Aggregatzustand zukommt. Um einen neuen Namen zu vermeiden, zu welchem nähere Studien vielleicht Veranlassung geben, adoptire ich diese zwar an sich nicht gut gewählte Bezeichnung für unsere zwar an sich nicht gefärbten, aber doch zur Färbung befähigten und dann gleichfalls in einem farblosen Stroma (dem Hyaloplasma) eingebetteten Massen, welche eine meist gelatinöse Beschaffenheit zu haben scheinen.

2) HANSTEIN (Botan. Abhandlungen 1886. Bd. 4. p. 9), der Autor dieser Bezeichnung, benutzt diese als Kollektivbegriff für verschiedene körnige Körperchen, die nicht zweifelloso fremdartige Einschlüsse im Protoplasma sind, wie etwa Kryställchen von Calciumoxalat oder Stärkekörner.

fahrungen die unter dem Namen Mikrosomen zusammengefassten stark lichtbrechenden Körnchen nicht gleich gegen Farbstoffe. Es eröffnet sich somit die Aussicht, mittelst Methylvioletts und anderer Farbstoffe in Strukturverhältnisse und Eigenschaften des lebenden Protoplasmakörpers nach verschiedenen Richtungen hin tiefer eindringen zu können. Dazu bedarf es aber umsichtiger, von richtiger Fragestellung geleiteter Studien, welche zunächst nicht meine Aufgabe bildeten. Im wesentlichen muss ich mich deshalb auf Mittheilung thatsächlicher Verhältnisse in einigen Pflanzen beschränken. Vielleicht ist aber der Hinweis hier am Platze, dass nicht a priori die sich färbenden Theile, eben der Farbenspeicherung halber, als nicht zum eigentlichen Protoplasmaleib gehörend angesprochen werden dürfen. Denn dass ausgezeichnete lebendige Organe des Protoplasmas sich färben können, lehrt die Indigofärbung der Zellkerne gewisser animalischer Zellen (vgl. Kap. XV).

Die gefärbten und ungefärbten Wurzelhaare von *Trianea bogotensis* zeigen Übereinstimmung in Aufbau und Gestaltung des strömenden Protoplasmas. In den netzförmigen Strombahnen, welche wie Meeresströmungen im plasmatischen Wandbelag verlaufen, werden die öfters reihenartig angeordneten Mikrosomen und die meist sehr zahlreichen Grana mitgeführt, welche letztere insbesondere, wohl ihrer ansehnlicheren Masse halber, zuweilen langsamer vorrücken, als die Mikrosomen, und gelegentlich auch in die relativ ruhigere Plasmamasse zwischen den Strombahnen gerathen. Diese Grana streben im allgemeinen nach kugelig oder ellipsoidischer Gestaltung, doch ändert sich diese und zwar offenbar passiv unter dem Einfluss von Druck- und Zugwirkungen im strömenden Plasma. Man sieht die Grana dabei gelegentlich zu langgestreckten, nicht selten bogig gekrümmten Körpern werden, und dann und wann wird solch ein in die Länge gezerrtes Granum in zwei wieder zur Abrundung befähigte Theile zerrissen. Allerdings kennzeichnet dieses Verhalten noch nicht den Aggregatzustand des Inhalts der Grana, denn solcher passiven Gestaltung sind ebenso zweifellose Vakuolen fähig, wie sie auch im strömenden Protoplasma von *Trianea* entstehen und vergehen. Von diesen Vakuolen mit wässerigem Inhalt sind die Grana, für die ich Neubildung aus anderer Substanz nicht gesehen habe, schon durch ihren ziemlich lichtbrechenden Inhalt durchaus verschieden, und dem Aussehen nach darf man für die Masse der Grana eine ähnliche gelatinöse und plastische Beschaffenheit vermuthen, wie für das Plasma selbst.

Als selbständig geformte Körper werden die Grana auch durch ihre Drehungen und Wendungen während der Strömungsbewegung gekennzeichnet. Die Verschiedenheit des Inhalts der Grana von dem der mit wässriger Flüssigkeit gefüllten Vakuolen geht auch aus dem Verhalten gegen Farbstoffe hervor. Denn Methylviolett färbt zunächst diese zweifellosen Vakuolen nicht, welche aber (wenigstens bei den größeren wurde solches direkt beobachtet), wie der Zellsaft, Methylenblau speichern, das

die Grana nicht färbt. Immerhin könnten deshalb die Grana Vakuolen mit gelatinösem Inhalt zu vergleichen sein, doch will ich nicht etwa für diese Interpretation eintreten und muss überhaupt die Entscheidung über Qualität und Bedeutung dieser Grana der Zukunft überlassen. Gegen ihre Deutung als Leukoplasten, an welche man denken kann, spricht die sehr große Anzahl der Grana und die erwähnte weitgehende, offenbar passive Gestaltänderung. Vielleicht sind aber auch unter den hier als Grana bezeichneten Körpern, wie vermuthlich auch unter den Mikrosomen, qualitativ verschiedene Dinge vereinigt. Jedenfalls färben sich diese Grana nicht alle gleich; manche Grana scheinen sogar ungefärbt zu bleiben und an andern macht es den Eindruck, als ob nur die Peripherie tingirt wäre. Auch die als Mikrosomen bezeichneten Körnchen sind anscheinend nicht alle zur Farbenspeicherung befähigt. Aus verschiedenen Gründen ist diese Frage nicht so ganz leicht zu entscheiden und schon die Nöthigung, bei starker Vergrößerung zu beobachten, erschwert die Beurtheilung. (Ich arbeitete mit homog. Immersion $\frac{1}{12}$ u. $\frac{1}{18}$.) Dieserhalb würde auch eine nur schwache Färbung der Zwischenmasse der Beobachtung entgehen, um so mehr, als man nur da entscheidend beurtheilen kann, wo das Protoplasma einen nicht zu dicken Wandbelag bildet.

In *Saprolegnia*, in welcher die Mikrosomen ungefärbt bleiben, machen die sich tingirenden Körper entschieden den Eindruck winziger Vakuolen, welche sich präformirt im Protoplasma finden, durch die Färbung aber viel deutlicher hervortreten. Bei dichter Anhäufung des Plasmas in einer Hyphe liegen sie vertheilt im ganzen Protoplasma (Fig. 45), bei dünnerem Wandbelag (Fig. 44) finden sich diese färbungsfähigen Vakuolen sowohl in den Strombahnen als zwischen diesen und sie werden deshalb nur theilweise strömend fortbewegt. Die Vertheilung dieser gefärbten Vakuolen übersieht man besonders schön, wenn man bei Beleuchtung mit dem Abbeschen Beleuchtungsapparat durch Entfernung der Blendung das Strukturbild zurücktreten macht. Die Zwischenmasse erscheint auch dann ungefärbt, was besonders hervortritt, wenn die farbigen Vakuolen spärlich sind, wie es in manchen Hyphen der Fall ist. Bei Einwirkung von konzentrierter Methylviolettlösung scheint die ganze Plasmamasse sich ein wenig zu färben, doch mag das wohl schon Folge schädlicher Einwirkung sein, welche hier sehr leicht eintritt. Nach Fixirung mit Alkohol speichern die Mikrosomen Methylviolett, während das Nichtvorhandensein der farbigen Vakuolen auf eine Entfernung des speichernden Stoffes in diesen schließen läßt. Indem ich mich mit der Andeutung einer vergleichenden Beobachtungsmethode begnüge, welche in den sich hier aufdrängenden Fragen nutzbar gemacht werden kann, sei noch darauf hingewiesen, dass die Speicherung von Methylenblau im Zellsaft von *Saprolegnia*, nicht aber in diesen im Plasma eingebetteten winzigen Vakuolen, auf stoffliche Differenzen in beiden hinweist.

Die Existenz solcher färbungsfähiger vakuoliger Bildungen, deren Inhalt möglicherweise auch nicht flüssig, sondern gelatinös ist, wirft natürlich die Frage auf, ob nicht die Grana bei *Trianea* analoge Gebilde sind. Auf Grund der vorliegenden Beobachtungen ist eine Entscheidung nicht zu treffen. Die Färbungsfähigkeit kann natürlich verschiedenen Dingen zukommen.

Die als Deformationsprodukte bisher nur in den Wurzelhaaren von *Trianea* beobachteten farbigen Vakuolen erreichen, wie aus Fig. 43 zu ersehen, zum Theil eine relativ sehr ansehnliche Größe. Als Vakuolen, welche eine sehr ansehnliche Menge Farbstoff speicherten, charakterisirt sie z. B. ihr Verhalten gegen verdünnte Salzsäure und gegen Jodlösung. In beiden Fällen tritt der Farbstoff aus, während ein mit Jod sich gelbbraun färbendes Häutchen bleibt.

Als Produkte deformirender Einwirkung des Methylvioletts sind diese Vakuolen dadurch gekennzeichnet, dass sie bei genügender Verdünnung der Farbstofflösung nicht auftreten, obgleich der Farbstoff im Zellsaft und Protoplasma gespeichert wird. Bei genügender Konzentration des Methylvioletts bilden sich diese Vakuolen ebenso, und meist zuerst, in den älteren Haaren, deren Zellsaft nicht oder kaum Farbstoff speichert, und dieserhalb werden diese älteren Haare für die Beobachtung dieser Farbstoffbläschen vorzuziehen sein.

Meine Beobachtungen über Entstehung dieser Farbstoffbläschen sind nicht abschließend. Da ich aber bei kurzer Einwirkung von Methylviolett (0,00033 %) zunächst im Protoplasma einzelne tiefer tingirte kugelige Massen fand, welche bald darauf auch in den kleineren und größeren Zellsaftvakuolen zu finden waren (Fig. 42), so handelt es sich offenbar um eine Desorganisation plasmatischer Substanz. Die Folge dieser Desorganisation würde also vakuolige Anschwellung und damit vermehrte Farbenspeicherung sein. Mit der Vergrößerung aber mag wohl die Ursache der Ausstoßung aus dem Protoplasma gegeben sein, welche ebenso anderen fremdartigen Körpern begegnet¹⁾. Ohne einen strengen Beweis liefern zu können, gewann ich aus den Beobachtungen den Eindruck, als ob ein Farbstoffbläschen aus einem Granum hervorginge. Doch wäre es auch möglich, dass die Vakuolen in genetischer Beziehung zu den sich ablösenden Plasmaportionen stehen, die in größerer Gestalt nicht immer und nur spärlich auftreten. Diese größeren abgelösten Protoplasma Massen sind zwar wie das übrige Protoplasma gefärbt, doch könnten sie, resp. kleinere Massen durch tieferen Eingriff des Methylvioletts zur Vakuolenbildung getrieben werden, zu der allgemein plasmatische Massen befähigt sind.

Wie schon früher bemerkt, handelt es sich hier um Desorganisationen,

1) Vergl. die Beobachtungen mit Fuchsin und Bismarckbraun in Kap. X u. IX, sowie Kap. XIX.

welche ohne Sistirung der Protoplasmaströmung und ohne Vernichtung des Lebens möglich sind und die wieder regenerirt werden können. Die Vereinigung separirter Plasmamassen ist auch für andere Fälle von Desorganisation bekannt; ob auch die geringe Menge plasmatischer Substanz der künstlich erzeugten Farbstoffbläschen in das Protoplasma, unter Beseitigung des Methylvioletts, zurücktritt, lasse ich dahin gestellt.

2) Färbung im Zellsaft.

Soweit die weniger ausgedehnten Erfahrungen mit Methylviolett ein Urtheil gestatten, wird dieser Farbstoff ebenfalls überall gespeichert, wo Gerbsäure im Zellsaft sich findet, während in anderen Fällen Anhäufung von Methylviolett und Methylenblau nicht immer Hand in Hand gehen.

Die Färbung von Gerbsäureblasen wurde für *Zygnema cruciatum* und *Mesocarpus spec.* konstatirt. Mit dem im Zellsaft gelösten Gerbstoff gab Methylviolett in *Spirogyra communis* und *setiformis*, in der Wurzel von *Azolla caroliniana*, *Euphorbia peplus* und *Trianea bogotensis* ähnliche Niederschläge wie Methylenblau. Die für die Methylenblaufärbung von einigen der genannten Pflanzen entworfenen Figuren (Fig. 4, 3, 4, 6) versinnlichen auch die Fällung durch Methylviolett, abgesehen von der tief violetten Färbung, welche diesem Niederschlag zukommt.

Es kann also kein Zweifel über wesentliche analoge Zusammensetzung der durch beide Farbstoffe erzeugten Niederschläge bestehen. Ich habe mich darauf beschränkt, festzustellen, dass nach Fällung durch Methylviolett ein Niederschlag durch Ammoncarbonat nicht erzeugt wird, und dass die mit Ammoncarbonat erzielte Fällung Methylviolett speichert. Auch kommt bei Darbietung von gerbsaurem Methylviolett eine Anhäufung in den lebenden Zellen nicht zu Stande (vgl. Kap. XVIII). Ferner bietet das künstlich dargestellte gerbsaure Methylviolett hinsichtlich seiner Ausfällung und Eigenschaften gleiche Verhältnisse wie das gerbsaure Methylenblau. Da ich bei *Spirogyra communis* und *Azolla caroliniana* öfters schwach, aber deutlich violett gefärbten Zellsaft fand, scheint, wenigstens in diesen Pflanzen, das gerbsaure Methylviolett nicht immer so vollständig ausgeschieden zu werden, wie das gerbsaure Methylenblau.

Von Pflanzen, in denen nicht Gerbsäure die Ursache der Speicherung ist, erwähne ich zunächst die Wurzelhaare von *Trianea bogotensis*. In diesen fällt die Speicherung des Methylvioletts analog wie die des Methylenblaus aus, nur unterbleibt die Ausscheidung, welche die Verbindung mit dem letztgenannten Farbstoff nach einiger Zeit liefert. Die Wurzel von *Lemna minor* verhält sich insofern anders gegen Methylviolett, als dieses eine mässige Menge violetter Körnchen ausscheidet, wohl auch etwas violetten Zellsaft bestehen lässt, sowohl in den Zellen, welche mit Methylenblau farbigen Zellsaft, als in denen, welche krystallinische Ausscheidung liefern.

Eine Speicherung von Methylenblau, aber nicht von Methylviolett, wurde im Zellsaft von *Zygnema cruciatum*, *Oedogonium spec.* und *Saprolegnia ferax* beobachtet. Nach diesem verschiedenen Verhalten gegen zwei Farbstoffe ist also anzunehmen, dass die zuletzt genannten Pflanzen einen Stoff von anderer Qualität enthalten, als die früher genannten Pflanzen, in welchen beide Farbstoffe gespeichert werden. Eine deutlich kristallinische Ausscheidung wurde bisher für Methylviolett nicht beobachtet.

In den Haaren des Blattstiels von *Momordica elaterium* und *Primula chinensis*, sowie in der Keimwurzel von *Cucurbita pepo* kommt wieder, so weit ich verfolgte, mit Methylviolett im Zellsaft ähnliche Speicherung zu Wege, wie mit Methylenblau.

Nach der Speicherung in Wasser gebracht, ergab sich gleichfalls ein analoges Resultat, wie für Methylenblau. *Azolla*, *Lemma*, *Trianea* bewahrten den gespeicherten Farbstoff im Zellsaft, während dieser bei *Zygnema*, sowie bei *Spirogyra communis* und *setiformis*, sich im Laufe einiger Tage entfärbte. In beiden Fällen wurde Wachstum der gefärbten Pflanzen beobachtet.

Bei der großen Giftigkeit des Methylvioletts ist bei Pflanzen mit leicht durchlässiger Zellhaut die Anwendung sehr verdünnter Lösung geboten. Zumeist benutzte ich eine 0,0004 %, oft aber auch eine noch verdünntere Lösung, denn bei jener Verdünnung wird *Spirogyra communis* schon nach einigen Stunden, *Azolla* und *Lemma minor* nach einem Tage geschädigt oder getötet. Die Resistenz geht übrigens nicht der Färbungsfähigkeit des Protoplasmas parallel, denn diese ist in der empfindlichen *Spirogyra communis* jedenfalls geringer, als in den widerstandsfähigeren Wurzelhaaren von *Trianea bogotensis*.

Die Färbung des Protoplasmas kennzeichnet übrigens das Eindringen des Methylvioletts in Zellen, in welchen, wie in den Wurzelhaaren von *Cucurbita pepo*, eine Speicherung im Zellsaft nicht eintritt.

3) Einige spezielle Beobachtungen.

Methylviolett (Methylanilinviolett), das salzsaure Salz eines Derivats des Triphenylmethans, hat ein ungemein starkes Färbungsvermögen, so dass selbst eine 0,000005 % Lösung in dickerer Schicht noch eine deutliche Färbung zeigt. Gegen Zellwände verhält es sich ähnlich wie Methylenblau, wird aber im allgemeinen nicht so leicht wie dieses aus der gefärbten Zellwand durch Salpeter verdrängt. (Über Verhalten gegen Säuren und Alkalien vgl. Kap. XVIII.)

Trianea bogotensis.

Lässt man eine 0,0004 % Lösung einige Stunden auf die Wurzel einwirken, so trifft man in manchen Zellen der Epidermis und der Haube eine geringe Menge blauer Körnchen bei noch strömendem Protoplasma, in anderen

Zellen macht sich indess eine Schädigung dieses durch Stillstand der Strömung oder auch schon durch beginnende Färbung des Zellkerns bemerklich. Da man diese Symptome der Schädigung aber auch in Zellen trifft, in denen noch kein Niederschlag zu bemerken ist, so muss hier ein ähnliches Verhältnis obwalten, wie es hinsichtlich des Methylenblaus für die Keimpflanze von *Vicia faba* geschildert ist (p. 226). Aus dem energischen Festhalten des Methylvioletts im Protoplasma mag es wohl auch entspringen, dass in einer 0,00004 bis 0,00005 % Lösung erst nach 3 bis 4 Tagen eine kleine Menge blauen Niederschlags in den Zellen der Haube und Epidermis erschien, der aus den lebendig bleibenden Zellen bei Aufenthalt in Wasser nicht exosmirte. Die Wurzelhaare von *Trianea* dagegen nahmen aus einer so verdünnten Lösung in gleicher Zeit reichlich Farbstoff auf und selbst in einer 0,000004 % Lösung (1:100 Millionen) war der Zellsaft nach 4 Tagen ziemlich violett gefärbt. In dieser Lösung waren die Wurzeln inzwischen ordentlich gewachsen; in einer 0,00004 % Lösung fand aber in meinen Versuchen ein nur geringes oder gar kein Wachstum statt und nach 4 Tagen machte sich an manchen Wurzeln eine partielle Schädigung bemerklich.

Wurzeln, welche durch $1\frac{3}{4}$ stündigen Aufenthalt in 0,0004 % Methylviolettlösung gefärbt und dann in Wasser gehalten worden waren, hatten nach 4 Tagen, nachdem sie inzwischen ansehnlich gewachsen waren, noch farbigen Zellsaft in den Wurzelhaaren und besaßen in den zu Beginn des Versuches ausgewachsenen Zellen von Epidermis und Haube eine kleine Menge blauen Niederschlags, wie zu Anfang des Experimentes.

Lemma minor und *Azolla caroliniana*.

Nachdem die Wurzeln dieser Pflanzen durch 18stündigen Aufenthalt in einer 0,00002 % Lösung gefärbt worden waren, kamen sie in Wasser. Nach 4 Tagen boten die Wurzeln eine dem erheblichen Wachstum entsprechende Vertheilung des Niederschlags und auf eine Exosmose ließen weder die gewachsenen, noch die nicht gewachsenen Zellen schließen.

Zygnema cruciatum.

Die Gerbsäurebläschen färben sich schnell in 0,0004 % Methylviolettlösung und selbst in 0,00004 % Lösung war nach 2 Tagen die Mehrzahl der Bläschen farbig. Als Fäden, in welchen nach 2 Tagen so ziemlich sämtliche Gerbsäurebläschen sich gefärbt hatten, in Wasser kamen, waren die Gerbsäurebläschen nach 3 Tagen zumeist entfärbt.

Spirogyra communis.

Die Pflanze nimmt Methylviolett noch schneller auf als Methylenblau. — Objekte, die in einer 0,00002 % Lösung während 18 Stunden reichlichen violetten Niederschlag gebildet hatten, verloren diesen nach dreitägigem Aufenthalt zum guten Theil und nach 6 Tagen gänzlich.

VIII. Versuche mit Cyanin.

(Chinolinblau. Chinolinjodecyanin.)

Cyanin ruft ähnliche Färbungen hervor wie Methylviolett, hat aber den Vortheil, ein Indikator für saure und alkalische Reaktion zu sein. Davon abgesehen verdient Methylviolett entschieden den Vorzug, da es eher weniger giftig ist, im allgemeinen intensiver färbt als Cyanin und sich nicht, wie Cyanin, in wässriger Lösung zersetzt.¹⁾ Das mir zu Gebote stehende Cyanin (ich weiß nicht, ob es das borsaure oder ein anderes Salz des Chinolinjodecyanin war) löste sich nur sehr wenig in Wasser, welches sich indess beim Erwärmen immerhin erheblich färbte. Dieserhalb, besonders aber, weil die wässrige Lösung sich verändert, unterließ ich den Gehalt an Farbstoff in den benutzten Lösungen zu bestimmen, deren Färbung ungefähr einer 0.0004 bis 0,00002 % Methylenblaulösung gleichkam.

In den Wurzelhaaren von *Trianea bogotensis* wird ebenso schnell wie durch Methylviolett das normal fortströmende Protoplasma durch Cyanin schön himmelblau gefärbt. Bei weiterer Einwirkung trat leicht Tödtung ein, nachdem zuvor öfters nicht näher verfolgte Deformationen sich eingestellt hatten.

Nicht in allen Fällen aber geht die Färbung durch Cyanin und Methylviolett parallel. Denn das Protoplasma in *Saprolegnia ferax*, welches sich mit Methylviolett ansehnlich färbt, nimmt durch Cyanin nur einen schwach blauen Ton an, während in den Wurzelhaaren von *Azolla* das Protoplasma anscheinend tiefer durch Cyanin gefärbt wird, als durch Methylviolett.

Auch Cyanin läßt in den eben genannten Pflanzen, sowie u. a. in *Spirogyra*, *Zygnema*, *Trianea*, Zellkern und Chromatophoren ungefärbt. Dabei scheint, wie bei Methylviolett, in den Haaren von *Trianea* die Färbung sich auf die Mikrosomen und Grana zu erstrecken, doch tritt die Färbung dieser Körpertheilchen bei starker Vergrößerung weniger gut hervor, als nach der Behandlung mit Methylviolett.

Das ohne Schädigung mit Cyanin gefärbte Protoplasma verliert in Wasser seinen Farbstoff. In einem Falle war z. B. in den Wurzelhaaren von *Trianea* das zu Beginn schön blaue Protoplasma nach 4 stündigem Aufenthalt in Wasser schon stark abgeblasst und nach 24 Stunden gänzlich entfärbt. Verdünnte Lösung von Ammoncarbonat (0,2 %) rief in dem so entfärbten Plasma keine Färbung hervor.

1) Ich sehe hier ab von Ausscheidungen des Farbstoffs, welche in Methylviolett-lösungen gewisser mäßiger Verdünnung vorkommen.

Für Cyanin habe ich bisher, nach übrigens beschränkten Erfahrungen, nur Speicherung durch Gerbsäure kennen gelernt. Vermöge dieser färben sich ziemlich schnell, ohne Schädigung des Lebens, die Gerbsäurebläschen in *Zygnema cruciatum* und in dem Zellsaft der *Spirogyra communis*, sowie der Wurzel von *Azolla caroliniana* und *Trianea bogotensis* (Haube und Epidermis) entsteht, wie durch andere Farbstoffe, feinkörniger Niederschlag. In der Wurzel von *Lemna minor* und in noch geringerem Grade in den Wurzelhaaren von *Trianea bogotensis*, bilden sich hier und da einige bläuliche Körnchen, welche vielleicht dem geringen Gerbsäuregehalt dieser Organe entsprechen, eine weitere, von Gerbsäure unabhängige Speicherung aber, wie sie mit Methylenblau zu Stande kommt, unterbleibt in dem Zellsaft. Dieses ist ebenso der Fall in *Zygnema cruciatum* und, wie es scheint, in *Saprolegnia ferax*. In diesen negativen Versuchen rief auch Ammoncarbonat keine Färbung im Zellsaft der mit Cyanin behandelten Pflanzen hervor.

Der feinkörnige Niederschlag in den genannten Pflanzen ist während des Entstehens zumeist nur schwach oder kaum merklich bläulich, färbt sich indess mit der Zeit etwas mehr und nimmt nach 24 bis 48 Stunden, auch wenn die Pflanzen inzwischen in Wasser verweilen, einen ziemlich blauen Ton an. Doch wird die Färbung noch tiefer auf Einwirkung verdünnter Lösung von Ammoncarbonat (0,4 bis 0,3 %), welche ebenso den zunächst fast farblosen Niederschlag sogleich nach dem Eindringen in die lebende Zelle tief blau färbt, in dem von Anfang sich schön bläuenden Protoplasma der Wurzelhaare von *Trianea* aber keine Farbenänderung hervorruft.

Zur richtigen Beurtheilung dieser Farbenreaktion sei hier bemerkt, dass gelöstes Cyanin durch Ansäuerung mit organischen Säuren (Citronensäure, Essigsäure u. s. w.) zwar sofort entfärbt, durch Alkalien aber wieder gefärbt wird, dass aber eine solche feine Reaktion dem im Protoplasma oder dem im feinkörnigen Niederschlag des Zellsafts gespeicherten Cyanin nicht zukommt. In getödteten Zellen wurde z. B. das durch Cyanin schön blaue Protoplasma der Wurzelhaare von *Trianea* in 4 % Zitronensäure sofort viel heller, war aber nach einstündigem Verweilen in der Säure immer noch deutlich gebläut, und ähnlich verhielt sich nach dem Tode der Zellen der blaue Niederschlag in den Zellen von *Spirogyra* und *Azolla*, welcher sich eher schneller entfärbte und z. Th. nach einstündiger Einwirkung dieser Säure nicht mehr blau war. Nach solcher oder durch stärkere Säure erzielter Entfärbung stellt Ammoncarbonat die blaue Farbe wieder her.

Da also in der fraglichen Bindung sehr verdünnte Säuren Cyanin nicht entfärben, dieses aber in den Gerbsäureniederschlägen schon in neutraler Lösung sich vollkommen bläut (es genügt dazu die Tödtung der Zellen), so zeigt die zu Anfang fast unterbleibende Färbung dieser Niederschläge jedenfalls eine saure Beschaffenheit des Zellsaftes an, während, mit Rück-

sicht auf die sofortige volle Bläuung, das Protoplasma mindestens neutral sein muss. Die allmähliche Bläuung des Gerbsäureniederschlags lässt auf eine nur geringe Ansäuerung des Zellsaftes schließen, welche für unsere Objekte auch aus späteren Erwägungen hervorgeht (Kap. XVIII) und ebenso durch das Verhalten der lebenden Pflanzen gegen verdünnte Zitronensäure erwiesen wird.

Schon sehr verdünnte Zitronensäure vermag nämlich in lebendigen Zellen den deutlich gebläuten Gerbsäureniederschlag theilweise oder selbst ganz zu entfärben. Als Beispiel sei hier ein Versuch mit *Azolla* angeführt, in deren Wurzel nach 20 stündigem Verweilen in stark verdünnter Cyaninlösung der reichliche Niederschlag ziemlich blau war. Nun in 0,02 % Zitronensäure gebracht, war der Niederschlag nach 5 Stunden viel lichter geworden, z. Th. fast entfärbt, auf Ammoncarbonat trat aber sogleich die Bläuung in verstärktem Maße ein; bei Verlängerung des Aufenthaltes in obiger Säure auf 46 Stunden waren die Haare und auch ein Theil der Epidermiszellen der Wurzel von *Azolla* abgestorben, in den lebenden Zellen aber befand sich ein fast farbloser, durch Ammoncarbonat sich bläuender Niederschlag. Die Menge dieses hatte freilich durch die Exosmose des Farbstoffs abgenommen, welche durch Zitronensäure eingeleitet wird (Kap. XVIII). Auch mit *Spirogyra communis* wurden in anderen derartigen Versuchen ähnliche Resultate erzielt.

Dem entsprechend fielen auch die Versuche mit verdünnter Cyaninlösung aus, welche durch 0,042 % Zitronensäure entfärbt worden war. In dieser war nach 5 Stunden in lebenden Zellen der *Spirogyra communis* und der Wurzel von *Azolla* eine mäßige Menge von fast farblosem Niederschlag entstanden. *Azolla* war zumeist noch nach 48 Stunden lebend und auch nach dieser Zeit war der vermehrte Niederschlag im Zellsaft fast farblos. Das strömende Protoplasma der Wurzelhaare von *Trianea* hatte sich in derselben Flüssigkeit nach 5 Stunden nur schwach gefärbt, wurde aber auch durch Ammoncarbonat nicht merklich tiefer gebläut. Anscheinend hemmt also Zitronensäure die Speicherung des Cyanins, doch habe ich diese Versuche nicht weiter verfolgt und bemerke nur noch, dass das einmal gefärbte Protoplasma dieser Haare sich in verdünnter Zitronensäure (0,04 %) nicht auffallend schneller entfärbte als in Wasser.

Nach den mitgetheilten Versuchen vermag also Zitronensäure, ohne Schädigung des Lebens, in geringer Menge durch das Protoplasma zum Zellsaft zu gelangen. Weiter geht aus dem Gesagten und aus hier nicht weiter mitgetheilten Experimenten hervor, dass das durch Zitronensäure entfärbte Cyanin noch ansehnliche giftige Eigenschaften hat.

Von CERTES¹⁾ wurde eine Färbung durch Cyanin für die weißen Blutkörperchen des Frosches und für Infusorien entdeckt. Ebenso wie bei Ein-

1) Zoolog. Anzeiger 1884. IV. p. 209.

wirkung von Methylviolett, sah ich bei *Paramecium* und *Vorticella* besonders die Nahrungsballen, außerdem das Protoplasma, jedoch nicht den Kern, sich färben. Ob diese Plasmafärbung, wie CERTES meint, durch Fett bedingt ist, halte ich nicht für wahrscheinlich. Wenigstens habe ich mich überzeugt, dass Mandelöl Methylviolett nicht wässriger Lösung entzieht, und dass die Fetttropfen in *Vaucheria* sich mit Methylviolett nicht färben.

IX. Versuche mit Bismarckbraun.

Das Verhalten dieses Farbstoffs¹⁾ gegen lebendige Zellen, das ich nicht besonders eingehend studirte, dürfte wohl in verschiedenen physiologischen Fragen nutzbar gemacht werden können. Hinsichtlich der Giftigkeit stimmt Bismarckbraun ungefähr mit Methylenblau überein, und wie bei diesem rufen verdünnte Säuren und Alkalien keine auffallende Farbenänderung hervor. In heißem Wasser ist der Farbstoff ziemlich, in kaltem Wasser weniger löslich. Immerhin bleibt eine 0,004 % Lösung in normaler Zimmertemperatur klar, eine 0,01 % Lösung scheidet aber unter gleichen Verhältnissen mit der Zeit Farbstoff aus.

In der Wurzel von *Trianea bogotensis*, in welcher ich die Wirkung des Bismarckbraun auf das Protoplasma näher verfolgte, nimmt das Protoplasma in 0,004 % Lösung in 5—10 Minuten eine zwar nicht ansehnliche, aber doch bei schwacher Vergrößerung deutliche licht gelbbraune Färbung an. Weiterhin, etwa nach $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$ Stunde, werden dann einzelne kleine Partien im Protoplasma, die von dem umgebenden Plasma nicht bestimmt abgegrenzt sind, viel tiefer gelbbraun gefärbt. Als endlichen Erfolg dieser beginnenden Deformation trifft man nach 12 bis 24 stündigem Aufenthalt in obiger Lösung im Zellsaft zahlreiche tief gelbbraun gefärbte Massen. Es erinnern diese, wie die zunächst im Protoplasma auftretenden und auch jetzt noch darin vorhandenen gefärbten Partien, an abgestorbenes Protoplasma, das mit Bismarckbraun gefärbt wurde. Wie in solchem, sind auch in den fraglichen Massen Körnchen, vermuthlich zum Theil die Mikrosomen am tiefsten tingirt, während die Zwischenmasse nur wenig gefärbt ist. Diese farbigen Massen bilden zum Theil kleine Ballen, welche, wenn sie dem Protoplasma adhären, von dessen Strömungen mitgeschleppt werden können, zum Theil sind sie zu größeren Aggregaten vereinigt, welche gelegentlich so ansehnlich werden, dass sie förmliche Pfropfen im Zellsaft bilden. Auch dann strömt das übrige Protoplasma noch in normaler Weise, und so lange die Zelle lebendig ist, bleiben die Zellen und, nach Erfahrungen an anderen Pflanzen, auch die Chromatophoren ungefärbt.

Dem Aussehen nach stimmen die im Zellsaft vorhandenen Aggregate

1) Bismarckbraun ist ein Gemenge verschiedener Stoffe, von welchen der Hauptbestandtheil salzsaures Triamidoazobenzol ist.

mit den zunächst im Protoplasma auftretenden tiefer gefärbten Partien wesentlich überein und thatsächlich konnte ich, insbesondere bei Anwendung konzentrierter Farbstofflösung, den Übergang solcher Farbmassen aus dem Protoplasma in den Zellsaft direkt verfolgen. Als Produkte tiefer greifender Einwirkung auf das Protoplasma werden diese farbigen Aggregate dadurch gekennzeichnet, dass sie um so schneller auftreten, je konzentrierter die Farbstofflösung ist, in genügend verdünnter Lösung aber gar nicht erscheinen. Dies war u. a. der Fall bei 1 bis 2 tägigem Aufenthalt in 0,00005 % Lösung von Bismarckbraun, in welcher im Zellsaft sich hier und da einige winzige farbige Körnchen (wohl von Gerbsäure stammend) eingestellt hatten, während das Protoplasma gleichmäßig aber schwach gelbbraun, also so gefärbt war, wie es als Erfolg der ersten Einwirkung des Farbstoffes beschrieben wurde.

Während eine gleichmäßige Färbung durch Bismarckbraun bei Aufenthalt in Wasser aus dem Protoplasma verschwindet, erhalten sich die fraglichen gefärbten Deformationsprodukte. Diese waren u. a. in einem Versuche durch 4 stündige Einwirkung von 0,001 % Bismarckbraun in den etwas größeren Haaren in ziemlicher Menge entstanden und fanden sich nach 4 tägigem Aufenthalt in Wasser anscheinend ebenso in den Haaren vor, deren Protoplasma noch schön strömte und in sich vereinzelt kleine stärker gefärbte Partien führte. Die gefärbten Wurzelhaare, deren Wachstum leicht sistirt wird (vgl. p. 211), waren inzwischen wenig oder nicht gewachsen, während die Wurzel sich ansehnlich verlängert hatte.

Es liegt hier also ein interessanter Fall von weit gehender Ausstoßung offenbar geschädigter Massen aus dem Protoplasma vor, einer Ausstoßung, die im wesentlichen wohl analoge Bedeutung hat, wie die Entfernung fremder größerer Partikel aus dem Plasmodium eines Myxomyceten. Warum Bismarckbraun gerade so, und anders als Methylviolett wirkt, ist eine für den Augenblick nicht zu beantwortende Frage.

Das verhältnismäßig sehr resistente *Chondrioderma difforme* zeigt nach mehrstündiger Einwirkung einer 0,01 % Lösung von Bismarckbraun neben gefärbten Fremdkörpern auch einige stärker gefärbte plasmatische Partien. Einem eingehenderen Studium wurde *Chondrioderma* nicht unterzogen, ebenso nicht *Saprolegnia ferax*. In dieser Pflanze färbt sich das Protoplasma mit Bismarckbraun deutlich, bald tritt dann auch im Zellsaft eine gelbbraune Lösung oder eine Ausscheidung einzelner farbiger Körnchen ein. Auch die schwärmenden Zoosporen von *Saprolegnia* färben sich merklich mit Bismarckbraun, während ich es unentschieden lassen muss, ob die Samenfäden von *Ceratopteris thalictroides* von unserem Farbstoff ganz schwach tingirt werden.

Gerbsäure veranlasst auch Speicherung von Bismarckbraun. Ich konstatierte gelbbraune Färbung der Gerbsäurebläschen in *Zygnema cruciatum* und *Mesocarpus spec.* und gelbbraune bis braunrothe Niederschläge in *Spirogyra communis*, sowie in Haube und Epidermis der Wurzel von *Azolla* und *Trianea*. Diese Niederschläge gleichen an Masse und Gestaltung den im Zellsaft dieser Pflanzen durch Methylenblau entstehenden Ausscheidungen, und ähnlich wie die Gerbsäureverbindung des Methylenblaus, verhält sich das gerbsaure Bismarckbraun hinsichtlich der Ausscheidung bei künstlicher Darstellung.

Gerbsäure fehlt aber ganz oder fast ganz in den Blättern von *Elodea canadensis*, und in der Wurzel von *Lemna minor*, in welchen Bismarckbraun einen reichlichen, aus Körnchen bestehenden Niederschlag erzeugt, ebenso in *Saprolegnia*, die in der schon mitgetheilten Weise im Zellsaft unseren Farbstoff speichert. Dieser erzielt auch im Zellsaft von *Zygnema* eine mäßige Menge eines anscheinend krystallinischen Niederschlags. In den Wurzelhaaren von *Trianea* dagegen bemerkte ich, abgesehen von den wenigen Körnchen, keine Speicherung von Bismarckbraun.

Wachsthum nach der Speicherung und Festhalten des gespeicherten Farbstoffs wurde außer für *Trianea* noch für die Wurzel von *Azolla* und *Lemna minor* konstatiert. Nach einem Versuche scheint es, als ob *Zygnema cruciatum* diesen Farbstoff nicht oder doch nur sehr langsam ausgibt. Es waren nämlich die Gerbsäurebläschen in den lebenden Zellen von *Zygnema cruciatum* nach 6 tägigem Aufenthalt in Wasser noch schön gefärbt, nachdem zuvor ihre Färbung durch 2 tägige Einwirkung einer 0,0005 % Lösung von Bismarckbraun erzielt worden war.

Die Färbung im Protoplasma der Protozoen durch Bismarckbraun und die Erhaltung dieser Färbung nach Übertragen in Wasser wurde von BRANDT¹⁾ beobachtet. BRANDT sieht fettartige Massen als Ursache der Speicherung an, doch bezweifle ich, dass diese Annahme richtig ist, da ich auch durch Bismarckbraun die Fetttröpfchen in *Vaucheria* sich nicht färben sah (vgl. p. 239).

X. Versuche mit Fuchsin.

Fuchsin (salzsaures Rosanilinsalz) ist nicht schädlicher als etwa Methylenblau, obgleich es, wie auch Bismarckbraun, im lebenden Protoplasma Färbung erzielt.

Die Färbung des Protoplasmas verfolgte ich nur in den Haaren von *Trianea*, in welchen, so wie in anderen Pflanzen, der Zellkern ungefärbt bleibt. Das übrige Protoplasma nimmt schnell einen gelbröthlichen Ton an und erst bei längerer Einwirkung beginnen Deformationen. Durch diese wurde zum Theil Vakuolenbildung, wie durch Methylviolett, zum Theil Aus-

1) Biolog. Centralblatt 1884. Bd. 4. p. 204.

scheidung plasmatischer Masse in den Zellsaft, wie durch Bismarckbraun erzielt. Solche Erscheinungen treten aber nicht regelmäßig auf, unterbleiben wohl auch ganz, trotz genügender Konzentration der Farblösung. Welche Ursachen in diesem verschiedenen Erfolge mitspielen, habe ich nicht zu erforschen gesucht; übrigens schien es mir, als ob unter demselben Namen bezogene Präparate nicht ganz gleichartig wirkten.

Die Deformation ist, wie auch bei Bismarckbraun und Methylviolett, von gewisser Konzentration des Farbstoffs abhängig und unterblieb z. B. in einer verdünnten Fuchsinlösung (0,0004 %), in welcher der Zellsaft sich durch Speicherung des Farbstoffs roth färbte. Nach Erzielung der fraglichen Deformation durch 0,004 % Lösung in Wasser gebracht, fanden sich nach 3 Tagen in den lebendigen Wurzelhaaren von *Trianea* die fraglichen plasmatischen Massen und ein Theil der Vakuolen vor. Aus dem Verschwinden eines Theiles der Vakuolen ersieht man, dass gegenüber Methylviolett, in welchem die erzeugten Vakuolen schneller vergehen, nur ein gradueller Unterschied besteht. (Vgl. p. 250 und für Bismarckbraun p. 262.)

Vermöge der Speicherung durch Gerbsäure färbt Fuchsin die Gerbsäurebläschen in *Zygnema* roth und erzeugt in *Spirogyra*, sowie in Haube und Epidermis der Wurzel von *Trianea* einen feinkörnigen Niederschlag. In der Wurzel von *Azolla* entsteht, auch nach längerer Einwirkung des Farbstoffs, eine verhältnismäßig geringe Menge des rothen Niederschlags, weil in dem roth gefärbten Zellsaft ein Theil des gerbsauren Fuchsin gelöst bleibt. Da auch in *Spirogyra* der Zellsaft öfters deutlich roth bleibt, scheint sich das gerbsaure Fuchsin überhaupt unvollständiger, jedoch in spezifisch verschiedenem Maße auszuschcheiden. Übrigens wird das gerbsaure Fuchsin thatsächlich durch Salpeter nicht so weitgehend ausgeschieden, wie das gerbsaure Methylenblau.

In Wurzelhaaren von *Trianea* bildet sich der rothe Zellsaft, dessen schon Erwähnung geschah, in analoger Weise aus, wie bei Speicherung des Methylenblaus. In diesem Falle ist also Gerbsäure die Ursache der Speicherung nicht. Durch Gerbsäure nicht oder doch nicht allein bedingt ist auch die freilich ziemlich geringe Anhäufung des Fuchsin in der Wurzel von *Lemna minor*, in welcher neben einigen rothen Körnchen zum Theil schwache Röthung des Zellsaftes eintritt. In dem Zellsaft von *Zygnema* wurde eine Speicherung vermisst. Übrigens macht sich eine schwache Röthung des Zellsaftes viel weniger bemerklich, als eine blaue oder violette Färbung, und so kann eine geringe Färbung des Zellsaftes um so leichter übersehen werden, als öfters, z. B. in der Wurzel von *Azolla* und *Trianea* (Haube und Epidermis), der Zellsaft von Haus aus ein freilich sehr geringes röthliches Kolorit besitzt, welches namentlich nach Konzentration des Zellsaftes durch Plasmolyse zu bemerken ist.

Wachsthum nach der Speicherung und Festhalten des angehäuften Farbstoffs in den Zellen wurde für *Spirogyra*, sowie für die Wurzel von *Azolla* und *Trianea* festgestellt. — *Spirogyra communis* verlor in Wasser den gespeicherten Farbstoff nach 7 Tagen und, der Exosmose entsprechend, kam in einer 0,0004 % Fuchsinlösung nur sehr geringe Speicherung zu Stande.

XI. Versuche mit Safranin.

Für die in Wasser lösliche Handelswaare dieses Farbstoffs ergab sich nach den Beobachtungen an *Spirogyra communis*, sowie an der Wurzel von *Trianea* und *Azolla*, eine ähnliche Speicherung wie für Methylenblau, mit welchem Safranin auch hinsichtlich der giftigen Eigenschaften so ziemlich übereinstimmt. Außerdem färbt aber Safranin auch das Protoplasma und zwar deutlicher als Fuchsin. Diesem gegenüber verdient Safranin den Vorzug, da sowohl die Färbung im Protoplasma als im Zellsaft weit mehr hervorsticht. Da aber die blauen und violetten Färbungen durch Methylenblau, resp. Methylviolett sich in noch höherem Grade bemerklich machen, dürften diese Farbstoffe zumeist vorzuziehen sein, doch wird für bestimmte Zwecke die Safraninfärbung gute Dienste leisten können.

XII. Versuche mit Methylorange.

Dieser mehrfach¹⁾ als Indikator beim Titriren empfohlene Farbstoff ist bei genügender Verdünnung gelborange. Verdünnte Alkalien ändern diese Farbe nicht, während durch Säuren, auch durch organische, sogleich ein scharf hervortretender Übergang in rothbraun erzielt wird.

Nach den wenigen angestellten Versuchen ist dieser Farbstoff in nur geringem Grade giftig, denn in 0,04 % Lösung, welche in allen mitzutheilenden Experimenten benutzt wurde, hatte selbst die empfindliche *Spirogyra communis* nach 24 Stunden nur theilweise gelitten.

In den Wurzelhaaren von *Trianea*, deren Zellsaft nicht speichert, war nach 20 stündigem Aufenthalt in besagter Lösung das schön strömende Protoplasma zwar nicht stark, jedoch in dickerer Schicht deutlich gelborange gefärbt. Ließ man dann unter Deckglas 0,2 % Zitronensäure zutreten, so nahm das zunächst noch fortströmende Protoplasma sogleich einen röthlichen Ton an, der auch nach 1 bis 2 Minuten langem Eintauchen in eine 0,07 % Lösung von Zitronensäure hergestellt war. Durch etwas verdünnte Ammoncarbonatlösung wurde der früher gelborange Ton in dem lebenden Protoplasma regenerirt. Eine solche Wiederherstellung gelboranger Färbung

1) LUNGE, Berichte d. deutsch. chem. Ges. 1886. Bd. 18. p. 3290; THOMSON, ibd. 1884. Bd. 17 (Referate). p. 446. — Unter dem Namen Helianthin kommt theilweise dieser, theilweise ein anderer Farbstoff in den Handel.

scheint auch nach Entfernung der Zitronensäure einzutreten. Da diese Farbenänderung aber erst allmählich zu Stande kommt und mit der Zeit das Protoplasma sich entfärbt, so vermag ich nach meinen unzureichenden Beobachtungen in dieser Hinsicht kein bestimmtes Urtheil zu fällen.

Nach 24stündigem Aufenthalt in besagter Lösung von Methylorange hatte sich, neben etwas röthlichem Zellsaft, in *Spirogyra communis* eine ziemliche Menge eines röthlichen feinkörnigen Niederschlags gebildet. Von diesem war, ähnlich wie bei Fuchsinwirkung, in *Azolla* nur wenig enthalten, während der Zellsaft deutlich röthlich gefärbt war. Diese Färbung trat bei schwacher Plasmolyse besser hervor und wurde bei stärkerer Plasmolyse auch gekennzeichnet durch die Rothfärbung der ausgeschiedenen, den Farbstoff speichernden Gerbsäurekugeln. Solche Rothfärbung zeigt also eine saure Reaktion des Zellsaftes an, dessen Kolorit deshalb auf Einwirkung von Ammoncarbonat nach gelborange sich ändert. Dieses geschieht in *Azolla*, bevor eine Fällung eintritt, da genügende verdünnte Lösung von Ammoncarbonat (0,05%) die Ausscheidung des gerbsauren Eiweißstoffes erst nach längerer Einwirkung hervorruft.

Augenscheinlich zeigt unser Farbstoff die Ansäuerung des Zellsaftes besser an, als Cyanin, dessen Blaufärbung aber unverhältnismäßig deutlicher hervortritt. In wie weit die Bindung an ungelöste Körper die Reaktionsfähigkeit von Methylorange beeinflusst, habe ich nicht untersucht (vgl. p. 260). Überhaupt war es mir hier nur darum zu thun, nachzuweisen, dass es möglich ist, mittels Methylorange auf saure und alkalische Reaktion in der lebendigen Zelle zu prüfen.

XIII. Versuche mit Tropäolin 000, Tropäolin 00, Rosolsäure.

Tropäolin 000, welches in verdünnter Lösung durch Säure gelborange, durch Alkalien schön roth wird, scheint nach den wenigen mir zu Gebote stehenden Erfahrungen weniger geeignet zu sein, als Methylorange, um die Reaktion im Zellsaft oder im Protoplasma zu ermitteln. Tropäolin 000 ist so wenig giftig, dass nach 2tägigem Aufenthalt in einer 0,04% Lösung die zu nennenden Pflanzen ganz unbeschädigt waren und folgendes Resultat ergaben.

In den Wurzelhaaren von *Trianea* hatte das Protoplasma eine schwach röthliche Färbung, der Zellsaft war ungefärbt. In der Wurzel von *Azolla* war ein wenig gelbröthlicher Niederschlag entstanden, welcher durch etwas Ammoncarbonat stärker geröthet wurde. In *Spirogyra communis* wurde eine Speicherung vermisst. Da eine solche auch in manchen Zellen der Wurzelepidermis von *Azolla* fast ganz fehlte, dürfte dieses negative Resultat in *Spirogyra* durch eine offenbar verhältnismäßig langsame Aufnahme dieses Farbstoffes bedingt sein, doch muss die Entscheidung ferneren Untersuchungen überlassen bleiben.

Tropäolin 00, welches in Wasser schwer löslich ist, schädigte in der kalt gesättigten Lösung *Trianea*, *Azolla*, *Spirogyra* nicht, ließ aber auch keine Speicherung erkennen.

Hinsichtlich anderer Indikatoren wurde durch einen beiläufigen Versuch für Rosolsäure konstatiert, dass sie das strömende Protoplasma der Wurzelhaare von *Trianea* etwas röthlich zu färben vermag. Im Zellsaft war dagegen eine Speicherung weder in *Spirogyra communis*, noch in der Wurzel von *Trianea* und *Azolla* zu bemerken, auch nicht nach Zusatz von Ammoncarbonat. Für Phenolphthalein, das in etwas Natroncarbonat gelöst war, ließ sich eine Aufnahme in die eben genannten Pflanzen nicht erkennen.

XIV. Versuche mit anderen aufnehmbaren und nicht aufnehmbaren Farbstoffen.

Weitere Prüfung wird die Zahl der speicherungsfähigen Anilinfarben noch erheblich vermehren können. So habe ich u. a. beiläufig Speicherung für Methylgrün, Jodgrün, Hoffmann's Violett und Gentianaviolett konstatiert und, so weit einige Versuche ein Urtheil gestatten, scheint Methylgrün sich wesentlich wie Methylviolett zu verhalten.

Indess sind nicht alle Anilinfarben speicherungsfähig und für einige habe ich direkt nachgewiesen, dass sie nicht in die lebendige Zelle eindringen. Speicherung wurde in Versuchen mit *Spirogyra*, sowie mit der Wurzel von *Trianea*, *Azolla*, *Lemna* nicht gefunden für Nigrosin¹⁾, Anilinblau²⁾ und die im Handel als Methylblau, Marineblau und Anilingrau vorkommenden Präparate, ferner nicht für Eosin³⁾ und Kongoroth⁴⁾. Eosin tödtete die eben genannten Pflanzen in 0,4 % Lösung, ließ sie aber in 0,01 % Lösung während 24 Stunden am Leben. Von den andern Farbstoffen schädigte keiner in 0,4 % Lösung, und Anilinblau, resp. Nigrosin wurden in noch konzentrierter Lösung von der Wurzel von *Trianea* und von *Spirogyra communis* während 3 Tagen ohne Schaden ertragen. Auch war in einer gesättigten Anilinblaulösung, die längere Zeit bei Seite gestanden hatte, *Penicillium* erwachsen.

Die Unschädlichkeit so tief gefärbter Lösungen erlaubt zu zeigen, dass Anilinblau und Nigrosin nicht eindringen. Denn fände in den Haaren nur Aufnahme, aber keine Speicherung statt, so müsste in einer 4 % Lösung von Anilinblau und in einer 0,5 % von Nigrosin der Zellsaft im Laufe von

1) So viel ich aus der Literatur ersehen kann, ist Nigrosin das Alkalisalz einer Sulfosäure.

2) Vgl. PFEFFER, Osmot. Unters. 1877. p. 128. Ich weiß nicht, ob das Präparat eine Sulfosäure oder ein Salz einer solchen ist.

3) Das bläuliche Eosin, welches ich verwandte, dürfte wohl das Natriumsalz von Tetrajodfluorescin sein.

4) Kongoroth wurde jüngst von JULIUS, sowie von v. HÖSSLIN (Chem. Centralblatt 1886. p. 435) als Indikator für Säuren und Alkalien empfohlen.

3 Tagen deutlich gefärbt worden sein, wenn sich in ihm nach diosmotischen Gesetzen eine der Außenflüssigkeit entsprechende Menge des Farbstoffs gesammelt hätte. Thatsächlich war aber unter diesen Umständen nur farbloser Zellsaft zu finden, wenn die Versuchsobjekte schnell in 1% Salpeterlösung abgeschwenkt und sogleich beobachtet wurden. Dagegen enthielten todte Haare bei gleicher Behandlung deutlich gefärbten Inhalt, der allmählich seinen Farbstoff nach außen abgab, und so wurde zugleich dargethan, dass thatsächlich vermöge dieser Methode eine ausgiebige Aufnahme der Beobachtung zugänglich wird. Die Färbung der Zellwand erschwert freilich die Beobachtung, doch trifft man nach kurzer Behandlung mit Salpeter hier und da Haare, deren Zellwand sich entfärbt hat.

Nach dieser Methode konstatierte ich auch die Nichtaufnahme von Indigkarmin, nachdem *Spirogyra setiformis* und die Wurzeln von *Trianea* in 0,7% Lösung sich während 4 Tage lebend erhalten hatten. Da dieser Farbstoff die Zellwände nicht tingirt, tritt die Nichtaufnahme noch präziser hervor.

Die Nichtspeicherung bei Darbietung von gerbsaurem Methylenblau und Methylviolett lehrt übrigens, dass nicht jede Verbindung eines Farbstoffs zur Aufnahme geeignet ist, und so lässt sich nicht absehen, ob nicht andere Verbindungen dieser hier mit negativem Resultat geprüften Farbstoffe ein anderes Ergebnis liefern. Mit Gerbsäure geben beiläufig Anilinblau, Nigrosin und Eosin bei Zusatz von Salpeter Niederschläge, und wenn auch die Flüssigkeit gefärbt abläuft, so ist die Ausscheidung doch wohl ebenso weitgehend, wie bei Darstellung des gerbsauren Methylorange.

Unter Verwendung der vorhin genannten Versuchspflanzen wurde ferner keine Speicherung gefunden für folgende anderweitige Farbstoffe: Alizarin (0,001%) in etwas Kali gelöst; Hämatoxylin (0,01 u. 0,001%)¹⁾; Brasilin (0,001%); Pikrinsäure (0,001%); Karminsäure und Karmin in etwas Kali. In den benutzten Lösungen wurden die Pflanzen während 24 Stunden nicht geschädigt.

Ich habe hier nur immer diosmotische Aufnahme im Auge und sehe demgemäß ab von der Aufnahme fester Partikel in Myxomyceten (Kap. XIX), und von dem Verschlingen der Nahrung durch Infusorien, in welchen sich die Nahrungsballen auch dann färben, wenn ihnen Anilinblaulösung als Aufenthaltsort angewiesen wird.

XV. Historisches über Aufnahme von Farbstoffen.

Eine Aufnahme oder Ausgabe gelöster Farbstoffe war bisher für lebendige Pflanzenzellen unbekannt²⁾. Denn die im Zellsaft sich findenden

1) PFEFFER, Osmot. Unters. 1877. p. 128.

2) Es ist hier natürlich abzusehen von der Aufnahme der Farbstoffe in den Pflanzenkörper, die seit alten Zeiten vielfach verfolgt wurde (vgl. Lit. in PFEFFER, Physiologie I. p. 123).

gelösten Farbstoffe diosmiren nicht, so lange die Zelle lebt, eine Thatsache, deren fundamentale Bedeutung von NÄGELI¹⁾ klargestellt wurde, und Versuche mit farbigen Lösungen ergaben ein negatives Resultat. Solche Versuche sind wohl zuerst von TH. HARTIG²⁾ mit Lackmus, mit Saft von *Phytolacca decandra* und mit Karminlösung angestellt.

Dagegen wurde Aufnahme von Farbstoffen und Färbungen des lebendigen Protoplasmakörpers für animalische Zellen mehrfach nachgewiesen. So lernte HEIDENHAIN³⁾ die spezifische Befähigung der Epithelzellen in den Harnkanälchen der Niere kennen, Indigokarmin zu speichern, wenn eine Lösung dieses Salzes in das Blut injiziert wird. Dabei färbt sich besonders intensiv der Zellkern, entfärbt sich aber, wie die ganze Zelle, allmählich wieder, indem der Farbstoff in die Harnkanälchen secernirt wird. Eine solche spezifische Befähigung zur Speicherung von Indigokarmin konnte ich bisher im Pflanzenreich nicht auffinden, und auch secernirende Zellen, wie die Drüsenhaare des Blattes von *Pinguicula vulgaris*, gaben ein negatives Resultat.

Der Färbung durch Bismarckbraun im Körper der Protozoen, welche BRANDT entdeckte, geschah schon (p. 264) Erwähnung. Nach diesem Forscher⁴⁾ vermag ferner Hämatoxylin in Amöben und Heliozoen während des Lebens den Zellkern blassviolett zu färben und nach längerer Einwirkung auch die pulsirende Vakuole zu tingiren. In jüngster Zeit berichtete BRANDT⁵⁾ auch über Färbungen durch Nitrotoluidin, welche insbesondere Ölmassen treffen sollen. In *Trianea*, *Spirogyra*, sowie in der Fetttröpfchen führenden *Vaucheria* ergab mir ein Versuch keine Färbung durch Nitrotoluidin, das der wässerigen Lösung auch nicht durch Mandelöl entzogen wurde.

Die von CERTES aufgefundene Färbung durch Cyanin in Infusorien und in den weißen Blutkörperchen des Frosches ist schon erwähnt worden (p. 264).

Ferner fand DRESER⁶⁾ in den Epithelzellen der Harnkanälchen der Froschniere Bildung rother Körnchen durch Säurefuchsin (Handelswaare Rubin S) und auch Färbungen in den Kernen einzelner Zellen mit Fuchsin, Bordeauxroth und Säureviolett. Nach unserem Autor haben die entsprechenden Epithelzellen in der Kaninchenniere die Fähigkeit, aus Methylenblau (aber nicht

1) Pflanzenphysiol. Unters. 1855. Heft I. p. 5.

2) Bot. Ztg. 1853, p. 344; Entwicklungsgeschichte des Pflanzenkeims 1858. p. 6 u. 25. Die Angaben von OSBORNE (vgl. GIERKE, Färberei zu mikroskopischen Zwecken 1885. p. 9), nach denen sich die Zellkerne in den in Karminlösung wachsenden Pflanzen färbten, beruhen offenbar auf Beobachtungen an thatsächlich abgestorbenen Zellen.

3) Archiv f. d. gesammte Physiol. 1874. Bd. 9. p. 4; HERMANN, Handbuch der Physiologie 1883. Bd. V. Abth. 4. p. 346.

4) Biol. Centralblatt 1884. Bd. I. p. 202.

5) Monographie der koloniebildenden Radiolarien in Fauna und Flora d. Golfs v. Neapel 1885. p. 17, 38.

6) Zeitschrift f. Biologie 1885. N. F. Bd. 3. p. 48, 54.

aus Indigkarmin) die Leukofarbe zu bilden, die in Körnchen gespeichert wird, welche sich an der Luft bläuen¹⁾. Eine solche Reduktion von Farbstoffen, auf welche ich weiterhin noch zu sprechen komme, wurde auch von EHR-
LICH²⁾ für Methylenblau und schon früher³⁾ für Alizarinblau und Indophe-
nolblau in lebendigen Geweben verfolgt. Doch vermag ich aus den Mit-
theilungen nicht zu entnehmen, ob dabei eine Aufnahme in lebende Zellen
eintrat, die zur Erzielung einer Reduktion nach den Erfahrungen mit gäh-
rungsthätiger Hefe nicht nothwendig ist. Als Beispiele für Aufnahme von
Farbstoffen in lebendige Zellen können deshalb diese Versuche von EHR-
LICH nicht angeführt werden, ebenso nicht die von anderen Forschern durchge-
führten Experimente, in welchen nach Injektion von Alizarin ins Blut eine
Rothfärbung der Knochen zu Stande kam.

XVI. Vergleichende Betrachtungen über die Färbung durch verschiedene Anilinfarben.

Eine Aufnahme in und durch den Organismus der lebendigen Zelle wurde bisher für folgende Lösungen von Anilinfarben beobachtet: Methylen-
blau, Methylviolett, Cyanin, Bismarekbraun, Fuchsin, Safranin, Methyl-
orange, Tropäolin 000, nebenbei auch für Methylgrün, Jodgrün, Hoff-
mann's Violett, Gentianaviolett und für Rosolsäure. Ein negatives Resultat
ergaben dagegen die Versuche mit Nigrosin, Anilinblau, Methylblau,
Marineblau, Anilingrau, Eosin und Kongoroth. Für Nigrosin und Anilinblau
wurde direkt ermittelt, dass dieses negative Resultat nicht durch mangelnde
Speicherung, sondern durch Nichtaufnahme in die lebende Zelle bedingt ist.

Über Aufnahme oder Nichtaufnahme vermag nur die empirische Er-
fahrung zu entscheiden, da die chemische Qualität des Farbstoffs zur Zeit
keinen Einblick in die besondere Wechselwirkung zwischen Farbstoff und
Protoplasma eröffnet, welche, wie weiterhin gezeigt wird, maßgebend für
die Aufnahme ist. Bei der Aufnahme kommt als ein Faktor natürlich stets der
Farbstoff in Betracht, der deshalb auch nicht in jeder gelösten Verbindung
aufnahmefähig sein muss, wie aus der Nichtaufnahme der Gerbsäureverbin-
dung des Methylenblaus und des Methylvioletts hervorgeht. Die Bedeutung
der spezifischen Eigenthümlichkeit des Protoplasmas wird aber z. B. da-
durch gekennzeichnet, dass pflanzliche Zellen nachweislich Indigkarmin
nicht aufnehmen, während dieses seinen Weg in bestimmte Zellen der
Niere findet. Die Aufnahme ist keineswegs an eine schädigende Einwir-
kung auf das Protoplasma gekettet, denn die Farbstoffe werden bei genügen-
der Verdünnung ohne Benachtheiligung des Organismus aufgenommen; auch
sind Methylorange und Tropäolin 000 nicht giftiger als Eosin, und doch

1) L. c. p. 59, 63.

2) Deutsche Medic. Wochenschrift 1886. Nr. 4.

3) Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus 1885. p. 30, 72 u. s. w.

war nur für die beiden zuerst genannten Farbstoffe eine Speicherung nachzuweisen. Übrigens versteht man, wie eine giftige Wirkung leichter bei Aufnahme als bei Nichtaufnahme in den Protoplasmakörper zu Stande kommen kann.¹⁾

Bei Verwendung verdünnter Lösung wird die Aufnahme nur bemerklich, sofern in der lebendigen Zelle durch Anhäufung des Farbstoffs eine stärkere Färbung erzielt wird. Eine solche Färbung durch Speicherung wurde sowohl im lebendigen Protoplasmakörper als im Zellsaft beobachtet. Speicherung im Zellsaft wurde für alle fraglichen Anilinfarben mit Ausnahme von Rosolsäure, Speicherung im Protoplasma für alle mit Ausnahme von Methylenblau festgestellt. Mit Hinweis auf die speziellen Mittheilungen über die einzelnen Farbstoffe und auf die allgemeine Behandlung verschiedener Fragen bei Besprechung von Methylenblau und Methylviolett beschränke ich mich hier auf die Zusammenfassung einiger wesentlichen Punkte, um anschließend einige, namentlich die Speicherung im Protoplasma betreffende Fragen zu diskutieren. In allen Fällen darf nicht vergessen werden, dass zur richtigen Charakterisirung der Besonderheiten der einzelnen Farbstoffe die derzeitigen Erfahrungen nicht ausreichen, welche zumeist, abgesehen von Methylenblau und Methylviolett, sich auf Versuche mit nur wenigen Pflanzen stützen.

Eine Speicherung im Zellsaft wird, von Rosolsäure abgesehen, allgemein durch Gerbsäure bedingt, denn das negative Resultat, das *Spirogyra* gegenüber Tropäolin 000 ergab, mag wohl durch die thatsächlich schwierigere Aufnahme dieses Farbstoffs bedingt worden sein. Demgemäß färben sich Gerbsäureblasen (nicht festgestellt für Safranin, Methylorange, Tropäolin), und wo Gerbsäure im Zellsaft gelöst ist, veranlasst diese feinkörnigen Niederschlag oder daneben farbige Lösung. Verhältnismäßig viel der entstehenden Gerbsäureverbindung bleibt gelöst bei Speicherung von Tropäolin 000, Methylorange und Fuchsin, während bei Methylenblau, Methylviolett und Safranin die Ausfällung so weit geht, dass gewöhnlich gelöster Farbstoff im Zellsaft nicht zu erkennen ist. Doch kann merkliche Färbung des Zellsafts auch bei Methylenblau und Methylviolett vorkommen, wie denn überhaupt, außer den Eigenthümlichkeiten der Gerbsäureverbindung einzelner Farbstoffe, verschiedene Umstände auf die mehr oder weniger weitgehende Ausscheidung einer Gerbsäureverbindung Einfluss haben.

Gleiche Übereinstimmung hinsichtlich der Speicherung im Zellsaft besteht nicht, wo diese durch einen anderen Körper als Gerbsäure bedingt ist. Die Natur dieser anderen Stoffe ist noch nicht ermittelt, doch handelt es sich offenbar um verschiedene Körper. So theilen z. B. die Wurzelhaare von *Trianea* die Speicherung von Methylenblau mit *Zygnema*, letztere aber hat die Anhäufung von Bismarckbraun, jene die Speicherung von Methylviolett

1) Vergl. PFEFFER, Osmot. Unters. 1877. p. 144 Anm.

voraus. Die Wurzel von *Lemna* unterscheidet sich gleichfalls durch die Speicherung von Bismarckbraun von *Trianea* (deren Wurzelhaare Bismarckbraun nicht speichern), durch eine freilich nur mäßige Anhäufung von Methylviolett, aber auch von *Zygnema*, deren Zellsaft durch Methylviolett nicht gefärbt wird.

Auch diese Nicht-Gerbstoffe erzielen zum Theil farbigen Zellsaft, zum Theil Ausscheidung, welche für Methylenblau oft krystallinisch gefunden wurde. Dieser letztere Farbstoff bietet auch Beispiele für nachträgliche Ausscheidung der zunächst gelösten Verbindung und für Beeinflussung dieser Ausscheidung durch die im Zellsaft gebotenen Verhältnisse. Bei Besprechung der Resultate mit Methylenblau ist auch gezeigt, dass in dem Zellsaft einer Zelle zwei verschiedene speichernde Körper vereint sein können, dass ferner die Zellen einer Pflanze, wie in ihrer stofflichen Qualität, auch hinsichtlich der Speicherung der Farbstoffe verschieden seien und ihre diesbezüglichen Eigenschaften mit der Entwicklung und wohl auch aus anderen Ursachen ändern können.

Protoplasmafärbung wurde, wie bemerkt, für alle als aufnahmefähig bezeichneten Anilinfarben, mit Ausnahme von Methylenblau, beobachtet. Die Färbung im lebenden Protoplasma fällt zum Theil ziemlich ansehnlich, zum Theil aber auch nur schwach aus, vermöge der spezifisch ungleichen Speichermöglichkeit, deren bei Methylviolett gedacht wurde. Auch ist bei Besprechung der Färbung durch Cyanin gezeigt, dass das Speichervermögen des Protoplasmas einer Pflanze ungleich gegenüber verschiedenen Farbstoffen ist. Der zumeist nur mäßigen Farbstoffaufnahme des lebendigen Protoplasmas halber sind für nähere Studien über die Speicherung stark hervortretende Färbungen, wie violette und blaue Färbung, vorzuziehen.

Während des Lebens wurde eine zweifellose Färbung des Zellkerns oder der Chromatophoren nicht beobachtet, doch ist nicht ausgeschlossen, dass andere Pflanzen oder Versuche mit anderen Farbstoffen zu anderem Resultate führen. Thatsächlich ist z. B. eine Färbung des Kerns durch Indigkarmin in lebenden Zellen der Niere nachgewiesen. In dem übrigen Protoplasmakörper färben sich anscheinend immer bestimmte geformte Körpertheile allein oder doch vorwiegend. Dass auch in dieser Hinsicht spezifische Differenzen bestehen, lehren die wenigen Erfahrungen mit Methylviolett, nach welchen die in *Trianea* sich intensiv färbenden Mikrosomen in *Saprolegnia* und *Momordica* nicht gefärbt werden. Aus der Farbenspeicherung allein auf die metaplasmatische Natur der sich färbenden Partikel zu schließen, würde nicht gerechtfertigt sein, und die erwähnte Indigkarminfärbung lehrt eine Farbstoffaufnahme in ein spezifisches Organ des lebendigen Protoplasmakörpers kennen.

Diese Färbungen des Protoplasmas schädigen das Leben der Pflanzen nicht, verschwinden aber allmählich, so weit die Beobachtungen mit Methylviolett, Cyanin, Fuchsin, Bismarckbraun ein Urtheil gestatten, wenn die

Zufuhr des Farbstoffs abgeschnitten wird. Ohne Tödtung können sogar durch intensivere Einwirkung der eben genannten Farbstoffe gewisse Deformationen im Protoplasma erzielt werden, welche übrigens bisher nur in den Wurzelhaaren von *Trianea*, nicht in anderen Pflanzen, beobachtet wurden. Ohne näher auf die Gestaltung dieser Deformationen einzugehen, sei hier bemerkt, dass die durch Methylviolett veranlasste Vakuolenbildung wieder rückgängig werden kann, während unter dem Einfluss von Bismarckbraun sich stark färbende plasmatische Massen in den Zellsaft ausgestoßen werden und in diesem als Excrete zu verharren scheinen. Eine Schädigung war aber immer erzielt, sobald eine Färbung des Zellkerns durch Methylenblau, Methylviolett oder Fuchsin sich bemerklich machte. Zwar waren zu Beginn und zuweilen selbst nach ziemlichem Fortschreiten dieser Färbung die Zellen noch plasmolysirbar, aber die Protoplasmaströmungen waren immer sistirt, sobald eine Färbung im Kerne deutlich wurde, und in den von mir beobachteten Fällen kehrte unter solchen Umständen das Leben nicht wieder zurück.

Bei färbungsfähigem Protoplasma tritt zunächst schnell eine Färbung dieses ein, und bald darauf beginnt Speicherung im Zellsaft bemerklich zu werden (Beobachtungen mit Methylviolett und Fuchsin). Es wird also so sichtbar der Weg gekennzeichnet, welchen natürlich auch Methylenblau nehmen muss, um in den Zellsaft zu gelangen. Wie in diesem Falle, unabhängig von einer Färbung des Protoplasmas, Speicherung im Zellsaft zu Stande kommt, tritt diese letztere keineswegs immer ein, wenn das lebende Protoplasma sich tingirt. Denn nicht in jeder Zelle enthält der Zellsaft einen Körper, welcher Speicherung veranlasst, die nur zu Stande kommt, insofern der zunächst in geringer Menge eintretende Farbstoff in eine nicht diosmirende Verbindung übergeführt und so fortdauernde diosmotische Bewegung in die Zelle veranlasst wird. Die Existenz einer solchen Verbindung wird bei Entstehung von Ausscheidungen direkt vor Augen geführt, ist aber, wie bei Behandlung der Methylenblaufärbung erörtert wurde, auch in farbigen Säften, schon der Anhäufung des Farbstoffs halber, zu fordern. Auch verbleibt bei Aufnahme von Fuchsin, Methylorange und Tropäolin ein kleinerer oder größerer Theil der Gerbsäureverbindung in Lösung, während die Gerbsäureverbindung bei Aufnahme von Methylenblau oder Methylviolett fast vollständig ausgeschieden wird.

Bei günstigen Speicherungsbedingungen kann eine große Menge von Farbstoff in der Zelle angehäuft werden. Nach Versuchen mit Methylenblau entsprach tief tingirter Zellsaft, der Färbung nach, einer 4 % Farbstofflösung und dem Anschein nach werden die anderen Farbstoffe ebenso reichlich wie Methylenblau gespeichert. Insbesondere springt da, wo Gerbsäure die Ursache ist, sofort in die Augen, wie mit einem nachweislich geringeren oder größeren Gehalte an Gerbsäure die Anhäufung gering oder erheblich ausfällt. Der nicht diosmirenden Verbindung halber kann im Zellsaft eine konzentrierte

Lösung eines in anderer Verbindung sehr giftigen Farbstoffes bestehen, weil die Schädigung ein Eindringen in den Protoplasmakörper voraussetzt. Diese Erwägung beweist aber auch, dass der in der von außen gebotenen Form giftige Farbstoff in dieser Verbindung nicht im Zellsaft vorhanden sein kann. Über das Verbleiben des gespeicherten Farbstoffs in manchen Pflanzen, sowie über die langsame Exosmose aus anderen wird Kap. XVIII im näheren handeln.

Sofern die gekennzeichneten Bedingungen fehlen, kann natürlich eine Speicherung und damit das Auftreten einer wahrnehmbaren Menge von Farbstoff bei Darbietung einer verdünnten Lösung nicht erwartet werden. Doch ist anzunehmen, dass der Farbstoff dennoch seinen Weg in die Zelle nach diosmotischen Gesetzen findet. Dafür spricht, außer den bei Behandlung des Methylenblaus angeführten Gründen (Anhäufung überall, wo ein speichernder Stoff nachweislich vorhanden ist, demgemäß Veränderung mit Entwicklung und Unterschied in der Speicherung der außerdem gleichwerthigen Zellen), das nachweisliche Eindringen in den Protoplasmakörper auch da, wo im Zellsaft eine Speicherung nicht zu Stande kommt. Ferner die Unschädlichkeit des in konzentrierter Lösung im Zellsaft angehäuften Farbstoffs.

Die Beobachtungen mit Methylenblau und mit anderen Farbstoffen lassen aber keinen Zweifel, dass, unabhängig von dem Einfluss der Zellhaut¹⁾, in den Protoplasmakörper verschiedener Pflanzen derselbe Farbstoff nicht mit gleicher Schnelligkeit dringt, und ferner, dass verschiedene Farbstoffe von derselben Pflanze nicht gleich leicht aufgenommen werden. Insbesondere dringt Tropäolin 000 langsam ein und in einer 0,04 % Lösung speicherte der Zellsaft der Wurzel von *Azolla* langsamer, als etwa in einer 0,0004 % Methylenblaulösung. Es ist auch wohl möglich, dass dieser oder andere Anilinfarbstoffe in gewisse, aber nicht in alle Zellen ihren Weg finden, denn solche spezifische Befähigung trifft thatsächlich für Indigkarmin zu, das wohl in Nierenzellen, nicht aber in die bisher untersuchten Pflanzenzellen eindringt. Auch entspringt die ungleiche Empfindlichkeit verschiedener Protoplaste gegen einen Farbstoff spezifischen Eigenthümlichkeiten. Ebenso hängt aber auch die Aufnahme von Bedingungen ab, welche nach Qualität des Protoplasmakörpers voraussichtlich nicht immer dieselben sein werden (vgl. Kap. XVIII).

Theoretische Erwägungen lassen auch die Möglichkeit nicht bestreiten, dass die Aufnahme eines bestimmten Farbstoffs erst bei gewisser Konzentration der Lösung beginnt. Durch Thatsachen ist solches freilich nicht erwiesen, denn die Erfahrung, dass Tropäolin 000 in 0,0005 % Lösung nach 2 Tagen in *Azolla* nicht merklich eingedrungen war, kann möglicherweise in schwieriger Aufnahme oder in anderen Ursachen begründet sein. Als

1) Der hemmende Einfluss durch Zellhaut und Gewebe u. s. w. ist p. 201 besprochen.

Funktion der Konzentration stellt sich natürlich die Speicherung eines Farbstoffs dar, wenn dauernd eine exosmotische Bewegung im Spiele ist, die mit der Aufnahme des Farbstoffs, bei gewisser Verdünnung der dargebotenen Lösung, ins Gleichgewicht kommen muss.

XVII. Betrachtungen über die Färbung im lebenden und todtten Protoplasma.

Ein verwickeltes Problem bietet das Verhalten der Anilinfarben gegen das lebende Protoplasma und die mit dem Absterben gesteigerte Speicherung dieser Farbstoffe. Für diese Thatsache ist, nachdem das Eindringen von Farbstoffen feststeht, die bisherige Erklärung nicht mehr zulässig, welche allgemein die Speicherung von dem erst nach dem Tode beginnenden Eindringen abhängig machte. Die Gesammtheit dieser Erscheinungen an lebendem und todttem Protoplasma ist aber um so mehr beachtenswerth, als zu erhoffen ist, dass an der Hand kritischer Erwägungen und Versuche Lichtblicke in Konstitution und Lebensthätigkeit des Protoplasmas gewonnen werden können. Auf Grund der derzeitigen Erfahrungen lassen sich bedeutungsvolle Schlussfolgerungen in dieser Richtung noch nicht ziehen, wie aus der folgenden Skizze hervorgehen wird.

Da auch Methylenblau nachweislich schnell in den Protoplastmakörper eindringt, in diesem aber während des Lebens weder nach kürzerer noch längerer Zeit eine Färbung bewirkt, so kann auch sehr wohl dieser, wie andere Farbstoffe, in Zellkerne und Chromatophoren gelangen, ohne in diesen während des Lebens eine Tinktion zu erzielen, und die Möglichkeit der Aufnahme von Farbstoffen in den Zellkern ist durch die Speicherung von Indigkarmin im Kerne lebendiger Nierenzellen dargethan. Wie dem nun sei, mit der Schädigung beginnt sogleich eine Färbung im Zellkern durch Methylenblau, Methylviolett und andere Farbstoffe, und dieses schon dann, wenn die Struktur des Protoplasten noch nicht sichtbar verändert und normale Plasmolyse noch zu erzielen ist. Demnach hat bereits in diesen dem Tode geweihten Zellen eine Schädigung die Bedingungen für die vermehrte Speicherung geschaffen. Eine solche kommt auch, ohne Tödtung des Ganzen, durch intensive Einwirkung von Methylviolett oder Bismarekbraun in den sich bildenden Vakuolen oder ausgestoßenen deformirten Plasmamassen zum Ausdruck.

Ein klarer Einblick in die zur Speicherung führenden Veränderungen ist um so weniger zu gewinnen, als die Fixirung von Farben im todtten Protoplasma in kausaler Hinsicht ebenso wenig vollkommen klar gestellt ist, als die Bindung von Farben in Geweben u. s. w., wovon in der Technik die ausgedehnteste Anwendung gemacht wird¹⁾. Da aber thatsächlich die

1) Vgl. MUSPRATT, Encyklopäd. Handbuch d. techn. Chemie. III. Aufl. 1875. Bd. II. p. 1018. GIERCKE; Färberei zu mikroskop. Zwecken. 1875. p. 186—219.

Struktur eines Körpers in der augenscheinlich zum guten Theil von Flächenattraktion abhängigen Farbenspeicherung eine wesentliche Rolle spielt, so kann es im allgemeinen nicht überraschen, dass mit der im Tode veränderten Struktur das Protoplasma andere speichernde Eigenschaften annimmt. Zudem werden mit dem Tode Stoffe gemengt, welche zuvor räumlich getrennt waren, und solche Imprägnation dürfte im Protoplasma in ähnlicher Weise in Betracht kommen, wie das sog. Beizen in der Färbungstechnik, in welcher durch Niederschlagen von Thonerde, Eisenoxyd oder anderen Körpern die Gewebe die Eigenschaft erhalten, Farbstoffe zu fixiren, welche sie zuvor nicht zu binden vermochten (sog. adjektive Farben). Die Existenz gelöster Stoffe im Protoplasma, welche als Beize wirksam sein können, geht aber daraus hervor, dass im Leben sich nicht färbende Zellwände nach der Tödtung des Protoplasmas Farbe speichern, weil sie von einem farbenspeichernden Körper imprägnirt wurden¹⁾. Mag dieses nun ein Eiweißstoff sein (diese speichern in gelöstem Zustande nicht) oder ein anderer Körper, jedenfalls ist die Möglichkeit zuzugeben, dass erst durch Imprägnation

4) Dass schon im Leben die Wandungen einzelner oder aller Zellen Anilinfarben und andere Farbstoffe speichern, wie es bei *Trianea*, *Spirogyra* u. s. w. leicht zu beobachten ist, erklärt sich zum Theil durch eine Imprägnation mit fremden Stoffen. Schon die Einlagerung von etwas Calciumcarbonat kann eine gewisse Wandfärbung zur Folge haben, und vielfach lässt sich reichliche Speicherung von Anilinfarben, sowie von Hämatoxylin, Alizarin erzielen, indem die Zellwände zuvor oder gleichzeitig mit etwas Thonerde, Eisenoxyd oder einem anderen Beizmittel (wie es ja auch in der Färbungstechnik geschieht) imprägnirt werden. Solche Färbung kann recht wohl ohne Tödtung der Zelle bewirkt werden, und ich habe z. B. *Spirogyra* und *Oedogonium*, sowie Wurzeln von *Trianea* weiter wachsen gesehen, deren Wandungen durch 24-stündiges Verweilen in einer Lösung gefärbt waren, welche etwas Hämatoxylin und 0,04% Alaun oder Eisencitrat enthielt. Zu gleichem Resultate führten auch Zellwandfärbungen mit Ferrocyanisen (Berlinerblau) oder Ferridcyanisen (Turnbull's Blau). Namentlich war eine Färbung mit letzterem gut zu erreichen, indem die Objekte abwechselnd in 0,2% Lösungen von Ferridcyankalium und milchsaurem Eisenoxydul getaucht wurden. Diese Färbung, wie auch die mit Hämatoxylin, erstreckte sich indess nur auf äußere Wandschichten, und so realisirte sich die Hoffnung nicht, auf diese Weise ein Mittel zu erhalten, das den Vorgang des Dickenwachsthums der Zellwände in unzweifelhafter Weise zu entscheiden gestattet hätte.

Die Tingirung mit fixirten Farbstoffen, die sich nicht nachträglich in der Zellwand anders vertheilen können, lässt sich verwenden, um die Wachstumsvertheilung in Zellen zu verfolgen. Es gelang dieses bei Färbung mit Ferridcyanisen sehr schön für *Spirogyra* und *Oedogonium* und in einer *Cladophora* machte sich u. a. das schwache interkalare Wachstum älterer Zellen durch Querrisse in dem Farbstoffmantel bemerklich. Alle Zellen mit gefärbten Wandungen wachsen indess nicht, und so blieb z. B. in Wurzelhaaren von *Trianea*, deren Wand mit Katechu gefärbt war, das Wachstum aus, obgleich noch nach mehreren Tagen das Protoplasma aufs schönste strömte. Die Wurzelhaare von *Trianea* stellen freilich bei verschiedenen Einwirkungen ihr Wachstum verhältnismäßig leicht ein (vgl. p. 244). Mit Rücksicht auf die Wachstumsmechanik hat es übrigens ein tieferes Interesse, zu erforschen, wie und warum Einlagerung fremder Theilchen in die Zellwand das Wachstum dieser sistiren kann.

oder durch das Unlöslichwerden zuvor gelöster Stoffe Organe im Protoplasma, wie z. B. der Zellkern, seine speichernden Eigenschaften gewinnen könnte. Ferner verdrängen vielfach Lösungen von Salzen Farbstoffe¹⁾ und verhindern deren Anhäufung. Mit der Entfernung gelöster Körper aus dem Protoplasma, nach dem Tode dieses, ist somit eine weitere Veränderung gegeben, welche Einfluss auf das Verhalten gegen Farbstoffe haben kann.

Diese Andeutungen lassen die mit dem Tode veränderte Speicherung im Protoplasma verständlich erscheinen, ohne gerade die faktisch maßgebenden Verhältnisse und die Ursachen zu präzisiren, welche im lebendigen Protoplasma bedingen, dass ein Farbstoff nur in beschränktem Maße oder, wie Methylenblau, gar nicht gespeichert wird. Letzteres wird übrigens, wie die leichtere Entziehung durch Wasser und Alkohol lehrt, im toten Protoplasma nicht so festgehalten, wie etwa Methylviolett. Möglich wäre also, dass schon dieserhalb im lebendigen Protoplasma Methylenblau nicht zu merklicher Speicherung kommt, indem in diesem die entfärbende Thätigkeit, welche ja thatsächlich besteht (p. 250), der Anhäufung erfolgreich entgegenarbeitet. Als Resultante dieser antagonistischen Bestrebungen kommt überhaupt jede Färbung im lebenden Protoplasma zu Wege.

Nach solchen Erwägungen ist es keineswegs nöthig, dem Protoplasma die Fähigkeit zuzuschreiben, den Farbstoff verarbeiten oder wenigstens in eine farblose Verbindung überführen zu können. Die thatsächlichen Erfahrungen sprechen auch nur dafür, dass der Farbstoff als solcher in dem Protoplasma besteht und dieses ohne eine tiefer greifende Metamorphose passirt. Durch die Färbung wird die Existenz der bezüglichen Farbstoffe, wenigstens in den sich tingirenden Theilen des Protoplasmas, direkt demonstirt, und die Entfärbung des mit Methylviolett gefärbten Protoplasmas der Wurzelhaare von *Trianea*, unter gleichzeitiger Färbung des Zellsaftes (p. 250), lehrt, dass der Farbstoff als solcher das Protoplasma verlässt.

Methylviolett und Fuchsin werden freilich durch Natriumcarbonat oder Kaliumcarbonat entfärbt²⁾, aber die Thatsache der Färbung durch diese Farbstoffe spricht gegen die Existenz neutraler Carbonate der Alkalien im Protoplasma, die auch nicht anzunehmen ist, da die Kohlensäureproduktion im lebendigen Organismus eine Überführung in die sauren, jene Farbstoffe

1) Von dieser Verdrängung wurde zur Entfärbung von Zellwänden Gebrauch gemacht, vergl. p. 185. Vergl. HÜPPE, Die Methoden d. Bakterien-Forschung. III. Aufl. 1886. p. 75; auch GIERKE l. c. p. 249.

2) Durch Neutralisation, auch durch Zuleiten von Kohlensäure, wird die Farbe wiederhergestellt. Es geschieht dieses auch bei vollständigem Abschluss von Sauerstoff, nachdem ohne Zutritt dieses die Farbstoffe mit alkalischer Glykoselösung digerirt sind, durch welche also eine Reduktion in der entfärbten alkalischen Lösung des Farbstoffs nicht erzielt wird. Ebenso bildet gährungsthätige Hefe aus diesen Farbstoffen kein Leukoprodukt.

nicht entfärbenden Dicarbonate veranlassen würde. Auch färbt, so weit ich gesehen, Bismarckbraun wie andere Farbstoffe im Protoplasma, obgleich dieser Farbstoff durch verdünnte Säuren und Alkalien, sowie durch Reduktionsmittel keine Veränderung erfährt.

Hinsichtlich des Methylenblaus, welches durch gärende Hefe in ein Leukoprodukt verwandelt wird, muss allerdings die Möglichkeit einer Reduktion im Protoplasma ins Auge gefasst werden. Sehr energisch kann eine solche Reduktionswirkung gegenüber unseren Farbstoffen nicht sein, da Safranin gespeichert wird, welches freilich nicht so leicht zu einem Leukoprodukt wird, wie Methylenblau¹⁾. Denn dieses wird z. B. durch Glykose bei Gegenwart von Natriumcarbonat ziemlich leicht entfärbt, während Safranin unter diesen Umständen selbst in der Wärme nicht reduziert wird, wohl aber wenn Ätzkali zugegen ist. Gegen eine Reduktion des Methylenblaus im Protoplasma spricht aber Folgendes. Nach Ausschluss des Sauerstoffs würde, sofern das Methylenblau beim Passiren des Protoplasmas eine Reduktion erlitte, in den Zellsaft die Leukofarbe gelangen, während tatsächlich die übliche blaue Speicherung unter diesen Umständen eintritt (vgl. Kap. XVIII). Ferner färbte sich *Chondrioderma difforme*, nachdem es 20 Stunden in 0,001 % Lösung von Methylenblau verweilt hatte und dann nach schnellem Abwaschen durch Erhitzen sogleich getötet wurde, nicht blau. Es war also im Protoplasma Leukomethylenblau nicht angehäuft, da dieses mit dem Tode durch Sauerstoff oxydirt worden wäre.

Nach diesen Erfahrungen scheint der lebendige Protoplasmakörper Methylenblau nicht zu reduzieren, das auch im Zellsaft gespeichert sich gefärbt erhält, wenn Sauerstoffzutritt verhindert ist (Kap. XVIII). Auch vermag Hefe, Methylenblau, ebenso andere Farbstoffe, nur dann zu reduzieren, wenn sie gährthätig ist. Damit ist nicht ausgeschlossen, dass gewisse animalische Zellen und Gewebe eine Reduktion von Methylenblau zu Stande bringen, wie es nach den Beobachtungen von DRESER und EURLICH der Fall zu sein scheint (vgl. p. 274). Aus der Nichtreduktion des Methylenblaus im lebenden Protoplasma kann aber natürlich nicht gegen eine Reduktionsfähigkeit im Protoplasma überhaupt geschlossen werden. Eine solche ist vielmehr, wenigstens nach Abschluss von Sauerstoff, nach Erwägungen über den Athmungsprozess wahrscheinlich²⁾ und spricht sich auch in der von LÖW und BOKORNY³⁾ benutzten Reduktion alkalischer Silberlösung aus, welche freilich erst mit der Schädigung der lebendigen Zelle zu Stande kommt. Übrigens können jedenfalls diese Farbstoffe benutzt werden, um in der angedeuteten Richtung Rückschlüsse auf die Thätigkeit im lebendigen Protoplasma zu gewinnen.

1) Über Leukomethylenblau vergl. BERNTHSEN, Annal. d. Chemie. Bd. 230. 1885. p. 146.

2) Vgl. PFEFFER, Unters. a. d. Bot. Institut in Tübingen. Bd. I. p. 664.

3) Die chemische Kraftquelle im lebenden Protoplasma. 1882. p. 8.

XVIII. Bedingungen für Aufnahme und Ausgabe von Farbstoffen.

Mit Rücksicht auf den Stoffaustausch im lebendigen Organismus ist auch der Einfluss der von außen gebotenen Verhältnisse auf Aufnahme und Ausgabe der speicherungsfähigen Farbstoffe ins Auge zu fassen. Aus den in dieser Richtung bis dahin vorgenommenen Untersuchungen, welche im Folgenden zur Mittheilung kommen, geht hervor, dass nicht jede Verbindung der Farbstoffe aufnahmefähig ist, dass die Aufnahme ohne Mithilfe der Lebensthätigkeit geschieht und dass durch gewisse Einflüsse, insbesondere durch Säuren, Exosmose der gespeicherten Farbstoffe verursacht werden kann.

1) Bedeutung der Qualität der dargebotenen Verbindung.

Da die Speicherung der Farbstoffe im Zellsaft durch die Entstehung nicht diosmirender Verbindungen bedingt wird, so können nicht alle Farbstoffverbindungen zur Aufnahme in lebendige Zellen befähigt sein. Der Nachweis der Nichtaufnahme kennzeichnet aber umgekehrt die benutzte Verbindung als befähigt, im Zellsaft Speicherung zu erzielen.

Die bisherigen Versuche ergeben Nichtaufnahme für das gerbsaure Salz von Methylenblau und Methylviolett und es ist anzunehmen, dass zu gleichem Resultate Versuche mit den anderen Farbstoffen führen werden, welche eine Speicherung durch Gerbsäure erfahren. Übrigens bringt die Wurzel von *Azolla* aus gerbsaurem Methylenblau und Methylviolett eine sehr geringe Aufnahme zu Stande, die indess, da sie in den anderen Versuchspflanzen fehlte und in *Azolla* nicht durchgehends auftrat, besonderen in dieser Pflanze mitwirkenden Verhältnissen entspringen muss.

Außer der Handelswaare (einer Chlorzinkverbindung des salzsauren Salzes) des Methylenblaus wurden die freie Base, das zitronensaure, chinasäure, gallussaure und pikrinsaure Methylenblau mit positivem Erfolge geprüft und Beimengung von Albumin oder flüssigem Leim zur Handelswaare oder zum gallussauren Methylenblau hemmten die Aufnahme dieses Farbstoffes nicht. Ohne näheres Studium ließ sich indess aus diesen Versuchen ersehen, dass bei Darbietung des gallussauren oder chinasäuren Salzes die Speicherung langsamer fortschreitet, während, so gut wie die Handelswaare, das zitronensaure Salz und die freie Base schnell aufgenommen werden und Albumin oder flüssiger Leim die Speicherung der Handelswaare jedenfalls nicht ansehnlich erschweren.

Zweifellos wird ein weiteres Studium und besonders die Berücksichtigung der Verbindungen mit hohem Molekulargewicht andere nicht aufnehmbare Salze der Farbstoffe kennen lehren. In jedem Falle aber ist zu berücksichtigen, dass eine nur partielle Zersetzung einer an sich nicht aufnehmbaren Verbindung zur Speicherung führen muss. Eine solche wurde

dementsprechend erreicht, als dem gerbsauren Methylenblau etwas Zitronensäure zugesetzt worden war.

Gerbsaures Methylenblau und Methylviolett. 1) In einer Versuchsreihe wurde das unter Zusatz von etwas Salpeter frisch gefällte und ausgewaschene gerbsaure Methylenblau verwandt, indem dieses bis zur Sättigung in 1% Gerbsäurelösung aufgelöst wurde (vergl. p. 232). Nachdem diese Farbflüssigkeit mit Wasser so weit verdünnt worden war, dass sie 0,0067% (1:15000) Gerbsäure enthielt, entsprach ihre Färbung einer Lösung der Handelswaare mit 0,00025%. Mit dieser Lösung des gerbsauren Methylenblaus in Gerbsäure wurde ein Versuch (a) direkt, ein anderer (b) nach Zusatz von 0,01% Natriumdicarbonat angestellt. Während nach 24 Stunden in einer gleich stark gefärbten Lösung der Handelswaare in allen Versuchspflanzen reichlichste Speicherung stattgefunden hatte, fehlt in Versuch a und b jede Spur einer solchen in *Spirogyra communis*, sowie in der Wurzel von *Trianea bogotensis* und *Lemma minor*. In der Wurzel von *Azolla* fand sich hier und da (in Haaren, Epidermis und Haube) ein klein wenig blauer Niederschlag, der nach 3 tägigem Aufenthalt in der Lösung vielleicht ein wenig, doch unbedeutend vermehrt und immer noch nicht in allen genannten Zellen vorhanden war. *Trianea* und *Lemma* ergaben nach 3 Tagen dasselbe Resultat wie nach 24 Stunden, während *Spirogyra* inzwischen abgestorben war.

2) In einem anderen Versuche wurden vergleichend folgende Flüssigkeiten verwandt. a) Methylenblau, freie Base, 0,000143% mit 0,0067% Gerbsäure. b) Wie a, doch außerdem 0,01% Natriumdicarbonat. c) Freie Base mit 0,000143% ohne einen Zusatz. Das Resultat fiel wie in 1 aus. — Gleiches Resultat ergab sich auch, als die Handelswaare direkt mit Gerbsäure versetzt wurde.

3) Methylviolett. Die Versuchsflüssigkeit enthielt 0,0004% des Farbstoffs und 0,0067% Gerbsäure. Nach 24 und 48 Stunden ergab sich ein den Versuchen mit Methylenblau entsprechendes Resultat, also auch wieder spurenweise Aufnahme nur in *Azolla*, während in einer gleich konzentrierten Methylviolettlösung ohne Zusatz von Gerbsäure nach 24 Stunden alle Pflanzen reichlich gespeichert hatten.

Die nur sehr geringe Aufnahme in *Azolla* wird vielleicht dadurch erreicht, dass die Wurzel dieser Pflanze, sei es durch Ausscheidung von Säure oder auf andere Weise, ein klein wenig zersetzend auf die anprallenden Moleküle des gerbsauren Methylenblaus, resp. Methylvioletts wirkt. Dass solche Zersetzung zur Aufnahme führen kann, lehrt die ziemlich reichliche Speicherung in den vorhin genannten Versuchspflanzen, als der unter 1a genannten Lösung des gerbsauren Methylenblaus in Gerbsäure 0,01% Zitronensäure zugesetzt war. Welcher Art die besonderen Eigenthümlichkeiten sind, welche es *Azolla* ermöglichen, aus der Gerbsäureverbindung sowohl des Methylenblaus als des Methylvioletts etwas Farbstoff in die Zelle zu schaffen, vermag ich nicht zu sagen. Dieserhalb will ich auch hier nicht darlegen, warum mit dem positiven Erfolg bei Gegenwart von Natriumdicarbonat nicht erwiesen ist, dass diese Besonderheit der Wurzel von *Azolla* nicht von einer Säuresekretion herrühren kann. — Beiläufig bemerkt ändert sich ziemlich bald, in Folge von Sauerstoffaufnahme die Färbung der mit Natriumdicarbonat versetzten, Gerbsäure enthaltenden Lösung.

In den anderen Versuchspflanzen ist die Speicherung zum Theil durch Gerbsäure, zum Theil durch einen andern Stoff bedingt, und da diese Pflanzen theilweise (*Spirogyra communis*) das gewöhnliche Methylenblau viel schneller aufnehmen als *Azolla*, ist die Annahme einer besonderen, nach außen gehenden Wirkung seitens dieser Wurzel um so mehr geboten, als nach der Speicherung im Zellsaft gerbsaures Methylenblau und Methylviolett aus der Wurzel bei Aufenthalt in Wasser nicht exosmiren. Wie weiterhin noch mitgetheilt wird, veranlasst Gerbsäure einen Austritt des gespeicherten Methylenblaus nicht und der Überschuss von Gerbsäure in den Lösungen tritt deshalb einer Aufnahme der Farbstoffe nicht etwa hemmend entgegen.

Gallussaures Methylenblau. Dieses Salz erhält man leicht durch Versetzen der Handelswaare des Methylenblaus mit Gallussäure. Durch Abwaschen der in kaltem Wasser ziemlich schwer löslichen Verbindung und Umkrystallisiren aus heißem Wasser ist leicht ein reines Präparat zu erhalten, das aus Kryställchen besteht. Aus diesem wurde eine Lösung hergestellt, welche in der Intensität der Färbung einer Methylenblaulösung (Handelswaare) mit 0,00023% entsprach. Anscheinend etwas langsamer als aus letzterer nahmen *Spirogyra communis*, sowie die Wurzeln von *Azolla*, *Trianea*, *Lemma minor* aus dem gallussauren Methylenblau den Farbstoff auf, doch war auch in der Lösung dieses Salzes nach 24 Stunden eine ziemlich reichliche Speicherung in allen Versuchspflanzen eingetreten. — Gallussäure entsteht bekanntlich durch Spaltung aus Tannin (Digallussäure).

Chinasaures Methylenblau. Erhalten wurde diese Lösung durch Mischen von 0,000143% freier Base des Methylenblaus mit einem Überschuss von Chinasaure (0,0067%). Das Resultat fiel wie das mit dem gallussauren Salz aus.

Pikrinsaures Methylenblau. Die Lösung, welche enthielt 0,0002% Base des Farbstoffs und 0,002% Pikrinsäure, setzte das sehr schwer lösliche pikrinsaure Methylenblau ab. Doch hatten in 24 Stunden die Wurzeln von *Trianea*, *Azolla* und *Lemma* eine mäßige Menge von Methylenblau gespeichert und ihr Leben bewahrt.

Von käuflichem Albumin wurden 0,7% mit 0,0002% Methylenblau (Handelswaare) in Lösung gebracht. Nach 20 Stunden war reichlichste Speicherung in *Spirogyra*, *Lemma*, *Azolla* und *Trianea* eingetreten. Gleiches Resultat ergab eine Lösung, welche 1% flüssigen Leim und 0,0002% Methylenblau enthielt.

2) Unabhängigkeit der Farbstoffaufnahme von der Lebensthätigkeit.

Zur Aufnahme der speicherungsfähigen Farbstoffe bedarf es der Lebensthätigkeit und Lebensfähigkeit des Protoplasmas nicht. Die Speicherung von Methylenblau und, soweit untersucht, auch die von Methylviolett erfolgt nämlich auch, nachdem zuvor durch Abkühlung auf 0°, oder durch Erwärmen auf 42°, oder durch Entziehung des Sauerstoffs, oder durch Chloroformiren die normale Lebensthätigkeit sistirt ist. Unter diesen Umständen sind freilich noch nicht alle vitalen Funktionen in dem noch lebensfähigen Organismus erloschen, doch finden auch nach Vernichtung der Lebensfähigkeit die genannten Farbstoffe ihren Weg durch die Hautschicht zum Zellsaft. Es ist dieses immer der Fall, wenn die äußere und innere oder mindestens die innere Hautschicht ihre bisherigen diosmotischen Eigenschaften bewahrte, während der übrige Protoplasmakörper zum Absterben gebracht wurde, mag nun die Vakuolenwand durch schnelle Plasmolyse isolirt oder das Absterben des Protoplasmakörpers durch verlängerte Plasmolyse oder durch Einwirkung von etwas Salzsäure erreicht worden sein.

Diese Erfahrungen sind aber von fundamentaler Bedeutung für die Erklärung der Aufnahme und der Speicherung der Farbstoffe: denn es ist damit erwiesen, dass die Aufnahme nicht von einer Mitwirkung der Lebensthätigkeit abhängt, sondern nach den auch für todtte Massen gültigen Gesetzen aus der Wechselwirkung zwischen der Hautschicht und den an diese

anprallenden gelösten Farbstoffmolekülen entspringt, ferner, dass die Speicherung und Zurückhaltung des Farbstoffes im Zellsaft durch die im Zellsaft gebotenen, auch ohne Lebensthätigkeit zunächst fortbestehenden Verhältnisse bedingt wird.

Mit Hinweis auf Kap. XX und XXIII, in welchen die früher (Osmot. Untersuchungen) von mir erörterte Bedeutung der Hautschieht zur Sprache kommt, beschränke ich mich hier auf die Ergebnisse der bezüglichen Versuche.

Die Zellen der Wurzelhaube von *Trianea* wurden mit 3 % Salpeter kontrahirt, dann unter Deckglas mit 3 % Salpeterlösung behandelt, welche ganz wenig Salzsäure enthielt (Osmot. Unters. p. 135). Nach nur kurzer Einwirkung war der Protoplasmakörper getötet, die Expansionsfähigkeit aber noch nicht ganz vernichtet und die Zufuhr von 3 % Salpeterlösung, in der 0,0017 % Methylenblau oder in anderen Versuchen 0,0003 % Methylviolett gelöst waren, ergab, dass Zellkern, Chromatophoren und etwas auch das übrige zwischen den Hautschichten eingeschlossene Plasma, wie immer nach dem Tode sich färbte, nach einiger Zeit aber auch im Zellsaft die Ausscheidung der blauen Körnchen des gerbsauren Methylenblaus begann. Ein Versuch mit den in gleicher Weise behandelten Objekten, in welchen aber die 3 % Salpeterlösung als Farbstoff 0,3 % Anilinblau enthielt, ergab durch die Farblosigkeit des Zellkerns, dass dieser Farbstoff schon die äußere Hautschieht nicht passirte.

Ferner wurde durch schnelle Einwirkung von 6 % Salpeterlösung in *Spirogyra communis* die Vakuolenwand in der von DE VRIES angegebenen Weise (vgl. Kap. XXIII) isolirt und dann mit gleicher Salpeterlösung ausgewaschen, welche 0,0017 % Methylenblau, resp. 0,0003 % Methylviolett enthielt. Nach Färbung des toten Protoplasmas begann bald auch die Speicherung im Zellsaft durch Ausscheidung farbiger Körnchen sichtbar zu werden.

Ein Vergleich der Schnelligkeit der Aufnahme mit lebensthätigen Pflanzen ist schon deshalb nicht möglich, weil in Versuchen obiger Art Farbstoff zunächst im toten Plasma gespeichert wird und der Salpeter, wie noch mitgetheilt wird, einen anderweitigen Einfluss auf die Speicherung der Anilinfarben hat.

Aufnahme bei 0° C. und 42° C.

Zur Prüfung der Aufnahme bei 0° wurden die Pflanzen in etwa 80 ccm fassenden Gläsern zunächst in Wasser gebracht und dann diese Gläser tief in Eiswasser getaucht, während eine in den abschließenden Kork eingesetzte und aus dem Eiswasser hervorragende dünnere Glasröhre die Kommunikation mit der Luft erhielt. Nachdem durch einen solchen halbstündigen Aufenthalt für Abkühlung auf 0° gesorgt war, wurden die Gläser nun für einen Augenblick herausgenommen, um von einer abge-

messenen, zuvor gleichfalls auf 0° abgekühlten Farbstofflösung so viel zu erhalten, dass den Pflanzen nunmehr eine 0,0005 % Methylenblaulösung zur Verfügung stand. Nach 20 stündigem Aufenthalt bei 0° schnell mit Wasser abgewaschen, ergab sich, dass *Spirogyra*, *Lemna*, *Azolla*, *Trianea* reichlich Farbstoff gespeichert und sich am Leben erhalten hatten. Als ein anderes, in gleicher Weise ausgeführtes Experiment schon nach 4³/₄ Stunden unterbrochen wurde, zeigte sich eine entschiedene Verlangsamung der Farbstoffaufnahme gegenüber den bei Zimmertemperatur in gleich konzentrierter Methylenblaulösung gehaltenen Pflanzen, und in *Spirogyra* war dem Anscheine nach die Farbstoffaufnahme am stärksten gehemmt worden. Dieser Erfolg wurde aber offenbar durch die niedrigere Temperatur herbeigeführt, welche jeden diosmotischen Vorgang verlangsamt, und dem entsprechend wurde die Farbstoffaufnahme bei 42° C. beschleunigt, obgleich bei dieser Temperatur eine Anzahl Funktionen im Organismus, wie die Wachsthumsthätigkeit, jedenfalls stark gehemmt waren¹⁾.

Die Prüfung der Aufnahme des Methylenblaus bei 42° C. geschah in der gleichen Weise, indem die Gläschen unter Wasser kamen, das dauernd auf 42° C. gehalten wurde. Nach dreistündigem Aufenthalt hatten die Wurzeln von *Azolla*, *Lemna minor*, *Trianea* (Epidermis und Haube) sehr reichlich Farbstoff aufgenommen. Die Wurzelhaare von *Trianea*, sowie *Spirogyra communis* waren abgestorben.

Aufnahme bei Fehlen von Sauerstoff.

Um diese zu prüfen, kamen abgeschnittene Wurzeln von *Lemna minor*, *Azolla* und ein wenig *Spirogyra communis* in kleine ungefähr 15 kcm fassende Glaszylinder in 5 kcm zuvor ausgekochtes Regenwasser, dem ein ganz kleines Quantum von Hefezellen zugefügt war. Dieser Zylinder wurde durch einen doppelt durchbohrten Kautschuckstopfen aufs beste geschlossen und sein Luftraum kommunizierte mittelst der eingesetzten Glasröhren einerseits mit einer Wasserluftpumpe, andererseits mit einem Wasserstoffentwicklungsapparat. Während der fragliche Glaszylinder ganz in Wasser untergetaucht und vollständig verdunkelt war, wurde während 2 Stunden 12 mal so weit als möglich evakuiert und dann jedesmal das Vacuum langsam mit Wasserstoff gefüllt, welcher zur Reinigung eine U-Röhre passierte, welche Bimsteinstücke enthielt, die mit übermangansaurem Kali getränkt waren. Zuletzt blieb dann das Versuchsgefäß mit Wasserstoff erfüllt und durch Neigung des Gefäßes wurde nun die Lösung eines Körnchens Methylenblau veranlasst, das, mit ein klein wenig flüssigem und wieder getrocknetem Leim umhüllt, an den Kautschuckkork vor Beginn des Versuchs befestigt worden war. Nach 3 Stunden geöffnet, konnte man sofort mit freien

1) Vergl. PFEFFER, Physiologie. Bd. II. p. 423. Ferner z. B. für Athmung ebd. I. p. 375; für Protoplasmabewegung ebd. II. p. 395.

Augen die schöne blaue Färbung der Wurzeln von *Lemna* erkennen und die sofortige mikroskopische Untersuchung ergab für alle Versuchspflanzen reichliche Speicherung in den lebenden Zellen. Manche Zellen waren freilich abgestorben, wohl in Folge der Sauerstoffentziehung und der mit der Injektion u. s. w. zusammenhängenden Eingriffe, denn die Farblösung konnte nicht besonders schädlich eingegriffen haben, da sie zu Ende des Versuchs in der Färbung ungefähr einer 0,004 % Methylenblaulösung entsprach.

Es darf wohl angenommen werden, dass zur Zeit, als die Lösung des Farbstoffs eingeleitet wurde, durch die wiederholte Evakuierung aller Sauerstoff aus der Flüssigkeit entfernt war, da die Athmungsthätigkeit, welche durch die Beimengung der Hefezellen verstärkt wurde, die letzten Spuren Sauerstoff konsumieren musste. Durch Abhaltung des Lichtes war dafür gesorgt, dass nicht Sauerstoff durch die Thätigkeit des Chlorophyllapparates neu gebildet wurde.

Die Blaufärbung der Objekte zu Ende des Versuches lehrt zugleich, dass unter diesen Umständen Methylenblau ohne Reduktion zur Leukofarbe gespeichert wird (vgl. p. 279). Eine solche Reduktion unterblieb auch dann, als Wurzeln von *Lemna*, deren Zellsaft durch Methylenblau zuvor tief blau gefärbt worden war, bei Abschluss von Sauerstoff in obiger Weise, jedoch mit dem Unterschiede gehalten wurden, dass sie dauernd in ungefärbtem Wasser (auch ohne Zusatz von Hefezellen) verblieben. Nach sechsstündigem Verweilen ohne Sauerstoff waren die Wurzeln für das unbewaffnete Auge und nach dem mikroskopischen Bilde noch gefärbt wie zuvor, hatten also in dieser Behandlung den gespeicherten Farbstoff auch nicht exosmiren lassen.

Um leichter eine Verdrängung des Sauerstoffs zu erreichen, wurden die gefärbten Wurzeln auf ein wenig nasses Fließpapier in ein kurzes enges Glasröhrchen gebracht, das an Stelle des beschriebenen Gefäßes zwischen Wasserluftpumpe und Wasserstoffentwicklungsapparat kam. Auch bei dieser Behandlung erhielt sich bei 5 stündigem Aufenthalt in sauerstofffreiem Raume die Wurzel in der anfänglichen Färbung.

Chloroformirung.

Bei gewöhnlicher Temperatur mit Chloroform gesättigtes und dann mit der einfachen Wassermenge verdünntes Wasser bringt die Proto-plasmaströmung in den Wurzelhaaren von *Trianea bogotensis* in 3 bis 5 Minuten zum Stillstand. Nachdem die Versuchspflanzen in solchem verdünnten Chloroformwasser 15 Minuten zugebracht hatten, kamen sie in gleiches Chloroformwasser, welches außerdem 0,0008 % Methylenblau enthielt. Dieses fand sich nach 3 $\frac{1}{4}$ stündigem Verweilen in der Wurzel von *Lemna*, *Azolla* und in der Wurzelepidermis von *Trianea* anscheinend ebenso reichlich gespeichert, als in den Vergleichspflanzen,

welche gleich lange in chloroformfreier Methylenblaulösung obiger Konzentration gehalten worden waren. Unter diesen Versuchsbedingungen war aber in den Wurzelhaaren von *Trianea* die Farbstoffspeicherung entschieden weiter fortgeschritten, als in den chloroformirt gehaltenen Pflanzen, in denen übrigens nach einigem Verweilen in Wasser die Protoplasmaströmung zurückkehrte. Dieses Resultat wurde voraussichtlich durch die Hemmung der Strömung erzielt, welche die Aufnahmeschnelligkeit relativ um so mehr begünstigen muss, je schneller die Strömung und je ansehnlicher der Wandbelag des Protoplasmas ist (vgl. Kap. XX).

Welche Funktionen im Organismus durch diese Chloroformirung unterdrückt wurden, lässt sich nicht sagen. Nach BONNIER und MAGNIN¹⁾ z. B. vermag bei mäßiger Anästhesirung Aether die Assimilation zum Stillstand zu bringen, während die Athmung fort dauert.

3) Natürliche und künstliche Exosmose der gespeicherten Farbstoffe.

Das gespeicherte Methylenblau verbleibt entweder in den Pflanzen oder tritt allmählich aus dem Zellsaft, so dass im Laufe einiger Tage Entfärbung eingetreten sein kann. Nach den mitgetheilten Beobachtungen ist letzteres der Fall in *Spirogyra communis*, *setiformis* und *Zygnema cruciatum*, während die Wurzeln von *Trianea bogotensis*, *Azolla caroliniana* und *Lemna minor* in Wasser ihren Farbstoff bewahren. Ein scharfer Gegensatz besteht indess zwischen diesen Pflanzen nicht. Denn verschiedene Kulturen von *Spirogyra communis* entfärbten sich ungleich schnell und es kam vor, dass in derselben Kultur einzelne Fäden nach 5 Tagen gänzlich, andere nach 44 Tagen nur wenig entfärbt waren. Sehr geringe Mengen von Methylenblau, die in der immerhin beschränkten Beobachtungszeit nicht durch Entfärbung sich bemerklich machten, mögen aber wohl auch *Trianea*, *Lemna*, *Azolla* verloren haben und die Blätter von *Elodea canadensis* scheinen in der That nach längerer Zeit ein wenig abzugeben.

Ausgabe des gespeicherten Methylenblaus lässt sich aber in allen Pflanzen durch Einwirkung verdünnter Säuren und wahrscheinlich auch durch einige andere Agentien ohne Schädigung des Lebens erzielen und wenn die von außen in den Zellsaft eindringende Säure den Austritt des Farbstoffes veranlassen kann, so wird wohl auch dieselbe Pflanzenart, je nach den Culturbedingungen und der damit veränderlichen Säureproduktion, nicht immer dasselbe Resultat geben. Die mitgetheilten Erfahrungen an *Spirogyra* deuten auf solche Differenzen hin, auf deren Feststellung ich in meinen Versuchen nicht ausging. Uebrigens könnte

1) Ann. d. scienc. naturell. 1886. VII. sér., Bd. 3. p. 14.

die schwache entfärbende Wirkung des Salpeters vielleicht zum Theil auf eine indirekte Einwirkung der angedeuteten Art hinauslaufen.

Mag nun das Methylenblau von selbst oder unter dem Einfluss von Zitronensäure aus der Zelle diosmiren, immer bleibt der die Speicherung bedingende Körper in der Zelle zurück, welche demgemäß nachher durch Methylenblau gefärbt werden kann wie zuvor. Die Entfärbung kommt also durch allmähliche Zerlegung der gespeicherten Verbindung, durch Exosmose des durchgangsfähig gewordenen Methylenblaus zu Stande. Dieses verschwindet, indem es in das umgebende Wasser übergeht, nicht aber durch Verarbeitung in der Zelle. Gegen solche Verarbeitung sprechen schon die Pflanzen, in welchen der Farbstoff lange Zeit unverändert bleibt, und zudem lässt sich der Austritt des Farbstoffes direkt demonstrieren. Legt man eine gefärbte Wurzel von *Lemma minor*, deren Zellwände unter Mitwirkung von verdünnter Salpeterlösung gänzlich entfärbt wurden, auf Fließpapier, welches mit verdünnter Zitronensäure (0,04 %) getränkt ist, so zeichnet sich nach 4 bis 10 Stunden die Kontaktfläche der Wurzel als eine blaue Linie ab. Es kommt eben hier die kleine Menge des austretenden Methylenblaus zur Geltung, welche beim Übergang in viel Wasser sich der Wahrnehmung entziehen muss.

Da wo Aufnahme und Ausgabe gleichzeitig thätig sind, muss natürlich, wie schon früher (p. 204) hervorgehoben wurde, bei genügender Verdünnung Gleichgewicht zwischen den beiden antagonistischen Prozessen bestehen. Und wie deshalb *Zyguema* in genügend verdünnter Lösung Methylenblau nicht mehr speicherte, unterblieb eine Speicherung u. a. auch, als die Wurzel von *Lemma minor* sich in einer 0,00004 % Lösung des Farbstoffs befand, der 0,04 % Zitronensäure zugesetzt war, während ohne diesen Zusatz der Farbstoff angehäuft wurde.

Wie in den Wurzeln von *Lemma*, *Trianea*, *Azolla* der Farbstoff unter normalen Verhältnissen in alten und jungen Zellen festgehalten wird, in den sich vermehrenden Zellen dabei sich naturgemäß auf die Tochterzellen vertheilt, so wirkt auch Zitronensäure in gleicher Weise entfärbend auf ältere und auf wachsende Zellen. Durch die Wachstumsthätigkeit werden also jedenfalls nicht allgemein Bedingungen für Exosmose des Methylenblaus herbeigeführt und es ist wohl nur ein zufälliges Zusammentreffen, dass die Objekte, für welche Entfärbung ohne äußere Einwirkung bekannt ist, Algenfäden sind, deren sämtliche Zellen Wachstumsthätigkeit besitzen. Uebrigens kann, wie die Mittheilung der Versuche zeigt (p. 219), in diesen Algen Entfärbung bei nur sehr geringem Wachstum stattfinden.

Meine Versuche über den Einfluss der Säuren auf Exosmose von Farbstoffen erstrecken sich nur auf Methylenblau. Doch lassen die Erfahrungen an gefärbten Objekten bei Aufenthalt in Wasser ein gleiches Verhalten gegenüber anderen Farbstoffen vermuthen. Denn in solchen Versuchen mit Methylviolett ergab sich ein analoges Resultat für *Trianea*, *Azolla*,

Lemma, *Zygnema* und *Spirogyra* und ebenso in Versuchen mit Fuchsin für die geprüften Pflanzen (*Trianea*, *Azolla*, *Spirogyra*). *Azolla* und *Lemma* bewahrten ferner das gespeicherte Bismarckbraun, und wenn dieses aus *Zygnema* nach 6 tägigem Aufenthalt in Wasser noch nicht verschwunden war, so ist damit nicht ausgeschlossen, dass nach längerer Zeit Entfärbung eingetreten wäre ¹⁾.

Die meisten Versuche über künstliche Entfärbung stellte ich mit Zitronensäure an, indem die mit Methylenblau gefärbten Pflanzen in eine größere Menge ($\frac{1}{2}$ —4 Liter) der zumeist 0,04 % Säure kamen. Alle 2 Tage wurde diese Flüssigkeit durch neue Lösung ersetzt. In dieser auf Lakmus noch deutlich sauer reagierenden Zitronensäurelösung blieben meine Versuchspflanzen der Regel nach lebend und lebensfähig, während in einer 0,02 % Lösung häufig Schädigung und Tötung zu Stande kam. Als Versuchspflanze benutzte ich am häufigsten die Wurzel von *Lemma*, welche sich in einer 0,04 % Zitronensäurelösung gewöhnlich schneller entfärbt als *Zygnema* unter normalen Bedingungen. Schnell entfärben sich auch die Wurzelhaare von *Trianea*, während in Epidermis und Haube der Wurzel die Entfärbung langsamer und noch langsamer in *Azolla* fortschreitet. In diesen Objekten ist gerbsaures Methylenblau, in den Haaren von *Trianea* und in *Lemma* ist eine andere Verbindung gespeichert, und damit hängt offenbar die ungleich schnelle Entfärbung zusammen, mag die Ursache nun in der schwereren Löslichkeit des gerbsauren Methylenblaus oder in der schwierigeren Zersetzbarkeit dieses liegen.

Den Einfluss schwieriger durchlässiger Zellhaut und anderer Faktoren, die auch bei der Farbstoffabgabe in Betracht kommen, habe ich nicht verfolgt. Hinsichtlich der Temperatur sei nur bemerkt, dass meine Versuche bei Zimmertemperatur von 13—24°C. angestellt wurden. Ein Versuch bei 30—35° C. ergab eine Beschleunigung der Entfärbung durch Zitronensäure, während, ohne Säure, *Lemma*, *Trianea* und *Azolla* während 4 Tage ihren gespeicherten Farbstoff bei 30—35° C. nicht verloren.

Lemma minor. In verschiedenen Versuchen kamen etwa 60 jüngere und ältere Wurzeln in 0,04 % Zitronensäure. Schon nach 24 Stunden pflegte eine Anzahl, nach 48 Stunden pflegten alle Epidermiszellen ihren farbigen Zellsaft oder die krystallinischen Ausscheidungen verloren zu haben. Zuletzt verschwinden die spärlichen feinen Körnchen, welche wahrscheinlich gerbsaures Methylenblau sind. Im Laufe von 3—4 Tagen waren auch die Binnenzellen der Wurzel ganz entfärbt. — In 0,005 % Zitronensäure war die Entfärbung in 2 Tagen ungefähr so weit gediehen, als nach 4 Tag in 0,04 % Säure. In 0,02 % Säure fanden sich schon nach 10 Stunden manche Epidermiszellen entfärbt, doch schädigt eine solche Lösung bei verlängertem Aufenthalt.

In allen Fällen nahmen die auf diese Weise künstlich entfärbten Zellen in einer Methylenblaulösung den Farbstoff so reichlich auf als zuvor.

Trianea bogotensis. Die Wurzelhaare mit tief blauem Zellsaft waren schon nach 6 stündigem Aufenthalt in 0,04 % Zitronensäure ganz oder fast ganz entfärbt, führten aber noch die blauen Körnchen, welche erst nach 2—3 Tagen ganz verschwanden. Nach dieser Zeit war auch das gerbsaure Methylenblau aus Zellen der Haube und der Epidermis der Wurzel ganz oder zumeist verschwunden. In manchen der noch Körnchen führenden Zellen war jetzt der Zellsaft schwach, aber doch deutlich blau.

Versuche mit 0,005 % und 0,02 % Säure gaben ein relativ ähnliches Resultat wie mit *Lemma*.

1) Übrigens ist nicht nöthig, dass alle Farbstoffe unter dem Einfluss von Säuren exosmiren. — Ein Versuch mit Stückchen rother Rübe ließ einen Austritt des Farbstoffs in verdünnte Zitronensäure nicht erkennen.

Azolla caroliniana. Ließ ich die Wurzeln nur ganz wenig Methylenblau speichern, so war die geringe Menge Niederschlag in 0,04 % Zitronensäure nach 2 Tagen theilweise verschwunden. Bei reichlicherer Speicherung war nach 4 Tagen der Niederschlag nur merklich vermindert. Die Säure veranlasst ziemlich leicht die Abstoßung insbesondere der größeren Wurzeln.

Elodea canadensis. Ein mit Methylenblau gesättigter Spross kam in 0,04 % Zitronensäure, die alle Tage erneuert wurde. Im Vergleich zu den in Wasser gehaltenen anderen Objekten war nach 2 Tagen merkliche Abblässung, nach 8 Tagen beinahe Entfärbung für das unbewaffnete Auge zu bemerken. Das Mikroskop zeigte jetzt noch etwas Farbstoff in mindestens einem Theil der normal lebendigen Zellen, die in Methylenblau sich wieder tief färbten. Die in Wasser gehaltenen Sprosse schienen nach 8 Tagen ein wenig abgeblasst zu sein.

In Versuchen mit *Lemna minor* ergab Weinsäure (0,008 %) ein ähnliches Resultat wie Zitronensäure. Schwefelsäure (0,002 %) entfärbte in 3 Stunden ansehnlich, tötete aber in dieser Zeit ziemlich viele Zellen. Dagegen trat keine merkliche Exosmose des gespeicherten Methylenblaus ein, als die Pflanzen während 2 Tage in Wasser verweilten, das dauernd reich an Kohlensäure, durch Zuleitung dieser, erhalten wurde. Dagegen erzielte eine merkliche, doch nicht weitgehende Entfärbung 0,2 % Lösung von Monokaliumphosphat.

In Pikrinsäure (0,005 %), Tannin (0,005 %), Kalibichromat (0,005 %) und Ferrocyanium (0,4 %) traten in 24 Stunden und, so weit die Zellen lebendig geblieben waren, in 48 Stunden keine merklichen Mengen von Methylenblau aus der Wurzel von *Lemna minor*. Da die genannten Körper mit Methylenblau sehr wenig lösliche Verbindungen eingehen, wird zugleich ihr Nichteindringen in die lebende Zelle durch den Verbleib der Farbstofflösung im Zellsaft dargethan. Nach diesem Prinzip lassen sich die angehäuften Farbstoffe auch zur Kontrolle über Aufnahme anderer Stoffe verwenden. In Ammoncarbonat (0,02 und 0,4 %) war die Wurzel von *Lemna* nach 24 Stunden noch normal gefärbt, und ebenso färbte sich diese Pflanze in üblicher Weise in einer Lösung, die neben 0,0002 % Methylenblau, 0,04 % Ammoncarbonat enthielt.

Die Einwirkung nicht sauer reagirender Salze bedarf noch einer näheren Prüfung. Eine Entfärbung der Wurzel von *Lemna minor* wurde in 24 und 48 Stunden nicht beobachtet durch 0,2 % Natriumdicarbonat, neutrales zitronensaures Natron mit 0,4 % Zitronensäure; Kalisulfat 0,2 %. Eine Spur von Abblässen schien in neutralem weinsaurem Kalium zu Stande zu kommen, das in 0,2 % Lösung ohne und mit Zusatz von 0,05 % Natriumdicarbonat zur Anwendung kam. Etwas deutlichere, doch immer noch schwache Entfärbung rief in 24 Stunden 0,2 % Lösung von neutralem weinsaurem Ammonium hervor.

Dass diese Versuche nicht ausreichend sind, geht aus den etwas ausgedehnteren, aber auch nicht abschließenden Experimenten mit Kaliumnitrat hervor, welche übrigens zeigen, dass Salpeter in verdünnter und in plasmolysirender Lösung einen Einfluss auf Speicherung, resp. auf Ausgabe gespeicherten Methylenblaus hat. Dieser Einfluss von verdünnter Salpeterlösung trat besonders hervor, als den gefärbten Pflanzen je 4 Liter folgender Lösungen geboten wurde: a) Methylenblau 0,00002 %; b) Methylenblau 0,00002 % + 4% Salpeter; c) wie b, doch mit Zusatz von 0,05 % Natriumdicarbonat; d) Methylenblau 0,00002 % + 0,25 % Salpeter. In a. war nach 24 Stunden eine schöne Speicherung in allen Versuchspflanzen eingetreten. Wesentlich geringer war die Speicherung in b. und c. in *Spirogyra communis*, in der Wurzel von *Lemna minor* und in den Wurzelhaaren von *Trianea bogotensis*, und auch in d. ließ sich eine viel schwächere Hemmung der Aufnahme von Methylenblau bemerken. In der Wurzelepidermis von *Trianea* und noch mehr in der Wurzel von *Azolla* hatten die Lösungen b. und c. die Farbstoffaufnahme nur wenig und z. Th. nicht merklich ge-

hemmt, und in der Lösung d. war eine Hemmung der Aufnahme für diese letztgenannten Pflanzen nicht sicher zu bemerken. Nach 48 Stunden wurden, so weit die Zellen noch lebendig waren, ähnliche Verhältnisse beobachtet. Es mag noch ausdrücklich bemerkt sein, dass die in diesen und anderen Versuchen verwendete Salpeterlösung durchaus neutral war, und der gleiche Erfolg nach Zusatz von etwas Natriumdicarbonat lehrt ebenfalls, dass die Resultate nicht durch eine saure Reaktion der Lösung bedingt sein konnten.

Kamen zuvor mit Methylenblau gefärbte Wurzeln von *Lemna minor* in $\frac{1}{2}$, 4 und 3 % Salpeterlösung (letztere plasmolysirt), so war nach 24 und 48 Stunden in vielen Wurzeln eine schwache Entfärbung zu bemerken, die im allgemeinen in den 4 % Lösungen am weitesten fortgeschritten schien. Eine Ausdehnung dieser Versuche auf längere Zeit war des Absterbens der Zellen halber, das schon nach 48 Stunden störend eingriff, nicht zulässig.

Werden die plasmolysirten Pflanzen in eine gleich konzentrierte Salpeterlösung übertragen, welche Methylenblau enthält, so ist die Aufnahme dieses erheblich verlangsamt. Von zahlreicheren Versuchen führe ich hier 2 Beispiele an. In 3 % Lösung mit 0,004 % Methylenblau war eine Aufnahme in die Wurzel von *Lemna* erst nach $2\frac{1}{2}$ Stunden, in die von *Azolla* nach 4 Stunden bemerklich. In 6 % Salpeterlösung mit 0,0004 % Methylenblau bedurfte es 4, resp. 6 Stunden, um eine merkliche Aufnahme in die genannten Pflanzen zu erzielen. Dagegen war, ohne Zusatz von Salpeter, in 0,004 %, resp. 0,0004 % Methylenblaulösung eine Speicherung nach $\frac{1}{4}$ bis $\frac{1}{2}$, resp. nach $\frac{3}{4}$ Stunden zu bemerken. In der plasmolysirten *Azolla* färbten sich natürlich die ausgeschiedenen Gerbsäurekugeln.

Nach einem einzelnen Versuche schien die Farbstoffaufnahme weniger gehemmt zu werden in einer 10 % Rohrzuckerlösung, welche 0,004 % Methylenblau enthielt¹⁾.

Nach den mitgetheilten Versuchen vermögen zwar manche neutrale Salze einen gewissen Einfluss auf Aufnahme und Ausgabe von Methylenblau auszuüben, doch ist die Wirkung gering gegenüber Zitronensäure, welche verhältnismäßig schnell, ohne die Lebensthätigkeit zu sistiren, die Exosmose des gespeicherten Farbstoffes veranlasst. Eine analoge Wirkung dürften, nach den Erfahrungen mit Weinsäure und Schwefelsäure, viele stärkere Säuren²⁾ haben, sofern sie in den Zellsaft gelangen, während die schwächere Kohlensäure schon deshalb keine merkliche Exosmose erzeugen kann, weil diese sonst, der Kohlensäureproduktion in der Zelle halber, allgemein eintreten müsste.

Die Wirkung der Zitronensäure und der analog wirkenden Säuren hängt offenbar von dem Eindringen in den Zellsaft ab. Ein solches Eindringen ohne Schädigung des Lebens wurde für verdünnte Zitronensäure mit Hilfe der durch Cyanin und Methylorange gefärbten Zellen nachgewiesen (p. 260, 266) und lässt sich auch durch die Rothfärbung des blauen Zellsaftes in den Blumenblättern von *Pulmonaria officinalis* demonstrieren. Durch diese Reaktion überzeugte ich mich auch von dem Eindringen ver-

1) Bei gleich starker Plasmolyse sterben Pflanzen in Salpeterlösung viel schneller ab als in Zuckerlösung.

2) Es ist deshalb zu vermeiden, dass etwa Bakterien in der umgebenden Flüssigkeit Säuren bilden.

dünnter Weinsäure und das leichte Eindringen anorganischer Säuren, welche freilich leicht Schädigung herbeiführen, ist schon länger bekannt¹⁾. Da aber thatsächlich ein Eindringen der Säure in den Zellsaft die Erfolge vollkommen erklärt, ist es nicht nöthig, andere Einflüsse der Säuren, etwa Reizwirkungen, anzunehmen.

Wie nämlich die Pflanze aus dem an sich nicht eindringenden gerbsauren Methylenblau den Farbstoff in sich anhäuft, sobald Zitronensäure in einer nicht schädigenden Menge zugesetzt ist (p. 284), muss nothwendig auch ein Eindringen der Säure zu dem im Zellsaft gespeicherten Methylenblau zu einer Auswanderung dieses führen. Denn wird durch eine, wenn zunächst auch noch so geringfügige, Zersetzung des gerbsauren Methylenblaus oder einer anderen gespeicherten Verbindung dieses Stoffes die diosmotische Ausgabe von etwas Methylenblau (etwa als zitronensaures Salz) veranlasst, so muss endlich aller Farbstoff aus der Zelle verschwinden, weil die diosmirbar gewordene Verbindung fortdauernd in die umgebende, relativ unendlich große Menge von Wasser gelangt, und dieserhalb mit dem fortdauernden Nachdringen der Säure die jeden Augenblick nur sehr partielle Zersetzung der gespeicherten Verbindung endlich total wird.

Die Thatsache, dass Zusatz von Zitronensäure Methylenblau aus der gerbsauren Verbindung aufnehmbar macht, ferner die Löslichkeit des gerbsauren Methylenblaus in Zitronensäure (p. 232) beweisen aber direkt die partiell zersetzende Wirkung der Zitronensäure, welche nach den Erfahrungen an lebenden Zellen anscheinend noch leichter die Methylenblauverbindung mit den anderen unbekanntem Körpern zersetzt, die in der Wurzel von *Lemna* und in den Wurzelhaaren von *Trianea* die Speicherung verursachen. Und an der Sachlage würde auch dann nichts wesentliches geändert, wenn die Zitronensäure nur indirekt, etwa indem sie im Zellsaft eine andere Säure in Freiheit setzte, die fragliche Zersetzung der Verbindung veranlasste, welche zu einer Exosmose des gespeicherten Methylenblaus, unter Hinterlassung des speichernden Stoffes, führt.

Kommt aber durch die im Zellsaft gebotenen Bedingungen, etwa durch Gehalt und entsprechende Neubildung von Säure, normalerweise eine gewisse Zersetzung der gespeicherten Methylenblauverbindung zu Stande, so muss ohne äußere Anstöße endlich die Entfärbung erfolgen, sofern die entstehende Methylenblauverbindung diosmirt. So ist es in der That bei *Spirogyra* und *Zygnema*, welche demgemäß als Resultante aus dem Streben nach Anhäufung und nach Exosmose sich gegen Methylenblaulösung analog verhalten, wie *Lemna* in einer mit Zitronensäure versetzten Methylenblaulösung. In beiden Fällen tritt eine Anhäufung des Farbstoffs erst ein, wenn dieser in genügender Verdünnung geboten ist, doch muss, um solches zu

1) PFEFFER, Osmot. Unters. 4877. p. 435.

erreichen, des langsamen Auswanderns des Farbstoffs halber. die Lösung nur sehr geringe Mengen von Methylenblau enthalten.

Das unverrückte Festhalten des Farbstoffs in der Zelle aber beweist, dass eine selbst nur geringfügige Zersetzung unter den im Zellsaft gebotenen Bedingungen nicht zu Stande kommt. Aus solchem negativen Resultat ist also wieder ein gewisser Rückschluss auf die Konstitution des Zellsaftes möglich, denn freie Säuren, welche wie Zitronensäure wirken, können unter diesen Umständen nicht vorhanden sein. Geben aber irgend welche innere und äußere Ursachen zur Produktion solcher Säuren Veranlassung, so muss eine Entfärbung der Zellen die Folge sein, und solche Verhältnisse können u. a. als Reagens benutzt werden, um eine entsprechende Modifikation des Stoffwechsels zu erkennen. Eine Pflanze mag aber wohl unter verschiedenen Ernährungsbedingungen ein verschiedenes Resultat hinsichtlich des Zurückhaltens der Farbstoffe liefern, und es dürfte nicht schwer sein, Argumente hierfür zu liefern, nach denen ich bisher nicht gesucht habe. Dass aber der Säuregehalt veränderlich ist¹⁾, lehrt einmal die in vielen Pflanzen erhebliche tägliche Periodizität in dem Gehalt an freier Säure, ferner ist daran zu erinnern, dass Pilze, je nach der Qualität der organischen Nahrung, die Nährflüssigkeit entweder sauer oder alkalisch machen, und z. B. ein Zusatz von Chlorammonium zur Wasserkultur eine starke Ansäuerung dieser durch Phanerogamen zur Folge haben kann²⁾.

Solche Verhältnisse müssen aber bei Erklärung der Wirkung nicht saurer Stoffe ins Auge gefasst werden. Möglich, dass das Monokaliphosphat noch vermöge seiner sauren Eigenschaft wirkt, in Salpeter und weinsaurem Ammon aber liegen neutrale Stoffe vor, welche dennoch einen, wenn auch schwachen Einfluss auf Aufnahme von Methylenblau und Ausgabe des gespeicherten Farbstoffs haben. Um eine indirekte Beeinflussung würde es sich in jedem Falle handeln, sofern keine Spur dieser Stoffe den Weg in den Zellsaft findet, was indess, selbst für Salpeter, trotz der bisherigen negativen Resultate (vgl. Kap. XXI), nicht behauptet werden kann. Gelangt aber eine kleine Menge der Salze in den Zellsaft, so sind andere indirekte oder direkte Wirkungen denkbar, welche zu einer jeden Augenblick nur partiellen Zersetzung der Farbstoffverbindung führen können³⁾. Mög-

1) Über den Säuregehalt etiolirter Pflanzen, der größer oder geringer als der in Lichtpflanzen sein kann, vgl. G. KRAUS, Über die Wasservertheilung in d. Pflanze. IV. 1884. p. 12.

2) Vergl. PFEFFER, Physiologie. Bd. I. p. 66.

3) Unter vielen Möglichkeiten wäre auch ins Auge zu fassen, dass ein Salz partiell dissoziiren und dann, bei schnellerer Diösmose der Säure etwas freie Säure in den Zellsaft gelangen könnte (vergl. PFEFFER, Osmot. Unters. 1877. p. 164). Ein derartiges Verhältnis scheint aber bei Salpeter nicht vorzuliegen, da der blaue Zellsaft in Zellen der Blumenblätter von *Pulmonaria* in Lösungen dieser Salze keine Farbänderungen zeigte. Dagegen änderte sich etwas die Färbung des rothen Zellsaftes junger Blüten von *Pulmonaria* in weinsaurem Ammoniak.

lich auch, dass die Verdrängung des Farbstoffs durch Salpeter und andere Salze, die in der gefärbten Zellwand thatsächlich eintritt (p. 185), eine Rolle bei der Hemmung der Farbstoffaufnahme in die Hautschicht des Protoplasmas spielt. Jedenfalls darf man nicht vergessen, dass sehr wohl konzentrierte Salzlösungen in anderer Weise als verdünnte wirken könnten und dass die Ausgabe des gespeicherten Farbstoffes nicht nothwendig in gleichem Maße wie die Aufnahme des Farbstoffs von außen beeinflusst werden muss.

Lässt sich die besprochene Wirkung der Salzlösungen zur Zeit nicht kausal erklären, so demonstriert doch die Entfärbung durch Säuren in sehr durchsichtiger Weise, wie eine an sich nur sehr partielle Zersetzung mit Hilfe der diosmotischen Entfernung eines Produktes zu einer weitgehenden und vollständigen Umsetzung führen kann. Derartige Vorgänge spielen, wie ich schon früher ¹⁾ hervorhob, im Organismus jedenfalls eine ganz hervorragende Rolle, mag nun die Fortführung der an sich nur geringfügigen Reaktion dadurch bedingt sein, dass das eine Produkt durch Diosmose oder durch Verarbeitung oder auf andere Weise beseitigt wird. Ich zweifle nicht, dass gar viele der merkwürdigen Stoffumwandlungen im Organismus gerade in diesem Grundprinzip wurzeln, das in sich die Bedingungen dafür trägt, dass der Stoffumsatz in einer dem Konsum entsprechenden und überhaupt in einer für den Organismus zweckentsprechenden Weise geregelt wird. Die besonderen Modalitäten, unter welchen Einleitung und Durchführung solcher Reaktionen erreicht werden, sind im Organismus ohne Frage mannigfachster und oft recht sehr verwickelter Art. Doch berührt das nicht das Prinzip der Sache, und dieses kann unter den mannigfachsten Verwicklungen gewahrt sein; mag dabei z. B. die partielle Reaktion durch die in einer Zelle gebotenen Bedingungen veranlasst oder erst durch die Beeinflussung seitens einer anderen Zelle erreicht werden.

4) Bemerkungen über saure und alkalische Reaktion in der Zelle.

Die mitgetheilten Beobachtungen werfen verschiedene Fragen auf, von denen wenigstens andeutungsweise hier einige Verhältnisse berührt werden mögen, welche sich auf die Reaktionsverhältnisse im Zellsaft und Protoplasma, sowie auf den Durchgang von Säuren durch das Protoplasma beziehen.

¹⁾ Osmot. Unters. 1877. p. 463. Physiologie I. p. 312. — Die Bedeutung dieses Prinzips für chemische Umsetzungen wurde von BERTHOLLET (1803) erkannt, der mit der Würdigung der Massenwirkung, nach der nicht nur die Qualität, sondern auch die Quantität für Umsetzungen ins Gewicht fällt, einen der wichtigsten Faktoren in der chemischen Mechanik kennzeichnete (vgl. LOTUAR MEYER, die modernen Theorien d. Chemie. IV. Aufl. 1883. p. 513).

Nach dem Festhalten des gespeicherten Methylenblaus kann in den bezüglichen Pflanzen der Zellsaft erhebliche Mengen solcher freier Säure nicht enthalten, die, wie Citronensäure, schon in großer Verdünnung Exosmose des Farbstoffs veranlassen, und es ist anzunehmen, dass außer Weinsäure z. B. auch Äpfelsäure, Oxalsäure ähnlich wirken, also gerade die Säuren, auf welche man die saure Reaktion des Zellsaftes zu schieben pflegt¹⁾. Auch ist nach dem Verhalten gegen Cyanin (p. 264) der Zellsaft weder bei *Azolla* und *Trianea*, noch bei *Spirogyra communis* erheblich sauer, und dennoch exosmirt aus letzterer mit der Zeit das gespeicherte Methylenblau. Überhaupt ist in ziemlich vielen Pflanzen der Zellsaft nicht oder doch wenig, bei andern Pflanzen aber sehr sauer, so dass z. B. nach G. KRAUS²⁾ bei *Sempervivum blandum*, auf Frischgewicht bezogen, die Blattrosette 0,43, Rhizom mit Wurzel 2,13 freie Äpfelsäure enthalten, und für die Zitrone³⁾ werden sogar 6—7 % Säure angegeben.

Über die Speicherung von Methylenblau in sehr stark sauren Zellsäften stehen mir keine Beobachtungen zur Verfügung. Indess muss die Fähigkeit der genannten freien Säuren, durch das lebende Protoplasma zu diosmiren (ich nehme an, dass Äpfelsäure und Oxalsäure dieses auch thun), doch Bedenken erwecken, ob diese Säuren in völlig freiem Zustande im Zellsaft vorhanden sind. Sollte es aber der Fall sein, so würden in jedem Falle die besonderen Eigenthümlichkeiten sehr beachtenswerth sein, welche in den Pflanzen die Exosmose dieser Säuren verhindern. Thatsächlich folgt aber aus der titrirbaren Säuremenge im ausgepressten Saft noch keineswegs, ob im Zellsaft der lebenden Zelle Äpfelsäure oder Zitronensäure als solche, oder in irgend einer nicht diosmirbaren Form vorhanden war, mag diese nun durch das Bestehen eines sauren Salzes oder durch andere unbekannt, vielleicht leicht zerfallende Verbindungen oder durch Molekularadditionen erreicht sein. Ebenso wie dem durch Methylenblau gefärbten Zellsaft von *Lemna* nicht direkt anzusehen ist, in welcher Verbindung der in bekannter Qualität eingetretene Farbstoff sich befindet, ist mit der Existenz der titrirbaren Säure im ausgepressten Saft noch nicht die Form bestimmt, in welcher sie im Zellsaft sich befand.

Einige Beobachtungen, welche sich freilich nur auf schwach saure Zellsäfte beziehen, sprechen übrigens dafür, dass die Reaktion des Zellsaftes durch sauer reagirende Salze bedingt wird. Denn wenn der rothe Zellsaft junger Blüten von *Pulmonaria* nach Bläuung mit etwas Ammoniak bei Abspülen der Schnitte in Wasser schnell seine frühere Röthung wiedergewinnt, so kann die Ursache der Röthung nicht wohl freie Säure sein, die nun in neutrales Salz verwandelt wäre, und in der Kürze der Zeit ist kaum an

1) Vergl. G. KRAUS, Über die Wasservertheilung in der Pflanze. 1884. IV. p. 23.

2) Stoffwechsel bei den Crassulaceen. 1886. p. 4.

3) Vergl. EBERMAYER, Physiol. Chemie der Pflanzen. 1882. p. 273.

Neubildung der zur Wiederherstellung der früheren Reaktion nöthigen Säure zu denken. Das besagte Verhalten wäre indess möglich, wenn z. B. die sauer reagirenden Monophosphate der Alkalien die Reaktion veranlassten, denn aus den alkalisch reagirenden Diphosphaten entstehen unter dem Einfluss von Kohlensäure Monophosphate¹⁾. Auch die voraussichtlich durch Neutralisation erzielte Fällung von gerbsaurem Eiweißstoff spricht, mit Rücksicht auf die nach Entfernung des Reagens sehr schnelle Wiederauflösung in *Spirogyra*, gegen freie Säure im Zellsaft. Ich muss mich auf diese wenigen Andeutungen beschränken, aus welchen wenigstens zu ersehen ist, dass hier noch ungelöste, aber angreifbare Fragen vorliegen.

Sehr beachtenswerth ist, dass die schon länger erkannte²⁾ und durch die Färbung mit Methylorange (p. 266) bestätigte alkalische Reaktion des Protoplasmas beim Passiren der Zitronensäure einer sauren Reaktion Platz macht, also nicht in allen Fällen vorhanden ist. Mit Entfernung der Säure kehrt zweifellos die alkalische Reaktion zurück, und wie dieses Verhalten sprechen auch andere Erwägungen gegen Carbonate der Alkalien als Ursache der alkalischen Reaktion. Denn bei größerer Menge dieser würde, wie schon früher (p. 278) bemerkt ist, eine Färbung des Protoplasmas durch Methylviolett und Fuchsin nicht zu erwarten sein, und ferner müssten bei dauernder Produktion von Kohlensäure die Monocarbonate zu nicht alkalisch reagirenden Dicarbonaten werden. Rührt dagegen die alkalische Reaktion von Diphosphaten der Alkalien her, wie es G. KRAUS³⁾ für den Siebröhrensaft nachwies, so sind die Beobachtungen wohl verständlich. Denn dass Diphosphate trotz Kohlensäure sich erhalten und selbst bei eventueller Umwandlung in Monophosphate (wie sie möglicherweise Zitronensäure bewirkt) regeneriren, kann nicht Wunder nehmen, da Vereinigung mit anderen Körpern, z. B. mit Eiweißstoffen, zweifellos eine Rolle mitspielt, und ich will nur daran erinnern, wie relativ schwierig Säuren Cyanin entfärben, das in dem im Zellsaft entstandenen Niederschlag gebunden ist (p. 260).

Hängt aber die Reaktion des Protoplasmas von Alkaliphosphaten ab, so können in ihm nebeneinander sauer und alkalisch reagirende Phosphate (Mono- wie Diphosphate) und neben diesen theoretisch saure Körper, z. B. Dicarbonat bestehen, wie solches auch im Blute der Thiere der Fall ist⁴⁾. Und wie unter diesen Umständen ohne Schädigung und dauernde Veränderung der Konstitution Zitronensäure das Protoplasma zu passiren vermag, kann durch dieses ebenso wohl freie Säure nach außen sezernirt werden, mag diese nun aus dem Zellsaft kommen oder im Protoplasma ihren Ursprung nehmen. Auch letzteres ist trotz der alkalischen Reaktion möglich,

1) Vergl. z. B. HERMANN, Handbuch d. Physiologie. Bd. V. 1884. Abth. 2. p. 67.

2) Vergl. PFEFFER, Physiologie. I. p. 347.

3) Botan. Mitthlg. (Sptzg. aus Abhdlg. d. Naturf. Ges. in Halle. Bd. XVI) 1885. p. 20.

4) MALY in HERMANN's Handbuch d. Physiologie. V. 1884, 2. p. 67.

denn eine solche besitzen im thierischen Organismus ebenfalls Blut und Lymphe, aus welchen die in den Magen ausgeschiedene freie Salzsäure gebildet wird¹⁾. Sekretion von Säuren aus lebendigen Zellen, also durch Vermittlung des Protoplasmas, kommt aber z. B. in Wurzeln und Rhizoiden, in den Drüsenhaaren der fleischverdauenden Phanerogamen und überhaupt wohl ziemlich häufig vor, und es ist keineswegs ausgeschlossen, dass außer organischen Säuren auch anorganische Säuren von pflanzlichen Zellen sezernirt werden²⁾.

Bei der sehr geringen Kenntnis über die Qualität der ausgeschiedenen Säure und den Vorgang der Sekretion fehlt eine sichere Basis, um über die bezüglichen Vorgänge in der pflanzlichen Zelle diskutieren zu können. Mit Rücksicht auf die reichliche Säureproduktion im Magen der Thiere ist aber die Entstehung anorganischer Säuren (speziell der Salzsäure) in lebendigen Organen vielfach erwogen worden. Eine solche Entstehung ist z. B. möglich durch Umsetzung zwischen Chloriden und Monophosphaten und durch Einwirkung schwächerer Säuren auf Chloride oder andere Salze. Denn nachweislich vermögen Milchsäure, Oxalsäure, Zitronensäure und selbst Kohlensäure eine geringe Menge Säuren aus Chloriden und Nitraten (wohl auch aus Sulfaten) frei zu machen³⁾, und wenn hierbei eine osmotische Fortführung der immer nur spurenweise entstehenden Säure eintritt, kann, wie ich schon früher hervorhob⁴⁾, mit der Zeit eine große Menge dieser aus einer Zelle geliefert werden, welche dabei nicht geschädigt werden muss, weil in jedem Augenblick nur Spuren freier Säure im Protoplasma vorhanden zu sein brauchen.

Zur tieferen Einsicht bedarf es aber, wie bemerkt, eingehender Studien, die natürlich auch die äußeren und inneren Anstöße zur Sekretion ins Auge zu fassen haben. Für *Drosera* und andere fleischverdauende Pflanzen ist übrigens bekannt, dass chemische Reize die Sekretion veranlassen.

1) MALY l. c. p. 66.

2) Vgl. die Literatur in PFEFFER, Physiologie. Bd. I. p. 66, 79, 236, u. Bd. II. p. 248. — Da im Zellsaft das gespeicherte Methylviolett und Fuchsin ihre Farbe bewahren, so finden sich darin, wie auch nicht anders zu erwarten, keine erheblichen Mengen freier anorganischer Säuren, welche jene Farbstoffe (durch Bildung der 3fach sauren Salze) blaugrün resp. gelbroth färben.

3) Außer der bei MALY (l. c. p. 65) citirten Literatur sei hier noch bemerkt, dass EMMERLING (vgl. PFEFFER, Osm. Unters. 1877. p. 163) Austreibung von Salpetersäure durch Oxalsäure, H. SCHULZ (Chem. Centralblatt 1882. p. 567) Zersetzung von Chloriden durch Kohlensäure, DETMER (Bot. Ztg. 1884. p. 793) Zersetzung von Chloriden durch Zitronensäure nachwies.

4) Osmot. Unters. 1877. p. 163.

XIX. Aufnahme fester Körper.

Ein kurzes Eingehen auf die Aufnahme von Partikeln sichtbarer Größe in den Protoplasmakörper schien hier geboten, um das Verhältnis zur Aufnahme gelöster Stoffe zu charakterisiren. Seit CIENKOWSKI'S¹⁾ und DE BARY'S²⁾ Arbeiten ist allgemein bekannt, wie in die Plasmodien der Myxomyceten (und ähnlich in Amöben u. s. w.) Körper sichtbarer Größe aufgenommen und gelegentlich auch wieder ausgestoßen werden. Eine solche Aufnahme und Ausgabe kann sich auch zwischen Zellsaft und Protoplasma abspielen³⁾. Besonders wo das Protoplasma eine mächtige Schicht bildet und lebhaft bewegt ist, wie in den Wurzelhaaren von *Trianea*, kommt Aufnahme oder Ausgabe z. B. von Calciumoxalatkrystallen nicht selten vor, und ebenso habe ich die Aufnahme und Wiederausstoßung seitens des Protoplasmas an den blauen Körnchen beobachtet (vgl. Fig. 5), welche bei Einwirkung von Methylenblau in dem Zellsaft der Wurzelhaare von *Trianea* ihren Ursprung nehmen.

Die Aufnahme in Plasmodien geschieht bekanntlich, indem das fortrückende Plasmodium ein fremdes Körpertheilchen umfließt oder indem ein solches, das auf ein Plasmodium gebracht wird, unter ähnlicher Erscheinung in den Protoplasmakörper einsinkt. Da auf diese Weise auch indifferente Stoffe, wie Körnchen Quarz, Indigo, Zinnober in das Plasmodium gelangen, kann bei der Aufnahme ein chemischer Reiz nicht in Betracht kommen, und dass es auch keines Kontaktreizes bedarf, geht aus folgenden, an *Chondrioderma difforme* angestellten Beobachtungen hervor.

Genügend kleine Körper werden nämlich von dem fortrückenden Plasmodium vor sich hergeschoben und erst dann aufgenommen, wenn ein hinreichender mechanischer Widerstand seitens dieser Körperchen geleistet wird. Sehr schön verfolgte ich dieses, als ich dem Wasser durch Hitze getödtete Sporen von *Penicillium* beimengte. Diese tanzten in dem mit dem Fortrücken bewegten Wasser und öfters stieß eine Spore längere Zeit an fast denselben Punkt eines sich vorschiebenden Zweiges von *Chondrioderma*, ohne dass an der Kontaktstelle die Spur einer Einbuchtung entstand. Eine solche aber hätte entstehen müssen, wenn der lokalisirte Stoß eine Reizung ausübte. In Ermangelung dieser ist also die Ursache der Aufnahme der mechanische Widerstand, und sobald dieser genügend war, z. B. wenn eine Spore gegen das Deckglas gepresst wurde oder diesem irgendwie adhärirte, erfolgte die Aufnahme dieser Spore von *Penicillium*. Dieses zu erreichen bedarf es aber nur geringen Widerstandes und schon deshalb werden grössere Körpertheilchen gewöhnlich nicht oder doch nur in untergeordneter

1) Jahrb. f. wiss. Bot. 1863. III. p. 335 u. 414.

2) Der Mycetozoen. II Aufl. 1864. p. 92.

3) Vergl. PFEFFER, Physiol. I. p. 41, 336.

Weise von dem fortrückenden Plasmodium fortgehoben. Immerhin konnte ich ähnliche Erscheinungen beobachten, als ich statt der Sporen von *Penicillium* die erheblich größeren Pollenkörner von *Primula chinensis* benutzte. Zu gleichen Schlussfolgerungen führten auch die Beobachtungen über den Übergang fester Partikel aus dem Zellsaft in das Protoplasma in den Wurzelhaaren von *Trianea*.

Ein näheres Eingehen auf die Formalitäten dieser Aufnahme unterlasse ich hier, ebenso ein Eingehen auf die Ausstoßung fremder Ingesta, welche übrigens in kausaler Hinsicht noch näher zu erforschen ist. Denn es ist bekannt, dass Myxomyeeten in gewissen Entwicklungsstadien die Fremdkörper verlieren¹⁾, und Monadineen stoßen bei Mangel an Sauerstoff, nach Zopf²⁾, die Stärkekörner aus. Auch der Übergang der durch Bismarckbraun, Methylviolett oder Fuchsin deformirten Plasmaportionen in den Zellsaft der Wurzelhaare von *Trianea* ist hier ins Auge zu fassen. Vielleicht veranlasst solche an sich ja zweckmäßige Ausstoßung theilweise schon die Größe der fremden und unnützen Körpermassen, vielleicht kommen aber auch noch andere besondere Verhältnisse dabei in Betracht.

Ist bei den hier ins Auge gefassten Objekten eine Kontakt- oder chemische Reizung für Aufnahme fester Körper nicht nöthig, so kann es deshalb doch bei anderen Organismen sich recht wohl anders erhalten. Übrigens bringt die Anlockung der Myxomyeeten durch chemische Reize³⁾ es mit sich, dass sie geeigneten Nahrungsballen entgegengeführt werden und so die Aufnahme der Nährstoffe abgebenden festen Partikel begünstigt wird.

Die Aufnahme sichtbarer Körpertheilchen in das Protoplasma hängt aber von einem mechanischen Hineinpressen durch einen Druck ab, den die Stofftheilchen vermöge ihres Gewichtes oder vermöge des Widerstandes ausüben, welchen sie der Fortbewegung des Protoplasmakörpers entgegensetzen. Diese Aufnahme, die man Verschlingen nennen kann, hört demgemäß bei zu geringer Größe der festen Partikel auf, während die diosmotische Aufnahme gelöster Stoffe gerade durch geringe Größe der Moleküle im allgemeinen begünstigt wird. Und wenn auch gelöste Moleküle, vermöge wechselseitiger Anziehung zwischen ihnen und der Hautschicht, in diese gewaltsam sich eindringen, so kommt dabei doch ein aus Körpergewicht und Widerstand entspringender mechanischer Druck nicht in Betracht. Es ist also auch die Aufnahme von festen Farbstoffpartikeln in Myxomyeeten, Amöben und ebenso in Infusorien von der diosmotischen Aufnahme gelöster Partikel wohl zu unterscheiden.

1) DE BARY, l. c. p. 94.

2) Zur Morphologie und Biologie d. niederen Pilzthiere. 1883. p. 18.

3) STAHL, Bot. Ztg. 1884. p. 163.

XX. Osmotische Aufnahme ohne Lebensthätigkeit.

Die Physiologie muss stets eifrig bestrebt sein, diejenigen Eigenschaften und Fähigkeiten des Organismus und seiner Organe kennen zu lernen, welche in der Struktur und überhaupt in der Qualität dieses wurzeln und nicht von besonderer Thätigkeit im Leben abhängen, vermöge welcher der Organismus mit Hilfe der ihm zu Gebote stehenden und selbst veränderlichen Mittel besondere Leistungen zu vollbringen vermag. An den nicht lebensthätigen oder, wie wir sagen dürfen, an den statischen Zustand des Organismus müssen wir uns auch halten, um zum Verständnis der allgemeinsten Bedingungen zu kommen, welche im Stoffaustausch der Zelle in Betracht kommen.

Während die aufnehmbaren Anilinfarben mit und ohne Lebensthätigkeit und auch nach Vernichtung der Lebensfähigkeit ihren Weg durch die Hautschicht in das Protoplasma und in den Zellsaft finden (Kap. XVIII), besteht solche Übereinstimmung nicht für alle Stoffe. Denn z. B. für Zucker oder Salpeter konnte DE VRIES kein merkliches Eindringen in die lebendige Zelle und ebenso nicht durch die isolirte Vakuolenwand nachweisen, während beide Stoffe thatsächlich zu Ernährungszwecken in den lebendigen Organismus gelangen. Hier, wo wir von den an die Lebensthätigkeit geketteten Leistungen Abstand zu nehmen haben, sind also Zucker und Salpeter als Stoffe in Betracht zu ziehen, welche durch die Hautschicht nicht zu diosmiren vermögen, und diese Eigenschaft theilen z. B. mit ihnen Chlorkalium, Chlornatrium, Magnesiasulfat. Ja, außer für die behandelten Anilinfarben ist das Eindringen direkt nur für Alkalien und Säuren beobachtet worden ¹⁾.

Die Thatsache, dass die durch andere Membranen leichter diosmirenden Salze die Hautschicht nicht passiren, durch welche die offenbar viel größeren Moleküle von Anilinfarben leicht ihren Weg finden, erklärt sich daraus, dass nicht sowohl die Größe der gelösten Moleküle, als vielmehr die Wechselwirkung zwischen diesen und der Hautschicht über Aufnahme und Nichtaufnahme entscheidet. Wenigstens gilt dieses für den Fall, dass in der Haut keine Zwischenräume bestehen, in welchen gelöste Stoffe passiren können, ohne den von der Substanz der Haut ausgehenden Molekularkräften unterworfen zu werden. Aber selbst wenn die intermicellaren Räume den Durchmesser gelöster Moleküle nicht erreichen, können diese doch, sofern die wechselseitigen Anziehungen kräftig genug sind, zwischen die Membranpartikel gleichsam wie Keile eindringen. Mit dem Eindringen ist aber auch die Möglichkeit der Diosmose gegeben, sofern nur die eingedrungenen Stoffe sich wieder losreißen, was thatsächlich z. B. die in dem Protoplasma gespeicherten Anilinfarben, wie die Entfärbung lehrt, vermögen.

1) Vgl. PFEFFER, Physiologie. I. p. 45.

Somit ist eine Haut, wie ich schon früher¹⁾ hervorhob, gegenüber verschiedenen gelösten Stoffen gleichsam ein Sieb von veränderlicher Maschenweite und an anderer Stelle²⁾ verglich ich auch, um ein plastisches Bild zu geben, den durch molekulare Anziehungskräfte erzwungenen Durchgang gelöster Moleküle, der mechanischen Durchpressung fester Partikel. Gegenüber diesen besteht freilich (vergl. Kap. XIX) ein wesentlicher Unterschied hinsichtlich des Ursprungs der treibenden Kräfte, versinnlichen aber kann der Durchgang fester Partikel durch die Hautschicht, das Hindurchzwängen gelöster Moleküle. Es ist auch leicht einzusehen, dass während des Durchgangs anderen, nicht diosmirenden Stoffen ein zugänglicher Weg nicht geebnet werden muss. Denn hinter dem gelösten Moleküle, wie hinter dem festen Partikel schließt sich die Hautschicht sogleich wieder, ähnlich etwa wie eine Kautschuckplatte hinter einer feinen Nadel, die man hindurchzieht. Aus dem Durchgang fester Partikel geht ferner hervor, dass selbst Moleküle ansehnlichster Größe durch die Hautschicht gelangen können, sofern nur die aus der Wechselwirkung mit der Hautschicht entspringenden Triebkräfte eine genügende Intensität erreichen. Letzteres vorausgesetzt, bietet also die Größe der gelösten Moleküle ein unbedingtes Hemmnis für Aufnahme in das Protoplasma nicht.

Einen Faktor gibt natürlich die Größe der Moleküle auch ab, doch außerdem kommt, neben der Größe der intermicellaren Räume, besonders die wechselseitige Anziehung zwischen dem gelösten Stoffe und der Hautschicht, sowie die Kohäsion der konstituierenden Partikel in dieser in Betracht. Bei der Unmöglichkeit, den Werth dieser Faktoren zu bemessen, kann nur die Erfahrung darüber entscheiden, ob ein Stoff eindringt oder nicht, und man vermag von keinem Stoffe vorauszusagen, ob er durch die Hautschicht diosmirt. Ebenso muss dahin gestellt bleiben, ob die Unfähigkeit des gerbsauren Methylenblaus zu diosmiren bedingt ist durch die Größe der gelösten Moleküle oder durch andere Umstände. Übrigens ist leicht einzusehen, dass schon geringe Veränderungen in der Hautschicht oder in den gelösten Molekülen Modifikationen des diosmotischen Verhaltens im Gefolge haben können.

Welche Umstände aber immer beim Eindringen in die Hautschicht und damit bei der Einleitung der Diosmose mitwirken, jedenfalls handelt es sich stets um Molekularkräfte, die nur auf minimale Entfernungen wirksam sind. Es kann deshalb auch nur die Wechselwirkung zwischen Hautschicht und gelöstem Körper, nicht aber eine Anziehung, die von dem inneren Protoplasma oder Zellsaft ausgeht, das Eindringen eines gelösten Stoffes herbeiführen.

Gelangt ein gelöster Körper durch die Hautschicht in das Protoplasma

1) Osmot. Unters. 1877. p. 42.

2) Physiologie. Bd. I. p. 44.

so gelten für Verbreitung in diesem, so wie für Übergang in den Zellsaft, ferner für Speicherung in diesem und für eventuelle Exosmose, so lange die Hautschicht unveränderte Eigenschaften bewahrt, die Bedingungen, welche sich aus Obigem ergeben ¹⁾ und die mit den speicherungs-fähigen Farbstoffen direkt demonstriert wurden.

Die hervorgehobenen Modalitäten für Stoffaufnahme, welche übrigens auch aus theoretischen Erwägungen über Diosmose sich ergeben ²⁾, gelten allgemein für diosmotische Aufnahme. Eine solche liegt überall vor, wo die zu durchwandernde Schicht vermöge ihrer Molekularwirkungen eingreift, und also eine ungestörte Hydrodiffusion nicht zu Stande kommt. Es ist dabei gleichgültig, ob die zu durchwandernde Schicht einen festen oder weichen Aggregatzustand hat. In beiden Fällen sind weite und enge Räume zwischen den Partikeln möglich, die Zwischenräume in der Hautschicht müssen aber jedenfalls sehr eng sein, da diese den leicht diosmirenden Salpeter nicht durchlässt, welcher sicher hindurchwandern würde, wenn kapillare Räume, die außerhalb des Bereichs der Molekularkräfte der Micellen lägen, von einiger Mächtigkeit vorhanden wären. Irgend welche vitale Funktionen kommen aber hier für uns nicht in Betracht, da, wie hervorgehoben ist, wir hier an die Vorgänge uns halten, welche sich unabhängig von der Lebensthätigkeit vollziehen.

Die Abhängigkeit der Diosmose von der Wechselwirkung zwischen Haut und dem gelösten Körper ist übrigens auch mit künstlichen Niederschlagsmembranen zu demonstrieren. Eine Membran von gerbsaurem Leim lässt Chlornatrium, Gerbsäure und Methylenblau passiren, nicht aber Indigkarmin und Anilinblau. Die beiden letztgenannten Stoffe gehen ebenso nicht durch eine Membran aus Calciumphosphat, welche aber auch Methylenblau und Gerbsäure nicht hindurchlässt, Chlornatrium aber leicht diosmiren lässt. Von allen diesen gestattet die Plasmahaut nur dem Methylenblau den Durchtritt und durch eine Membran von Ferrocyankupfer bewegt sich Chlornatrium, nicht aber Gerbsäure und Indigkarmin. Diese Thatsachen genügen, um zu zeigen, dass die verschiedenen Häute sich nicht so gegenüber verschiedenen Körpern verhalten, wie es der Fall sein müsste, wenn die Diosmose nur von der Größe der intermicellaren Räume und der gelösten Moleküle abhinge.

Diese Versuche mit Membranen aus gerbsaurem Leim wurden in der von TRAUBE ³⁾ angegebenen Weise angestellt, indem ich etwas Zucker enthaltenden flüssigen Leim an der Spitze eines Glasstabes eintrocknen ließ und dann zur Membranbildung in 2% Gerbsäure brachte. Dem Leim war entweder etwas Chlornatrium beigemischt oder ein Körnchen des bezüglichen Farbstoffs eingebettet. Bei den Versuchen mit Methylenblau erhielt die Gerbsäure einen Zusatz von 0,07% Zitronensäure (vgl. p. 232). Die Färbung dieser Außenflüssigkeit zeigte nach 12 Stunden die freilich nur langsame Diosmose des Methylenblaus an, während im Laufe einiger Tage von Indigkarmin und Anilinblau nichts hindurchging. Die Diosmose von Chlornatrium und Gerbsäure durch Membranen von gerbsaurem Leim wurde auch schon von TRAUBE (l. c. p. 118, 130) nachgewiesen.

Die Calciumphosphatmembran wurde in der in den Osmotischen Untersuchungen (p. 12) angegebenen Weise in Pergamentpapier eingelagert, welches einseitig einen Glaszylinder von 28mm Durchmesser verschloss. Nachdem die Membran unter Benutzung von 1% Lösung von Calciumnitrat als Außenflüssigkeit und 1% Lösung von

1) Vergl. auch PFEFFER, Physiologie. I. p. 57.

2) Vergl. PFEFFER, Osmot. Unters. 1877. p. 35 ff.

3) Archiv f. Anatomie und Physiologie 1867. p. 97.

Dinatriumphosphat als Innentlüssigkeit gebildet worden war, wurde letztere durch gleich konzentrierte Lösung ersetzt, welche außerdem die auf Diosmose zu prüfenden Stoffe enthielt. In einem Falle bestand z. B. der Zusatz aus 0,05 % Methylenblau und 0,05 % Chlornatrium. Letzteres war schon nach 3 Stunden in merklicher Menge diosmirt, während von Methylenblau im Laufe von 4 Tagen nichts hindurchgegangen war. Ebenso gaben 0,1 % Lösungen von Indigkarmin und von 1 % Anilinblau ein negatives Resultat. Alle diese Farbstoffe diosmirten aber, in der bezeichneten Konzentration angewandt, durch Pergamentpapier allein schon in 10 bis 15 Minuten in merklicher Menge.

Zu den Versuchen mit Ferrocyankupfer diente die in Thonzellen eingelagerte Membran ohne Gegenwart der Membranogene. Mit Anilinfarben ist in dieser Weise, der Speicherung in der Thonmasse halber, nicht zu experimentiren. Mit Methylenblau lässt sich aber bei Gegenwart von Ferrocyankalium nicht arbeiten, da dieses mit dem Farbstoff einen Niederschlag bildet.

Aus diesen Resultaten mit verschiedenen Membranen geht schlagend hervor, dass die Diosmose nicht von der Größe der gelösten Moleküle abhängt, ohne dass eine bestimmte Vorstellung über die relative Molekulargröße nöthig wäre. Eine sichere Ermittlung dieser letzteren ist zwar zur Zeit kaum möglich, doch ist es wohl sicher, dass die gelösten Moleküle von Anilinfarben viel größer sind, als die von Kochsalz oder Salpeter, und doch diosmiren letztere nicht, wohl aber viele der ersteren durch die Hautschicht des Protoplasmas.

Für relativ große gelöste Moleküle der Anilinfarben spricht ihre langsame Hydrodiffusion. Eine Vorstellung über diese, gegenüber einem leichter diffundirenden Salze, dem Kalibichromat, mögen folgende Versuche geben, welche in der von DE VRIES¹⁾ angegebenen Weise ausgeführt wurden, indem mit Kieselgallerte gefüllte Reagensröhren in 0,1 % Lösungen der zu prüfenden Stoffe mit der Mündung eingetaucht wurden. Das durch Färbung angezeigte Vordringen durch Hydrodiffusion betrug nach 4 Tagen für Kalibichromat 50 mm²⁾, Indigkarmin 35 mm, Methylenblau 17 mm, Anilinblau 12 mm. Ein wirklich sicheres Argument über die Größe gelöster Moleküle ist aus der Hydrodiffusion freilich nicht abzuleiten. Über Gefrierpunktserniedrigung und isotonische Leistung der Anilinfarben, wodurch vielleicht die relative Molekulargröße in Lösung besser charakterisirt wird, fehlen mir Versuche³⁾.

Die Unfähigkeit verschiedener sonst leicht diosmirender Stoffe, wie Kalisalpeter, Chlornatrium, Chlorkalium, Chlorammonium, Kalsulfat, Rohrzucker, Invertzucker, durch das Protoplasma zu diosmiren, hat DE VRIES verfolgt, dessen Methode darauf basirt, dass bei Übergang des plasmolysirenden Salzes in den Zellsaft eine Wiederausdehnung des kontrahirten Protoplasmas erfolgen muss und erfolgt. Den nach dieser Methode in 1870⁴⁾ ausgeführten Versuchen schließen sich die noch größere Genauigkeit gewährenden späteren Experimente⁵⁾ an, durch welche (1885) auch festgestellt wurde, dass die isolirte Vakuolenwand zunächst mit dem Protoplasma übereinstimmt⁶⁾. Wenn auch bei dieser Methode eine sehr geringe Aufnahme sich der Beobachtung

1) Une expérience de cours sur la diffusion. — Sptzg. aus Archiv. Néerlandaises Bd. 20.

2) Zu merklicher Färbung bedarf es einer größeren Menge dieses Salzes als der genannten Farbstoffe.

3) Vergl. LOTHAR MEYER, Moderne Theorien d. Chemie. IV. Aufl. 1883. p. 317; DE VRIES, Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 14. 1884. p. 521.

4) Vgl. PFEFFER, Physiologie. I. p. 45.

5) Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 14. 1884. p. 427; u. Bd. 16. 1885. p. 540.

6) Vergl. auch PFEFFER, Osmot. Unters. 1877. p. 142.

entziehen könnte, so würde doch eine Aufnahme, die auch nur entfernt dem diosmotischen Eindringen von Methylenblau gleich käme, sehr schnell zur Geltung kommen. Die Plasmolyse aber kann nicht die Ursache des negativen Resultates sein, da zu gleichem Resultate Experimente führten, in welchen der Salpetergehalt der umgebenden Lösung nur allmählich stieg (l. c. 1885. p. 588).

Unter dem Einfluss von schädlichen Stoffen, und langsamer auch bei anhaltender Plasmolyse, wird freilich die Hautschicht mehr und mehr durchlässig¹⁾. Diese Eigenschaft brauchen wir indess hier nicht näher zu berücksichtigen, denn sie ist offenbar Folge veränderter Molekularstruktur, welche sicher auch bei künstlichen Niederschlagsmembranen aus entsprechenden Eiweißstoffen, mit dem Übergang in die koagulierte Form, zur Geltung kommen wird. Wenigstens wurde in Membranen aus gerbsaurem Albumin bei Einwirkung von sehr verdünntem Quecksilberchlorid die Diosmose von Indigkarmin in ähnlicher Weise eingeleitet, wie bei gleicher Behandlung die Diosmose von Farbstoffen durch die plasmatische Hautschicht.

Ein Eingehen auf die Theorie der Diosmose ist nicht nöthig, denn für die Thatsache der Aufnahme oder Nichtaufnahme ist es gleichgültig, ob die zu durchwandernde Haut aus Micellen oder in anderer Weise aufgebaut ist und unter welchen näheren Modalitäten ein Körper in und durch die Haut gelangt. Die zur Imbibition führende Anziehung wird, wie wohl zumeist, auch für die Anilinfarben auf Flächenattraktion hinauslaufen²⁾. Die übrigens schwache Speicherung von Methylenblau und anderen Anilinfarben in der todten Hautschicht³⁾ gestattet aus nahe liegenden Gründen keinen weitergehenden Schluss. So sei auch beiläufig nur bemerkt, dass ein Niederschlag von Calciumphosphat weder durch Indigkarmin, noch durch Methylenblau und Anilinblau gefärbt wird, während diese beiden Anilinfarben in gefälltem gerbsaurem Leim merklich gespeichert werden.

Es ist übrigens möglich, dass manche Stoffe dissoziiert und vermöge ihrer Dissoziation diosmiren, oder dass Diosmose erreicht wird, indem aus der wechselseitigen Anziehung zwischen Haut und gelöstem Körper eine gewisse Zerspaltung dieses erzielt wird, die sich nur auf Molekülverbindungen erstrecken muss, um eventuell die Bedingungen für Diosmose herzustellen⁴⁾. Auf die Möglichkeit solcher Zerspaltungen in Folge der Modifikation der Bewegungszustände in der Molekülverbindung oder im Moleküle, bei wechselseitiger Anziehung zweier verschiedener Körper, wurde noch jüngst von MENDELEJEFF⁵⁾ hingewiesen, um die vielfach räthselhaften Kontaktwirkungen zu erklären.

Eine Aufspeicherung ist natürlich nur möglich, insofern Diosmose stattfindet. Diese wird (*ceteris paribus*) einen Körper um so reichlicher in die Zelle schaffen können, je mehr mechanische Bewegung und andere Umstände dafür sorgen, dass zu beiden Seiten der Hautschicht die möglichst große Konzentrationsdifferenz unterhalten wird. Bei der nur langsamen Bewegung in der Hydrodiffusion ist eine mechanische Mischung immer von Bedeutung, und ohne solche würde insbesondere aus sehr verdünnter Lösung eine Zelle kaum in kürzerer Zeit eine so große Menge eines Stoffes in sich aufspeichern können, wie es z. B. bei Anhäufung von Farbstoffen zutrifft. Diese Anhäufungen demonstrieren übrigens aufs schönste, dass, ohne weitere besondere

1) DE VRIES, l. c. 1885. p. 579. — Auf den entsprechenden Einfluss schädlicher Stoffe machte ich aufmerksam in *Osmot. Unters.* 1877. p. 141.

2) Vergl. PFEFFER, *Osmot. Unters.* 1877. p. 38. Vergl. auch diese Arbeit p. 276.

3) PFEFFER, l. c. p. 145; DE VRIES, *Jahrb. f. wiss. Bot.* Bd. 16. 1885. p. 511. — Auch Methylenblau wird kaum gespeichert.

4) Vgl. PFEFFER, l. c. p. 164 und diese Arbeit p. 292.

5) *Berichte d. chem. Ges.* Bd. 19. 1886. p. 456.

Eigenthümlichkeiten, eine Pflanzenzelle aus sehr verdünnten Lösungen, wie sie in der Natur zumeist geboten sind, eine große Menge eines der Verarbeitung anheimfallenden Stoffes aufzunehmen vermag.

Wie für die Diosmose die Anziehung zwischen Haut und gelöstem Körper eine wesentliche Rolle spielt, kommt diese Wechselwirkung auch für die osmotische Leistungsfähigkeit eines nicht diosmirenden Körpers in Betracht. Mit Hinweis auf die Behandlung dieses Themas in meinen Osmot. Unters. (p. 49) möchte ich hier nur darauf hinweisen, dass die osmotische Leistung nicht diosmirender Körper nicht nothwendig dem Verhältnis ihrer Molekulargröße entsprechen muss. Thatsächlich trifft dieses Verhältnis nach den von DE VRIES¹⁾ für verschiedene Salze, mit Bezug auf die Hautschiebt des Protoplasmas festgestellten isotonischen Koeffizienten zu, doch könnten die immerhin merklichen Abweichungen, welche Chloride ergaben, vielleicht in dem angedeuteten Umstand begründet sein.

XXI. Stoffaufnahme in die lehensthätige Zelle.

Vermöge der Thätigkeit im Leben vermag der Organismus vermittelt der ihm zu Gebote stehenden Organe, gleichsam wie ein geschickter Arbeiter mit Hilfe seines an sich einfachen Handwerkszeuges, die wunderbarsten Leistungen zu vollbringen. Es gilt dieses für alle Funktionen, somit auch für den Stoffaustausch, in welchem über Aufnahme oder Nichtaufnahme zunächst der peripherische Theil des Protoplasmas, also die Hautschiebt, entscheidet, da schon in diese ein nicht diosmirender Körper nicht eindringt. Als ein Glied des lebendigen Ganzen und in Abhängigkeit von diesem vermag aber die auch sonst veränderliche Hautschiebt Leistungen zu vollbringen, zu denen sie im statischen Zustand, also nach Aufhebung der Lehensthätigkeit nicht befähigt ist. In diesem Sinne, als ein Pförtner, der im Dienste des lebendigen Protoplasmas und von diesem regiert arbeitet, habe ich zwar die Hautschiebt stets angesprochen²⁾, doch scheint mir eine nochmalige Betonung dieses Verhältnisses geboten, da es an Missverstehenden nicht gefehlt hat.

Die Erforschung der Eigenschaften eines leblosen Organes wird aber stets erforderlich sein, um ein Verständnis dessen zu gewinnen, was mit diesem Organe der lehensthätige Organismus vollbringt. Wie diese Leistungen erreicht werden, was dabei das Organ als solches, was andere mitwirkende Umstände bedeuten, aus welcher Kausalverkettung mit dem Ganzen der Anstoß und die mechanische Ausführung der Thätigkeit entspringt, das sind die schwierigen und oft der Lösung spottenden Fragen, welche der lehensthätige Organismus stellt. Nicht selten wird aber im Dunkel der thatsächlichen Erscheinungen während des Lebens eine klare Einsicht in die Eigenschaften eines Organes im leblosen (statischen) Zustand der Forschung als leitender Faden dienen können. In diesem Sinne fasse ich heute,

1) Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 44. 1884. p. 512.

2) Vergl. z. B. Physiologie I. p. 44.

wie früher, die Studien über Stoffaufnahme in den leblosen Protoplasma-körper, resp. in dessen Hautschicht auf. Als eine Forderung, die ohne Verleugnung der Grundsätze exakter naturwissenschaftlicher Forschung nicht von der Hand zu weisen ist, ergibt sich für die lebsthätige Zelle, dass sie nur nach den allgemein gültigen Gesetzen gelöste Stoffe auf diosmotischem Wege aufnimmt und dass demgemäß, sofern die Bedingungen für Aufnahme zutreffen, ein gelöster Stoff seinen Eingang findet, mag er dem Organismus von Nutzen oder Schaden sein. Aber der über Stoffaufnahme entscheidende Komplex von Bedingungen muss nicht derselbe im leblosen und lebsthätigen Zustand sein, und thatsächlich bringt die lebsthätige Zelle auch Aufnahme von Stoffen fertig, die ihren Weg in das leblose Protoplasma nicht finden.

Bei Betrachtung von Ausgangspunkt und Endziel kann der Stoffaustausch der lebendigen Zelle naturgemäß nur Erscheinungen wie gegenüber den aufnehmbaren und nicht aufnehmbaren Farbstoffen bieten. Aus bekannten Thatsachen ergibt sich leicht, dass von einem Körper keine nachweisliche Menge, von einem andern wenig, von einem andern viel in der Pflanze und in der lebendigen Zelle angehäuft wird und dass gespeicherte Stoffe hinwiederum nach kürzerer oder längerer Zeit, wenn eventuell auch nur in nachbarliche Zellen, auswandern können¹⁾. Dabei findet unter normalen Vegetationsbedingungen vielfach Aufnahme und Speicherung entbehrlicher Stoffe statt, und die aufnehmbaren Anilinfarben lehren am besten, dass die lebendige Zelle keine allgemeine Fähigkeit besitzt, denjenigen Körpern den Eintritt zu verwehren, welche unnöthig oder gar schädlich sind.

Die thatsächlichen Vorgänge des Stoffaustausches in der lebendigen Zelle lassen sich aber keineswegs auf die bestimmenden Faktoren zurückführen; soviel kann man indess sagen, dass besondere, aus der Lebsthätigkeit entspringende Umstände entscheidend mitwirken müssen. Denn den Bedürfnissen entsprechend werden in der lebsthätigen Zelle, und zwar oft in Menge, Nährstoffe eingeführt, für welche außerdem ein Eindringen nicht nachzuweisen ist. Dieses trifft, wie schon erwähnt (p. 302), für organische und anorganische Stoffe zu und doch speichern manche Pflanzen Salpeter in Menge²⁾ und Zuckerarten nimmt der Schimmelpilz als Nahrung reichlichst auf. Auch chlorophyllführende Zellen vermögen Glykose oder andere Zuckerarten von außen aufzunehmen, um aus diesen Stärke in den Chlorophyllkörnern zu bilden oder um Glycose im Zellsaft zu speichern. Da solche Stoffanhäufung gewöhnlich im Laufe längerer Zeit zu Stande kommt, ist allerdings die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dass der langsamen Aufnahmefähigkeit halber ein Eintritt mit der immerhin nur begrenzte Genauigkeit bietenden plasmolytischen Methode (p. 302) nicht zu konstatiren

1) Vergl. PFEFFER, Physiologie. I. p. 56.

2) Vergl. ebd. I. p. 46.

ist. Indess würde doch ein positiver Erfolg mit Hülfe dieser Methode sicher zu erwarten sein, wenn Zuckerarten unter allen Umständen in gleichem Maße, wie in den erwähnten Fällen, in die Zelle wanderten, und demgemäß ist aus dem negativen Resultat nach der plasmolytischen Methode zu entnehmen, dass erst die Lebensthätigkeit die Bedingungen für Aufnahme in die Zelle schafft.

Dauert in dem erwähnten Beispiele die Aufnahme von Zucker so lange, als die Bildung von Stärke oder Speicherung von Glykose fortschreitet, so ist, allgemein gesagt, die Aufnahme durch das Bedürfnis regulirt, und zweckentsprechend ist jedenfalls eine derartige Regelung für die lebendige Zelle. Eine solche Regulation ist wohl auch die Ursache, dass bei Kultur von *Penicillium* auf möglichst konzentrierter Zuckerlösung doch in der Zelle kein Zucker sich ansammelt und dass Schimmelpilze, mit traubensaurem Ammoniak ernährt, zunächst die eine Komponente dieser Säure, die optisch rechts drehende Weinsäure aufbrauchen¹⁾. Ein solcher elektiver Stoffwechsel, der in vielen Fällen nachweisbar sein dürfte, lässt auch darauf schließen, dass aus der Wechselwirkung des lebensthätigen Organismus mit der Umgebung Verhältnisse entspringen, welche über Aufnahme bestimmter Stoffe entscheiden. Das gilt auch für Bakterien, welche nach WORTMANN²⁾ diastatische Fermente ausscheiden, sobald sie auf Stärke als Nahrung angewiesen sind, insofern sie also nicht ein anderes gutes Nährmaterial zur Verfügung haben. Auch die Ausscheidung von Pepsin und Säure, als Folge von chemischer Reizung fleischverdauender Pflanzen, gehört in das Gebiet der auf Nahrungsgewinn abzielenden Thätigkeiten des lebendigen Organismus. Überhaupt ist ja eine aus inneren Verhältnissen und aus der Wechselwirkung mit der Außenwelt resultirende Regulation der Funktionen, also auch des Stoffwechsels, allgemein thätig und auch durchaus nothwendig, um ein zweckentsprechendes Zusammenwirken des Ganzen und seiner Glieder im Organismus zu erzielen³⁾.

Diese Erwägungen lassen keinen Zweifel, dass die Fähigkeit, einen bestimmten Stoff aufzunehmen (oder auch auszuschließen), vielfach, und hinsichtlich der Nährstoffe wohl zumeist erst vermöge der vom Leben abhängigen Thätigkeiten und Eigenschaften gewonnen wird. Sache der Zukunft aber bleibt es, die besonderen Modalitäten in jedem konkreten Falle festzustellen und im näheren zu ermitteln, von welcher inneren oder äusseren Veranlassung der Anstoß zur Aktion ausgeht und mit welchen Mitteln die Ausführung der Stoffaufnahme geschieht.

Die Einleitung der Aufnahme der im statischen Zustand von der Zelle ausgeschlossenen Stoffe kann, was die mechanische Ausführung anbelangt,

1) PASTEUR, Compt. rend. Bd. 51. 1860. p. 298.

2) Zeitschrift f. physiol. Chemie. Bd. 6. 1882. p. 316.

3) Vgl. PFEFFER, Physiologie. Bd. I. p. 310.

sowohl von einer Veränderung der dargebotenen Stoffe, als von einer Modifikation der Eigenschaften der Hautschicht abhängen¹⁾. In der Sekretion von Säuren und Enzymen ist ein von der Zelle ausgehendes Hinarbeiten auf Herstellung aufnehmbarer Produkte ausgesprochen. Doch ist die Aufnahme selbst noch nicht damit erklärt, denn Glykose und Pepton, die Produkte gewisser Enzyme, diosmieren nicht durch die leblose Zelle. Auch dürften solche Sekretionen keineswegs allgemein sein, wohl aber ist es denkbar, dass schon aus wechselseitiger Anziehung zwischen Hautschicht und gelöstem Körper in Zertrümmerung von Molekül aggregaten, in Beschleunigung des Anpralls der gelösten Theile oder in mannigfach anderen Umständen die Bedingungen für Aufnahme hervorgehen, also durch Verhältnisse, welche mit Veränderung der Eigenschaften der Hautschicht im Dienste des Lebens modifizirbar sind.

Was den Anstoß zur Thätigkeit anbelangt, so ist zu bedenken, dass die Eigenschaften der Zelle mit der Entwicklung, ebenso in Abhängigkeit von dem Ganzen veränderlich sind. Außerdem müssen aber auch wohl aus dem Anprall gelöster Stoffe Anstöße ausgehen, welche eine auf eine Aufnahme dieser Stoffe zielende Thätigkeit veranlassen, mag dabei der Zusammenhang zwischen äußerem Anstoß (Reiz) und der mechanischen Ausführung noch so verwickelt sein. Denn die erwähnte bevorzugte Aufnahme der optisch rechts drehenden Weinsäure, die Regulirung der Aufnahme des Zuckers nach den Bedürfnissen eines Schimmelpilzes oder einer chlorophyllführenden Zelle sprechen für Abhängigkeit der Aufnahmethätigkeit von dem Nährstoff. Ferner ist die erwähnte Sekretion von Enzymen und Säuren ein von Reizung durch bestimmte Körper abhängiger, auf Stoffaufnahme hinzielender Vorgang. Und wenn chemische Reize Bakterien²⁾ oder Myxomyceten³⁾ zu einer Bewegung nach der Nährstoffquelle veranlassen, so kann es nicht Wunder nehmen, wenn in dem in einer Zellstoffhülle an Ort und Stelle gebannten Protoplastkörper chemische Reize die Bedingungen für Aufnahme veranlassen, die sich entweder auf den reizenden Stoff allein beschränken oder auch auf andere Stoffe gleichzeitig ausgedehnt sein mag. Die nicht nur von Qualität, sondern auch von Quantität der Nahrung beeinflusste Reizbarkeit der Bakterien⁴⁾ kann zugleich darauf hinweisen, wie es wohl denkbar ist, dass die auf Nahrungsgewinn abzielende Thätigkeit des lebendigen Organismus in Beziehung zu Mangel und Überfluss des dargebotenen Stoffes stehen kann.

Hängt aber die Aufnahme von den durch die Thätigkeit des Organismus geschaffenen und eventuell lokalisirten Verhältnissen ab, so ist nicht nöthig, dass ein von außen in das Protoplasma gelangender Körper seinen

1) Letztere kommt für den Akt der Aufnahme allein in Betracht (p. 300).

2) PFEFFER, Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen. Bd. I. 1884—85. p. 449.

3) STAHL, Bot. Ztg. 1884. p. 155.

4) PFEFFER, l. c. p. 458.

Weg bis in den Zellsaft findet. Dieses ist selbst dann nicht Erfordernis, wenn die innere und äußere Hautschicht im statischen Zustand gleichwerthig sein sollten, und wenn der fragliche Körper im Innern des Protoplasmas in keiner Weise an seiner diosmotischen Fortbewegung gehindert ist. Ferner bringt die Aufnahme sehr großer Moleküle, wie früher (p. 300) hervorgehoben, es keineswegs mit sich, dass mit jenen gleichzeitig ein Weg für kleinere Moleküle eines andern Körpers gebahnt ist. Die irgendwie hergestellte Aufnahmefähigkeit für bestimmte Stoffe muss deshalb durchaus nicht eine allgemein größere Durchlässigkeit des lebendigen Protoplasmas herbeiführen.

Außer diosmotischer Aufnahme ist die schon (p. 297) behandelte Aufnahme (oder Ausgabe) von Partikeln sichtbarer Größe in das Protoplasma möglich. Ein solcher Austausch zwischen Zellsaft und Protoplasma, resp. umgekehrt, findet thatsächlich statt und ist insofern eine Funktion der Lebensthätigkeit, als er ohne Protoplasmaabewegung wohl der Regel nach unterbleiben würde. Unbekannt ist noch, ob ein solcher Austausch eine wesentliche Bedeutung in der Ökonomie der Pflanze hat¹⁾, und ob etwa auch Öltropfen auf diese Weise befördert werden. Letztere könnten übrigens auf diese Weise eine Zelle verlassen, denn wenn sie bis an die Zellwand gelangen und diese imbibiren, ist ihr gänzliches Auswandern möglich²⁾. Andererseits wäre es auch denkbar, dass Öltropfen oder andere ungelöste Partikel bis zum Protoplasma gelangen oder zwischen diesem und der Zellwand entstehen und dann zur Aufnahme kommen, indem sie mechanisch in das gegen die Zellwand drückende Protoplasma eingepresst werden³⁾. Ob thatsächlich solche Vorgänge eine Rolle in der Stoffaufnahme spielen, muss dahin gestellt bleiben. Übrigens wäre auf diese Weise ein Mittel gegeben, um solche Körper in das Protoplasma zu führen, die wohl durch die Zellwand diosmiren, vermöge der molekularen Wechselwirkung mit der Hautschicht allein indess nicht ihren Weg in das Protoplasma zu finden vermögen.

Die aus besonderen Umständen im lebensthätigen Organismus sich ergebenden Verhältnisse sind ebenso ins Auge zu fassen, wo es sich um Anhäufung von Stoffen in der Zelle oder um Einleitung von Exosmose gespeicherter Stoffe handelt. Als allgemeinste Bedingung der Anhäufung ist deshalb doch zu fordern, dass die Form, in welcher der gespeicherte Körper geboten ist, eine Diosmose unter den gegebenen Verhältnissen nicht gestattet, und dass demgemäß, um Auswanderung zu ermöglichen, ein die Diosmose gestattender Zustand geschaffen werden muss. Diese Postulate bleiben zu Recht bestehen, gleichviel ob Veränderungen in der Qualität der Lösung

1) Nach VAN TIEGHEM (Annal. d. scienc. naturell. VI. sér. Bd. I. 1875. p. 24) werden bei *Mucor* Krystalloide aus dem Protoplasma in den Zellsaft ausgestoßen.

2) Vergl. PFEFFER, Physiologie. I. p. 336.

3) PFEFFER, Osmot. Unters. 1877. p. 164.

oder in den Eigenschaften des Protoplasmas Anhäufung, resp. Auswandern verursachen.

Thatsächlich geht im lebensthätigen Organismus die Speicherung (oder Auswanderung) von Stoffen oft Hand in Hand mit auffälligen Metamorphosen, wie z. B. bei der Entstehung von Stärke, Öl oder Rohrzucker aus Glykose oder von Eiweißstoffen aus Asparagin. Indess würde zur Erreichung von Anhäufung eine einfache Molekularaggregation völlig genügen, und es ist nicht unmöglich, dass in gegebenen Fällen die in Lösung gebotenen Partikel (Molekülverbindungen oder Moleküle) in einem dissociirten Zustand das Protoplasma, resp. die Hautschicht durchwandern (vgl. p. 303). Und erfolgt die Aufnahme unter dem Einfluss besonderer Einwirkungen, so ist nicht nöthig, dass der im Zellsaft sich anhäufende Körper in gleicher Weise den auf Diosmose hinarbeitenden Einflüssen ausgesetzt ist, wie der von außen in das lebendige Protoplasma eindringende Körper¹⁾. Dieses erwogen, ist sogar zuzugeben, dass ein gelöster Körper, ohne irgend eine Veränderung zu erfahren, seinen Weg in den Zellsaft finden und in diesem eine Anhäufung erfahren könnte. Zur Einleitung von Exosmose des so gespeicherten Stoffes wäre dann erst wieder ein entsprechender Eingriff von Seiten des aktiv thätigen Protoplasmas nöthig.

Befindet sich der gespeicherte Körper in Lösung, so ist zumeist nicht zu entscheiden, ob der angehäuften Stoff im Zellsaft in derselben Form vorhanden ist, in welcher er von außen geboten wurde, oder ob er sogar eine Verbindung einging. So wenig wie von der nachweislichen Entstehung einer Verbindung der durch Methylenblau gefärbte Zellsaft der Wurzelhaare von *Trianea* Kunde gibt, so wenig vermag man nach dem mikrochemischen oder makrochemischen Nachweis von Glykose zu behaupten, dass diese im Zellsaft nicht in einer leicht zertrümmerbaren Verbindung vorhanden waren. Versuche zur Entscheidung dieser Frage sind bisher nicht angestellt.

Übrigens haben BRUNNERT und CHUARD²⁾ die Existenz von Glykobernsteinsäure in einigen Pflanzensäften wahrscheinlich gemacht, und es wäre wohl möglich, dass Glykoside, insbesondere aber leicht zerlegbare und deshalb bisher übersehene glykosidartige Verbindungen in der Ökonomie des Stoffaustausches eine weitgehende Rolle spielen. Denn gerade bei leichter Zersetzbarkeit der Verbindung würde der Organismus ohne tiefer greifende Metamorphose die Anhäufung und auch wieder die Auswanderung eines Körpers erzielen können. Sehr schön wird dieses durch Methylenblau demonstrirt, welches in der Zelle durch Gerbsäure oder andere Stoffe gespeichert wird, aber schon durch ganz wenig Zitronensäure wieder aus der

1) Möglicherweise ist ein solches Verhältnis die Ursache, dass speziell die Wurzel von *Azolla* aus gelöstem gerbsaurem Methylenblau etwas von diesem Farbstoff aufnimmt, während das im Zellsaft gespeicherte gerbsaure Methylenblau nicht exosmirt (vgl. p. 284).

2) Bericht d. chem. Ges. Bd. 49. 1886. p. 598.

lebendigen Zelle gelockt werden kann, indem die an sich nur minimale Zersetzung des gerbsauren Methylenblaus durch Säuren unter Mithülfe der Diosmose zur Totalität geführt wird (vgl. p. 294). Wie in diesem Falle der speichernde Stoff in der Zelle verbleibt, so mögen wohl auch Stoffe in der Zelle verharren, welche dazu bestimmt sind, irgend welche Körper (Zucker, Salpeter o. a.) zeitweise zu binden und eventuell wieder unter veränderten Verhältnissen abzugeben. Sehr wahrscheinlich muss es scheinen, dass auch die Rolle der Gerbstoffe, die theilweise leichter zersetzbare Glykoside sind, zum Theil darin besteht, Zuckerarten oder andere Stoffe in besagtem Sinne in der Zelle festzuhalten.

Bei den derzeitigen Kenntnissen konnte es sich hier nur darum handeln, die Sachlage zu klären und den Weg zu kennzeichnen, auf welchem eine tiefere Einsicht in den Vorgang der Aufnahme, Anhäufung und Ausgabe gelöster Stoffe in der lebendigen Zelle gewonnen werden muss. Dieserhalb ist es auch nicht geboten, alle bezüglichen Erfahrungen zusammenzutragen und die herbeigezogenen Beispiele näher zu diskutieren.

Einige Worte über Aufnahme von Zucker in grüne Blätter dürften hier wohl geboten sein. Nachdem BÖHM¹⁾ entdeckte, dass entstärkte Blätter aus Zucker, welchen sie aus einer von außen gebotenen Lösung aufnehmen, in den Chlorophyllkörnern Stärke bilden, wurde dieser Gegenstand neuerdings von A. MEYER²⁾ ausgedehnter verfolgt. In Übereinstimmung mit diesen Forschern finde ich, dass *Bryum caespiticium* am schnellsten in etwa 10—20 % Lösung von Traubenzucker Stärke bildet, also auch in einer Lösung, in welcher die Zellen von *Bryum* plasmolysirt sind. Durch die Plasmolyse wird demgemäß die Aufnahme von Zucker nicht aufgehoben, sie geht aber auch in verdünnten Lösungen vor sich, wie schon BÖHM fand. *Bryum caespiticium* bildete z. B. noch bei 0,25 und 0,13 % Traubenzucker, wenn auch langsamer, Stärke.

Während der Zucker zur Stärkebildung nur bis in den Protoplasmakörper gelangen muss, ist eine Wanderung bis in den Zellsaft nöthig, wenn in diesem Glykose gespeichert wird. Diese Fähigkeit besitzen aber die normal Glykose anhäufenden Zellen. Wenigstens fand SCHIMPER³⁾, dass im Dunklen zuckerfrei gemachte Blätter von *Impatiens parviflora* bei 4 $\frac{1}{2}$ stündigem Liegen auf 3% Glykoselösung soviel von diesem Stoffe speicherten, dass ein reichlicher Kupferoxydulniederschlag in den Zellen entstand. Für Keimlinge von *Allium cepa*, welche in kohlenstofffreier Luft am Licht zuckerfrei gemacht waren, kann ich solche Speicherung von Glykose bestätigen. Dabei geben die auf Glykoselösung mit Zucker bereicherten Blätter in üblicher Weise an Wasser nichts von diesem Stoffe ab.

Diese Aufnahme muss aber, wie früher bemerkt, von besonderer Lebensthätigkeit abhängen, da in anderen Fällen Zucker nicht nachweislich in Zellen eindringt, und so weit ich beobachtete, ging die Plasmolyse auch nicht zurück, während die Blätter von *Bryum* auf konzentrierter Glykoselösung reichlich Stärke bildeten. Die Beobachtungen A. MEYER'S, dass bestimmte Pflanzen aus gewissen Zuckerarten am besten Stärke zu bilden vermögen, lässt sich vielleicht noch weiter als ein Argument für spezifische Reizbarkeit ausnutzen.

Eine kritische Untersuchung, insbesondere der osmotischen Leistungen⁴⁾ (bemes-

1) Bot. Ztg. 1883. p. 33.

2) Bot. Ztg. 1886. p. 84.

3) Bot. Ztg. 1885. p. 743, 758.

4) Vergl. PFEFFER, Osmot. Unters. 1877. p. 181.

sen durch Plasmolyse) vor und nach der Speicherung der Glykose, vermag vielleicht zu entscheiden, ob der Zucker bei der Speicherung eine Verbindung eingeht. Zunächst kann man nicht behaupten, dass die Glykose nicht als solche in die Zelle eindringen könne¹⁾, und wenn bei dem Eindringen auch irgend eine vitale Funktion mitwirkt, ist doch dieserhalb der Durchgang gelöster Moleküle als Diösmose zu bezeichnen²⁾.

Vielleicht finden die nicht übereinstimmenden Resultate hinsichtlich der Exosmose von Zucker und anderen Stoffen³⁾ in der mit der Thätigkeit veränderlichen Eigenschaft des Protoplasmas ihre Erklärung. In der That darf ich nach noch nicht abgeschlossenen Untersuchungen annehmen, dass gewisse Einwirkungen Exosmose von Nährstoffen aus lebenden Zellen in das umgebende Wasser veranlassen können.

Fällt den Glykosiden und glykosidähnlichen Verbindungen, wie ich glaube, die angedeutete Rolle zu, so ist damit für diese wahrscheinlich im Pflanzenreich sehr verbreiteten Verbindungen eine bestimmte Rolle im Stoffaustausch präzisirt⁴⁾. Auch die Gerbstoffe, welche theilweise, oder vielleicht auch alle, mehr oder weniger leicht zersetzbare Glykoside sind, würden in dem bezeichneten Sinne funktionieren, und dass sie in der That durch Bindung von Stoffen zu deren Speicherung führen können, lehren Methylenblau und andere Anilinfarben in schönster Weise. Einer solchen Funktion wäre das häufige Vorkommen in assimilirenden Geweben und in den Wanderungsbahnen der assimilirten Stoffe ganz entsprechend⁵⁾, und es bedarf dieserhalb nicht der Annahme WESTERMAIER'S⁶⁾, dass die Gerbstoffe direkte Produkte der Thätigkeit des Chlorophyllapparates sind. Im hohen Grade beachtenswerth ist auch das Zusammenvorkommen der Gerbstoffe mit Eiweißstoffen (vergl. p. 239), doch möchte ich dieserhalb noch nicht dem Gerbstoff eine hervorragende Bedeutung für Produktion der Proteinstoffe⁷⁾ beimessen, wie WESTERMAIER (l. c. p. 4124) will.

Die nachgewiesene Speicherung von Anilinfarben durch Gerbstoffe lehrt, dass aus dem häufigen Zusammenvorkommen von Gerbstoff und Farbstoff, resp. aus dem Erscheinen dieses in gerbstoffhaltigen Zellen nicht so ohne weiteres auf eine Entstehung des Farbstoffes aus der Gerbsäure geschlossen werden darf⁸⁾. Dass solcher genetischer Zusammenhang vorkommt, ist mir übrigens selbst wahrscheinlich⁹⁾.

1) Vergl. dazu SCHIMPER, l. c. p. 743.

2) Vergl. dazu DE VRIES, Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 16. 1885. p. 540 Anmkg.

3) Vergl. BOUSSINGAULT, Annal. d. chim. et d. phys. IV. sér. Bd. 22. 1884. p. 433; VAN TIEGHEM et BONNIER, Bull. d. l. soc. bot. de France. Bd. 27. 1880. p. 416; PERREY, Annal. d. sc. naturell. VI. sér. Bd. 47. 1884. p. 60 und die in meiner Physiol. Bd. I. p. 46 zitierte Literatur.

4) ROCHLEDER (Phytochemie. 1854. p. 328), welcher allgemeinste Verbreitung der Glykoside wahrscheinlich zu machen suchte, nahm an, dass die Kohlehydrate in der Pflanze sehr gewöhnlich durch Spaltung von Glykosiden entstehen.

5) Vergl. G. KRAUS, Die Rolle der Gerbstoffe, aus Sitzgsb. d. naturf. Ges. in Halle. 3. Nov. 1884. p. 4 d. Spzg.

6) Sitzungsab. d. Berlin. Akademie. Bd. 49. 1885. p. 4145.

7) Bei der Synthese der Proteinstoffe könnte vielleicht, worauf ich schon früher (Physiol. I. p. 246) hinwies, der aromatische Kern der Eiweißstoffe der Gerbsäure entnommen werden.

8) Vergl. PICK, Bot. Centralblatt. Bd. 16. 1883. p. 284 u. die dort zitierte Literatur.

9) Vor einigen Jahren beobachtete ich eine Weidenwurzel, in welcher die Mehrzahl der Gerbsäureblasen in den übrigens lebenden Zellen in rolhe, endlich erstarrte Massen mehr oder weniger weit übergegangen waren, und zwar unter Umständen, die unbedingt auf eine Entstehung des Farbstoffes in den Gerbsäureblasen hinwiesen.

Da ich nicht die Absicht habe, hier die Rolle des Gerbstoffs zu besprechen, begnüge ich mich mit diesen Andeutungen. Bemerken will ich indess, dass ich die Thätigkeit als Speichermittel keineswegs als einzige Funktion des Gerbstoffs ansehe. Vielmehr halte ich dafür, dass der Gerbstoff zum Theil auch als plastisches Material dient und außerdem mit dem Tode der Zelle durch Verbindung mit dem Reste der Eiweißstoffe (also auch der plasmatischen) der Fäulnis dieser in den todten Elementen vorbeugt. Die Fällung und Fixirung des Gerbstoffs durch Anilinfarben gibt übrigens ein Mittel an die Hand, das gewiss mit Vortheil für das Studium der Rolle des Gerbstoffes benutzt werden kann. Aus den Erfahrungen mit diesen Färbungen ist auch zu entnehmen, dass der Gerbstoff in der lebenden Zelle immer vom Protoplasma separirt ist, sei es dass er im ganzen Zellsaft gelöst oder in Gerbsäurebläschen untergebracht ist.

XXII. Blicke auf die Stoffwanderung.

Die Fundamente für das Verständnis der Stoffwanderung in der Pflanze basiren jedenfalls auf Aufnahme, Ausgabe und Speicherung von Stoffen in Zellen, durch die allerdings erst im Verein mit den in jeder Pflanze gebotenen besonderen Verhältnissen die Mannigfaltigkeit der Erscheinungen im Stofftransport erzielt wird. Denn läuft es auch bei der Stoffwanderung in lebendigen Zellen irgendwie auf eine Aufnahme, eine Ausgabe oder eine Speicherung hinaus, so dreht es sich doch um Verhältnisse, in welchen, der Arbeitstheilung in höheren Pflanzen entsprechend, eine Einengung auf bestimmte Bahnen erreicht wird, und in denen neben der Qualität der einzelnen Zelle ihre Abhängigkeit von dem Ganzen entscheidend mitwirkt. Die im allgemeinen in Betracht kommenden Verhältnisse sind an anderer Stelle¹⁾ entwickelt, und durch die inzwischen gewonnenen Erfahrungen wird, wenigstens im Wesen der Sache, nichts geändert.

Die aufnehmbaren Anilinfarben geben auch Mittel an die Hand, um manche Vorgänge der Stoffwanderung näher aufzuhellen. Nach dieser Seite hin habe ich die Farbstoffe noch nicht ausgebeutet, immerhin aber sind die Erfahrungen, welche in den zu anderen Zwecken angestellten Beobachtungen gewonnen wurden, geeignet, um manche Vorgänge der Stoffwanderung zu demonstrieren. Dieserhalb dürfte es hier geboten sein, im Anschluss an die zitierte frühere Behandlung dieses Themas, einige Blicke auf die Stoffwanderung zu werfen.

Die ausschließliche Anhäufung des Farbstoffs in den speicherungs-fähigen Zellen lehrt, wie eine Lokalisirung der in die Pflanze gelangenden Körper und somit auch eine Einigung auf bestimmte Zellenzüge (Wanderungsbahnen) zu Stande kommt, wie ferner in diesen sich der ganze Farbstoff ansammeln kann. Dabei ist, sofern die dargebotenen Lösungen genügend verdünnt sind, in den nicht speichernden Zellen zu keiner Zeit eine erkennbare Menge von Farbstoff vorhanden. Freilich dringt der spei-

1) PFEFFER, Physiologie. I. 4884. p. 331 u. 356; Landwirth. Jahrbücher. Bd. 5. 4876. p. 447.

cherungsfähige Farbstoff voraussichtlich in alle Zellen ein, doch können nicht aufnehmbare Farbstoffe durch die endliche Färbung von Zellwandungen anzeigen, wie, ohne Eindringen in den Protoplasmakörper, ein gelöster Stoff sich innerhalb der Zellwandungen verbreitet. Ferner ist zu ersehen, wie, ohne im Protoplasma merklich zu werden, Methylenblau im Zellsaft angehäuft wird, während, bei mangelnder Speicherung in diesem, z. B. Cyanin und Bismarckbraun nur das Protoplasma in den Wurzelhaaren von *Trianea* färben.

Die durch Säuren einleitbare Exosmose des gespeicherten Methylenblaus versinnlicht, wie in Geweben durch direkte, aber auch durch indirekte Wirkung der Zellen aufeinander die Exosmose eines angehäuften Stoffes veranlasst werden kann, und das Verhalten von *Spirogyra* und *Zygnema* zeigt, wie die eigene Thätigkeit einer Zelle Austritt des Farbstoffs zu verursachen vermag. In diesen Beispielen tritt uns die für die Stoffwanderung höchst bedeutungsvolle Thatsache entgegen, dass mit Hülfe der Exosmose bei minimaler Zersetzung eine gänzliche Auswanderung eines Stoffes erreichbar ist. Und da hierbei in jedem Augenblicke eine äußerst geringe Menge des Stoffes aus der Zelle tritt, wird diese geringe Stoffmenge von benachbarten speicherungsfähigen Zellen derart beschlagnahmt werden können, dass während der ganzen Auswanderung keine nennenswerthe Menge des fraglichen Stoffes in das umgebende Wasser gelangt. Übrigens ist denkbar, dass in der Wechselwirkung die Bedingungen für einen Uebergang von einer Zelle zur andern nur an der Kontaktfläche dieser Zellen geschaffen werden, und auf diese Weise während der Wanderung eine anderweitige Verbreitung des Stoffes ganz vermieden wird. Auch liefern z. B. die Wurzel von *Cucurbita*, die Wurzelhaare von *Trianea* Beispiele, dass mit der Entwicklung die speichernden Körper schwinden, und demgemäß die Fähigkeit der Zelle Farbstoff aufzuhäufen verloren geht. Ferner ist aus den Erfahrungen mit Farbstoffen zu ersehen, in wie hohem Grade eine schlechte Permeabilität der Zellwände eine Aufnahme eines Körpers von außen und ebenso natürlich bei Uebergang von Zelle zu Zelle erschweren kann. (Vergl. p. 204, 224 u. s. w.)

Wird der Farbstoff in den Zellen, mit welchen er zunächst in Berührung kommt, festgehalten, so wird er nur allmählich in die Nachbarzellen vorrücken können. Dem entsprechend wurde u. a. ein nur langsames Fortrücken von Methylenblau im Blattstiel und Blatt von *Trianea* (p. 212) und in dem Zweige einer Weide (p. 225) beobachtet. Eine Hemmung aus diesem Grunde fällt weg, sobald die Zellen mit Farbstoff gesättigt sind. Würden nun an dem einen Ende einer solchen gesättigten Zellkette Bedingungen geschaffen, welche fortwährend etwas Farbstoff entführen, während zugleich durch Rückwirkungen in den übrigen Zellen eine minimale Exosmose eingeleitet wird, so ist eine Wanderung des Farbstoffs nach dem Verbrauchsorte hin eingeleitet, welche nach diesem schließlich die Gesamt-

heit des fraglichen Körpers schaffen kann. Derartigen Wanderungsbahnen begegnen wir aber allgemein in der thätigen Pflanze, z. B. da, wo ein Reservestoff zum Verbrauchsorte geschafft wird.

Die Möglichkeit des Eindringens ist natürlich die Grundbedingung für eine Aufnahme in die Zelle, die Schnelligkeit der Aufnahme hängt aber in hohem Grade, insbesondere bei verdünnten Lösungen, von der mechanischen Mischung innerhalb und außerhalb der Zelle ab, da selbst kristalloide Körper durch Hydrodiffusion allein sich nur langsam ausbreiten (p. 302). Solches gilt in gleicher Weise bei Wanderung von Zelle zu Zelle. In der lebensthätigen Pflanze wird aber wohl immer eine schnellere Mischung in den Zellen erzielt. Denn darauf hin arbeiten Bewegungen, welche z. B. erzeugt werden durch mechanische Beugungen, durch Gewebespannung, Wachstum, Wasserbewegung, Temperaturdifferenzen und alle gestaltlichen Änderungen im Protoplasma¹⁾. Die Strömungsbewegung in diesem ist natürlich auch sehr geeignet, um einen Stoff sogleich vom Orte des Eintritts weiter zu führen, und die durch Chloroformiren verlangsamte Aufnahme von Methylenblau in die Wurzelhaare von *Trianea* rührt offenbar von der Sistierung der Protoplasmaströmung her (p. 286).

Da bei genügender Bewegung in einer Zelle die Mischung in dieser sehr schnell erfolgt, eine Durchwanderung einer Wandung aber immerhin einen Aufenthalt fordert (wenn sie auch nach den Beobachtungen mit Farbstoffen schnell möglich ist), so ist für die schnelle Fortschaffung wandernder Stoffe eine Längsstreckung der leitenden Elementarorgane von mehr oder weniger hervorragender Bedeutung.

Die allgemeinen Grundzüge bleiben unverrückt, falls die in jüngerer Zeit²⁾ nachgewiesene Verbindung der Protoplasten eine wesentliche Rolle in der Stoffwanderung spielt; übrigens sind mit Rücksicht auf diese schon früher die gröberen Verbindungen in den Siebröhren in Betracht gezogen. In jedem Falle ist für jeden von außen kommenden Körper mindestens ein einmaliger Eintritt durch die Zellwand nöthig, um zum Protoplasma zu gelangen, und aus dem Zellsaft zum Protoplasma muss ein gelöster Körper immer diosmotisch wandern. Die Benutzung der plasmatischen Verbindungs-fäden würde ermöglichen, dass gelöste Körper ohne Diosmose, und dass auch ungelöste Partikel von Zelle zu Zelle gelangen können.

Die wesentliche Bedeutung dieser Protoplasmaverbindungen dürfte in

1) Die Bedeutung der Mischung durch mechanische Bewegung wurde von mir an verschiedenen Orten hervorgehoben (Physiologie. I. p. 59, 332, 336; Landw. Jahrbücher. Bd. 5. 1876. p. 424). Als ein Hilfsmittel für dieses Prinzip kommt auch die Protoplasmaströmung in Betracht, welche allein DE VRIES (Bot. Ztg. 1885. p. 4) näher in Betracht zog, dessen Verdienst es ist, eine allgemeinere Verbreitung der Strömung in der Pflanze nachgewiesen zu haben.

2) Die bezügliche Literatur bis 1884 ist zusammengefasst in einem Referate von KLEBS in Bot. Ztg. 1884. p. 443.

erster Linie darauf berechnet sein, die Protoplasten einer Pflanze zu einem einheitlichen Ganzen zu machen und in dieser Kontinuität die Möglichkeit zu einem einheitlichen Zusammenwirken zu gewinnen, indem durch diese Verbindungsfäden, wie durch Nerven, entsprechende Reize überall hin übermittelt werden, und ferner um mit lebendiger Protoplasmanasse spezifische erbliche Qualitäten von Zelle zu Zelle übertragen zu können¹⁾. Welche Bedeutung diesen Verbindungsfäden für den Transport plastischer Stoffe zukommt, kann nur empirische Untersuchung entscheiden²⁾. Jedenfalls dürfen wir diese Fäden etwa ihres geringen Durchmessers halber nicht unterschätzen, denn dieser ist keineswegs verschwindend gegenüber den Dimensionen kleiner Zellen. Auf der andern Seite diosmieren aber gelöste Stoffe durch leichter permeable Zellwände schnell genug, um eine genügend ausgiebige Wanderung auf diesem Wege erzielen zu können; ja selbst kolloidale Körper, wie die Eiweißstoffe, vermögen in kürzerer Zeit in relativ ansehnlicher Menge in eine mit permeabler Wand umkleidete Zelle zu gelangen, da, bei der geringen Größe der Zelle, die Oberfläche der Zellhaut verhältnismäßig ansehnlich ist. Selbst Oeltropfen steht augenscheinlich der Weg durch die Zellwand offen (p. 308), und ist diese passiert, so macht die Aufnahme in das Protoplasma wohl bei keinem Stoffe besondere Schwierigkeiten, da nöthigenfalls der zwischen Zellhaut und Protoplasma eingeklemmte Körper vermöge dieser mechanischen Pressung seinen Weg in den Protoplasmakörper finden kann.

XXIII. Bedeutung der Hautschicht und Verbreitung der diosmirenden Stoffe im Inneren des Protoplasmaorganismus.

Ein näheres Eingehen auf Arbeitstheilung und näheren Aufbau war bisher nicht nöthig, da unsere auf Diosmose bezüglichen Schlussfolgerungen ebenso ausfallen würden, wenn der ganze Protoplasmakörper an allen Stellen gleiche diosmotische Eigenschaften besäße³⁾. Auch dann hinge es schon von der peripherischen Plasmasehicht ab, ob ein Körper seinen Weg

1) Vergl. auch Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen. Bd. 4. 1884—85. p. 528.

2) Wie bei den koloniebildenden Protozoen sind auch bei *Volvox globator* die einzelnen Individuen durch plasmatische Verbindungsfäden zu einem Ganzen verknüpft. An diesen Organismen dürfte wohl zunächst die Funktion dieser Fäden der Erforschung zugänglich sein. Bei lebensfähigem *Volvox* sah ich in einer einzelnen Beobachtung kein Fortrücken von Körnchen in den Verbindungsfäden.

3) Eine solche homogene Beschaffenheit ist freilich nicht vorhanden, vielmehr ist der Protoplasmakörper ein gegliederter Organismus. Außer den lange bekannten Organen, wie Zellkern und Chromoplasten, ist auch die Hautschicht ein Organ, und allgemein scheint ein Fibrillengerüst im Protoplasma zu bestehen, dessen Zwischenräume mit anderer Masse ausgefüllt sind. Auch ein Theil der als Mikrosomen benannten Körperchen und die früher beschriebenen Grana sind, falls sie zum eigentlichen Protoplasmaleib gehören, zweifellos mit besonderen Funktionen betraute Organe. Außerdem mögen wohl noch Molekülkomplexe zu einheitlichen Gruppen zu-

in den Protoplasmakörper findet oder nicht, und die osmotischen Leistungen eines nicht eindringenden Körpers werden in jedem Falle von der Außenschicht des Protoplasmas abhängen, da die Ursache der osmotischen Leistungen durch Molekularkräfte bedingt ist, welche nur auf minimale Entfernungen wirken¹⁾.

Fällt schon nach diesen Erwägungen der Grenzsicht des Protoplasmas eine besondere Bedeutung zu, so kommen ihr ferner, nach weiteren Erfahrungen, andere Strukturverhältnisse und Eigenschaften zu, als dem umschlossenen Protoplasma. Speziell mit Rücksicht auf diosmotisches Verhalten spreche ich die Hautschicht (Plasmahaut, Plasmamembran, Hyaloplasmahäutchen) als ein Organ des Protoplasmas an, welches den lebenthätigen Organismus, aber auch leblose Plasmamassen (z. B. isolirte Vakuolen) gegen ein anderes Medium, also auch gegen den Zellsaft und gegen die Zellwand, abgrenzt, und das vermöge seiner Situation auch den Stoffaustausch mit der Außenwelt zu vermitteln hat. Gelangt ein gelöster Körper durch die Hautschicht, so ist im strömenden Protoplasma seine allseitige Vertheilung, wie das Durcheinanderwerfen fester Partikel zeigt, jedenfalls gesichert. Ferner ist bekannt, dass einem durch die Hautschicht

sammenschließen, die, zeitweise oder dauernd mit verschiedenen Thätigkeiten betraut, gegenüber dem Ganzen sich wie Organe verhalten. Es hat nichts Widersinniges, an solche mikroskopisch nicht wahrnehmbare Organelemente zu denken, welche im Verhältnis zur geringen Größe des Ganzen, die wohl beachtet sein will, noch nicht verschwindende Dimensionen zu haben brauchen. Den Zusammenhalt der in ihrer Lage veränderlichen größeren und kleineren Organe im Protoplasten kann man wohl am besten sich an unserem Planetensystem versinnlichen, dessen kleinere und größere Planeten ihre Lage in gesetzmäßiger Weise ändern, und das nach außen, im Weltenraum, wieder als einheitliches Ganze dasteht. Im lebenthätigen Protoplasma bringt ewige Veränderung der Bedingungen freilich stetigen Wechsel der Bewegungen mit sich. Mit Rücksicht auf die Zusammenfügung aus differenten Organen (die deshalb nicht stabil zu sein brauchen), auch schon mit Rücksicht auf die wahrnehmbaren Organe, kann das Protoplasma kein einzelnes Riesenmolekül sein, ist vielmehr ein Mikrokosmos. Die allgemeine räumliche Verschiebung der Organe und überhaupt aller Theile im Protoplasma, die (abgesehen von der öfters, doch nicht immer stabileren Lage der Hautschicht) Thatsache ist, lässt aber auch keine scharfe Arbeitstheilung in der Weise zu, dass die aufeinander folgenden Schichten distinkte Funktionen ausüben, wie es in extremer Weise BRASS mit Annahme seines Ernährungsplasmas, Athmungsplasmas ausgesprochen hat. — Gemäß der hier angedeuteten Auffassung des Aufbaus des Protoplasmaorganismus sind Micellen und Moleküle nur die Werksteine zum Aufbau der Glieder des Ganzen. Ferner lege ich den Hauptwerth nicht so sehr auf die ja freilich hoch bedeutungsvolle stoffliche Qualität der Werksteine, als auf deren gesetzmäßige Zusammenfügung. Und wie unter Verwendung verschiedener oder auch nur quantitativ verschiedener Metallmasse eine gleich gut funktionierende Uhr konstruirt werden kann, bin ich der Meinung, dass auch im Protoplasma ein gewisser Spielraum hinsichtlich der Qualität der Bausteine des Körpers des Elementarorganismus zulässig ist.

1) Über dieses und das Folgende ist zu vergl. PFEFFER, Osmot. Unters. 1877. p. 121 ff. u. Physiologie. I. p. 43 ff. u. 50 ff.

passirenden Körper (sofern er nicht fixirt wird) das Protoplasma eine weitere Verbreitung gestattet. Ein besserer Aufschluss über die Diffusionsverhältnisse im Protoplasma würde freilich gewonnen, wenn es gelänge, einen durch die Hautschicht nicht diosmirenden Farbstoff in das Protoplasma einzuführen, und dessen Verbreitung in dem ruhenden Protoplasma zu verfolgen ¹⁾.

Als verschieden von dem übrigen Protoplasma wird die Hautschicht dadurch gekennzeichnet, dass bei längerer Plasmolyse und schneller unter dem Einfluss verdünnter Säuren das umschlossene Plasma abstirbt, während die Hautschicht, die ihre plastischen Eigenschaften mehr oder weniger einbüßen kann, zunächst ihre Kontinuität und ihre wesentlichen diosmotischen Eigenschaften bewahrt. Bei Bildung eines Risses in der Hautschicht zeigt sich aber, dass der bis dahin fern gehaltene Farbstoff, mag er in dem Zellsaft oder in der Außenflüssigkeit vorhanden sein, sich sogleich in dem abgestorbenen Innenplasma verbreitet (Osmot. Unters. p. 134). Zu allen Zeiten findet aber Methylenblau seinen Weg durch die Plasmahaut, und die erst mit der Schädigung und Tödtung eintretende Färbung des Innenplasmas (p. 276) lässt ebenfalls erkennen, dass nach solchem Absterben die äußere und innere Hautschicht zunächst ihre diosmotischen Eigenschaften gegen andere Körper und in der ersten Zeit auch ihre durch plasmolytische Kontraktion gekennzeichneten plastischen Eigenschaften bewahrt.

In diesen Erscheinungen findet also der Schluss, dass allein schon die Hautschicht über Aufnahme oder Nichtaufnahme entscheidet, seine weitere Bestätigung, und zugleich wird durch die ungleiche Resistenz erwiesen, dass die Hautschicht (innere und äußere) qualitativ verschieden von dem übrigen Protoplasma ist. In Übereinstimmung hiermit steht der in jüngerer Zeit von de VRIES ²⁾ gelieferte Nachweis, dass sich bei schneller Plasmolyse, unter Tödtung des übrigen Plasmas, die innere Hautschicht (Vacuo-

1) Über die Schlussfolgerungen, welche sich aus dem osmotischen System in den Zellen ergeben, vergl. PFEFFER, Physiologie. I. p. 51.

2) Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 16. 1885. p. 465. Die Isolirung der Vakuolenwand ist wohl von früheren Beobachtern beiläufig gesehen (vergl. DE VRIES l. c. p. 473; SCHMITZ, Unters. üb. Struktur d. Protoplasmas, Sptzg. a. d. Sitzungsb. d. niederrhein. Gesellschaft. 13. Juli 1880. p. 9), jedoch erst von DE VRIES aufgeheilt und nutzbringend gemacht worden. Die von mir vertretene Anschauung über die Bedeutung der Hautschicht, welche DE VRIES verschweigt (vergl. Referat in Bot. Ztg. 1886. p. 114), findet in diesen Versuchen eine weitere Bestätigung. Übrigens ist das Argument nicht besser, als die von mir benutzten Beweise, und insbesondere lehrten isolirte Vakuolen im Prinzip dasselbe, wie die isolirte Vakuolenwand. Ein Verdienst von DE VRIES ist es aber, die diosmotischen Eigenschaften der isolirten Vakuolenwand im Vergleich zum Protoplasma ausgedehnter verfolgt zu haben, als ich es that und für meine Zwecke zu thun nöthig hatte. — Auf die Veränderungen der Eigenschaften der Hautschicht mit der Zeit brauche ich hier nicht einzugehen. Ebenso kann ich dahin gestellt lassen, ob die in ihren hauptsächlichsten Eigenschaften übereinstimmende innere und äußere Hautschicht eine etwas ungleiche Resistenz besitzen (vergl. DE VRIES l. c. p. 512, 538).

lenwand) separiren lässt und, neben dem früheren diosmotischen Verhalten, zunächst auch noch ihre plastischen Eigenschaften bewahrt. In so weit es sich hier um abgetrennte, an sich nicht existenzfähige Theile des Protoplasmas handelt, führt zu gleichem Resultat die Erfahrung an den aus abgetrennten Plasmatheilen gebildeten Vacuolen, deren plasmatische Umhüllung, bei genügender Vergrößerung der Vakuole, schließlich nur aus Hautschicht besteht (Osmot. Unters. p. 427).

Ist am Protoplasma eine distinkte Hautschicht (innen und außen) zwar oft, aber nicht immer sicher zu erkennen¹⁾, so folgt, dass die nach obigen Argumenten thatsächlich vorhandenen Differenzen nicht immer im optischen Verhalten Ausdruck finden. Überraschen kann das nicht, denn bei zu geringer Dicke der Hautschicht (und theoretisch kann diese aus einer Molekularschicht bestehen) muss sich diese nach optischen Gesetzen der Wahrnehmung entziehen, und eine Abgrenzung, die bei genügend mächtiger Hyaloplasmaschicht bemerkbar wird, muss verschwinden, wenn in die Hautschicht Mikrosomen oder andere Körnchen einwandern²⁾, was, ohne Schädigung der diosmotischen Eigenschaften, so gut möglich ist, wie Aufnahme und Ausgabe sichtbarer anderer geformter Körper. Auch ist es eine einseitige Überschätzung der mikroskopischen Leistungsfähigkeit, aus dem direkt Sichtbaren Schlüsse auf die für die Diosmose in Betracht kommenden Strukturverhältnisse machen zu wollen.

Die Erfahrungen über die sichtbare Struktur im Protoplasma sind nicht derartig, dass man auf diese sichere Schlüsse in unseren Fragen bauen könnte, doch sprechen die derzeitigen Kenntnisse sowohl für die Existenz einer Hautschicht als für eine Verbreitung durch Diffusion innerhalb des Protoplasmas. Das Protoplasma scheint nämlich aus einem Gerüstwerk aufgebaut zu sein, dessen kommunizirende Maschen vielleicht flüssigen oder zähflüssigen Inhalt besitzen³⁾. Trifft dieses wirklich zu, so muss schon durch Diffusion sich jeder gelöste Körper in solchen Räumen sichtbarer Größe verbreiten. Diese Interfilarräume aber müssen nothwendig nach außen mit einer Hautschicht abgeschlossen sein, da sonst unver-

1) Vergl. z. B. PFEFFER, Osmot. Untersuchungen, p. 424; STRASBURGER, Studien über Protoplasma. 1876. p. 63; SCHMITZ l. c. p. 8.

2) Ich möchte auch nicht behaupten, dass die isolirbare Hautschicht schon in dieser Mächtigkeit als Hyaloplasma am lebenden Protoplasma vorhanden war. Denn thatsächlich ist die Mächtigkeit des Hyaloplasmas veränderlich, und bei Plasmolyse, auch bei längerer Einwirkung von Methylviolett, habe ich z. B. in den Haaren von *Momordica* eine Zunahme körnchenfreien Plasmas unter entsprechender Zusammenwanderung der Mikrosomen gesehen. — Auch lasse ich dahin gestellt, ob die Hautschicht ihrer ganzen Mächtigkeit nach diosmotisch gleichwerthig ist (vgl. Osmot. Unters. p. 423).

3) Vergl. z. B. SCHMITZ, Unters. über Struktur d. Protoplasmas, Sepzg. aus Sitzgb. d. niederrhein. Ges. 1880. p. 8; FLEMMING, Zellsubstanz, Kern- u. Zelltheilung. 1882. p. 58 u. die p. 46 citirte Literatur.

meidlich alle gelösten Körper in sie hinein diosmiren müssten. Dieser Schluss ist nur deshalb nicht zwingend, weil der Aggregatzustand der Interfilarmasse nicht genügend bekannt ist. Selbst wenn diese etwa die Eigenschaften von Gelatine haben sollte, wäre obige Schlussfolgerung gesichert, da in Gelatine gelöste Stoffe schnell diffundiren ¹⁾).

Ob innerhalb des Protoplasmas Zellkern und Chlorophyllkörner mit einer Hautschicht von besonderen diosmotischen Eigenschaften umkleidet sind, lässt sich nicht ganz sicher sagen ²⁾. Aus dem Verhalten der separirten Organe in Wasser ist kein sicherer Schluss auf die im Protoplasma vorhandenen Eigenschaften in unserem Falle zu machen. Das Nichtspeichern der eindringenden Anilinfarben während des Lebens beweist aber, wie früher (p. 276) auseinandergesetzt ist, nicht, dass die Anilinfarben während des Lebens nicht in die genannten Organe dringen. Eine optisch wahrnehmbare Kernmembran scheint übrigens, wenigstens so lange der Zellkern nicht theilungsthätig ist, allgemein vorhanden zu sein ³⁾.

Auch ohne Rücksichtnahme auf die genetische Beziehung zum Protoplasma haben wir die Hautschicht als ein Organ desselben anzusehen, das zur Umhüllung des Protoplasten, nach außen und innen, und damit zur Regulation der Aufnahme und Ausgabe von Stoffen benutzt wird. In dieser Thätigkeit steht es zu dem lebensthätigen Ganzen als ein selbst lebendiger Theil in dem gekennzeichneten abhängigen und dienstlichen Verhältnis, bewahrt aber ohne Lebensthätigkeit, so auch nach dem Isoliren, seine allgemeinsten physikalischen Eigenschaften.

Da sich die Hautschicht aus den verschiedensten, auch aus den bisher inneren Theilen des Protoplasmas zu bilden vermag ⁴⁾, ist sie nicht ein derart selbständiges Organ wie Zellkern und Chromatophoren. Die Hautschicht steht vielmehr zum ganzen Protoplasten etwa in einer Beziehung wie im Verhältnis zum ganzen Staate ein einzelner Bürger, der die ihm vermöge einer bestimmten Stellung überwiesenen Funktionen werktthätig vollbringt und auf diese seine Thätigkeit sich, so lange er im Amte ist, einschränkt, obgleich auch in ihm potentielle Fähigkeiten schlummern, auf anderen Posten andere Funktionen im Dienste der Gemeinschaft zu übernehmen. Eine solche anderweitige Inanspruchnahme tritt mit der Rückkehr von der Grenze ins Innere ein, doch ist solche Rückkehr für die Partikel der Hautschicht nicht unbedingt nothwendig, und es ist auch denkbar, dass, wie bei den Infusorien, die Hautschicht in weiterer Fortbildung der Arbeitstheilung sich schärfer differenzirte ⁵⁾.

1) Vergl. GRAHAM, Annal d. Chemie u. Pharmacie. Bd. 121. 1862. p. 30.

2) Vergl. PFEFFER, Osmot. Unters. 1877. p. 147.

3) Vergl. z. B. FLEMMING, l. c. p. 165; STRASBURGER, Die Kontroversen d. indirekten Kerntheilung, 1884. p. 42.

4) Vergl. PFEFFER, Osmot. Unters. 1877. p. 128.

5) Die Frage, ob die Hautschicht selbst zur Zellhaut wird, kann ich hier unberührt lassen.

Ist aber die Hautschicht in diesem Sinne ein von dem Innern im Aufbau verschiedener Grenzwall, so muss sie überall an freier Grenzfläche des Protoplasmas entstehen können. Denn aus dem Körnerplasma isolirte Protoplasmaaballen, wie auch Vakuolen, welche im Innern des Protoplasmas entstehen, zeigen hinsichtlich Diösmose und Resistenz, auch in optischer Hinsicht, die Eigenschaften, welche zur Annahme der Hautschicht drängen. Bei solcher Bildungsfähigkeit ist dann natürlich das Protoplasma stetig gegen ein anderes Medium durch eine Hautschicht begrenzt, die auch in einem an Volumen zunehmenden Protoplasmakörper sich in entsprechender Weise fort- und umbildet. Diese Flächenzunahme, wie die Erscheinungen der Flächenverminderung bei Volumabnahme des Protoplasmas lehren, dass die konstituierenden Theile der Hautschicht, wie die des Protoplasmas überhaupt, einer weitgehenden gegenseitigen Verschiebung fähig sind, so wie die oben entwickelten Vorstellungen es auch fordern ¹⁾.

Entsteht die Hautschicht an jeder Grenzfläche — auch ohne Lebens-thätigkeit geht die Bildung vor sich — so muss in der Molekularwirkung an der freien Oberfläche oder in der Wechselwirkung mit dem äußeren Medium der Anstoß zur Entstehung der Hautschicht geboten sein. Hinsichtlich dieser Kausalität ist die Sachlage heute wesentlich dieselbe wie vor Jahren, als ich dieses Thema besprach und unter Hinweis auf verschiedene Möglichkeiten auch die ins Auge fasste, dass gewisse Analogie mit Bildung einer Niederschlagsmembran bestehen könnte ²⁾. Es war diese Diskussion von der Absicht geleitet, zu zeigen, wie vielleicht eine Einsicht in diese Fragen zu gewinnen ist, und dieses, wie die vollständige Unsicherheit des Bodens, von welchem die Diskussion ausging, ist damals mit aller Schärfe hervorgehoben. Ich hielt und halte den Gegenstand also durchaus nicht für erledigt, und es ist wohl möglich, dass zur Formation der Hautschicht nur an sich feste Partikel sich zusammenschließen, aber es ist auch möglich, dass in dem festweichen Protoplasma, wie im Sinne PFAUNDLER's im festweichen Aggregatzustand überhaupt, die konstituierenden Theilchen abwechselnd in den festen und flüssigen Aggregatzustand übergehen und etwa mit dem Eintritt in die Hautschicht eine größere Stabilität gewinnen ³⁾. Vielleicht geht auch in diesem oder anderem Sinne die Hautschicht

1) Vergl. Osmot. Unters. 1877. p. 429 u. 443. — DE VRIES (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 16. 1885. p. 529, 538) lässt die sichtbare Kontraktion des ganzen Protoplasmas und der isolirten Vakuolen vorwiegend oder ausschließlich eine elastische Zusammenziehung sein. Die bei mechanischen Eingriffen nachweisbare plastische Eigenschaft widerspricht aber dieser supponirten Elastizität. Auch zeigt das in Bot. Ztg. 1886. p. 147 von mir angeführte Experiment mit *Nitella*, dass keine besondere elastische Dehnung im Protoplasma bestand.

2) Osmot. Unters. 1877. p. 434.

3) Auch bei solcher Bildung würde ich noch von einer Niederschlagsmembran reden, da ich den Begriff einer solchen keineswegs an die bestimmten Modalitäten knüpfe, wie sie bei der üblichen künstlichen Bildung geboten sind.

aus einer Verdichtung des Protoplasmas hervor. Eine solche Annahme liegt der übrigens gleichfalls ganz hypothetischen Anschauung von SCHMITZ¹⁾ zu Grunde, welche die Hautschieht durch Verdichtung des Fibrillengerüsts im Protoplasma entstehen lässt.

Trotz wiederholter nachdrücklicher Betonung, dass Entstehung und genetische Beziehung der Plasmahaut die Erwägungen über deren physiologische Funktion, welche von der realen Existenz auszugehen haben, nicht berühren²⁾, hat doch mangelhaftes Auseinanderhalten dieser Dinge, ferner meine Rücksichtnahme auf die vom lebenden Protoplasma separirte Hautschieht und die Herbeiziehung der Eigenschaften künstlicher Niederschlagsmembranen mehrfache Veranlassung zu Missverständnissen gegeben. Thatsächlich wandte ich indess keine andere methodische Forschung an, als wie sie immer in physiologischen Fragen geboten ist, und wie sie auch in dieser Arbeit zur Verwendung kam, in welcher wohl klar genug ausgesprochen ist, wie ich mir die Hautschieht im Dienste des lebendigen Protoplasmas dachte und denke³⁾. Die Experimente mit künstlichen Niederschlagsmembranen ermöglichten mir aber, die physikalische Erklärung zu geben, wie in lebendigen Zellen, trotzdem der Zellsaft eine nur verdünnte Lösung ist, osmotische Druckkräfte von solcher Höhe zu Stande kommen, wie sie meine vorausgegangenen Untersuchungen aufgedeckt hatten⁴⁾.

1) L. c. 1880. p. 9.

2) Osmot. Untersuchungen. 1877. p. 128, 134, 139.

3) Wie wenig DE VRIES (l. c. p. 498) berechtigt war, meine Plasmamembran eine todte Niederschlagsmembran zu nennen, kann ein Blick auf das in meiner Physiologie. I. p. 44 Gesagte lehren. — WIGAND'S (Botanische Hefte. I. 1885. p. 190) Polemik trifft den Kern der Sache nicht und vernachlässigt die empirischen Erfahrungen. Thatsächlich ist eine sichere optische Abgrenzung viel häufiger, als es nach WIGAND scheinen möchte, und die anderen aus Diosmose und Separirung entnommenen Argumente finden bei demselben keine Würdigung. Darin muss freilich Jeder WIGAND beistimmen, dass eine Haut zur Abgrenzung eines begrenzt quellungsfähigen Körpers nicht nöthig ist, doch hat meines Wissens auch sachgemäß Niemand das Nichtmischen des Protoplasmas mit Wasser als Argument für die Nothwendigkeit einer Hautschieht herbeigezogen. Gegen die Bemerkung WIGAND'S, dass ein nicht direkt wahrnehmbares Häutchen kein Häutchen sei, ist einmal zu bemerken, dass es sich um etwas Nichtwahrnehmbares bei der Hautschieht nicht handelt, übrigens z. B. der Physiker mit guten Gründen von einem Flüssigkeitshäutchen an der Oberfläche von Wassertropfen redet, obgleich man ein solches thatsächlich nicht sehen kann.

4) Da in einzelnen Arbeiten neuerer Zeit die unverkennbare Tendenz sich ausspricht, dieses Problem als etwas Selbstverständliches hinzustellen, erlaube ich mir, im Anschluss an das Vorwort in meinen Osmotischen Untersuchungen zu bemerken, dass bis dahin das Zustandekommen der erstaunlich hohen Druckkräfte unter den in der Zelle gegebenen Bedingungen physikalisch nicht erklärbar war und mir auch von keinem Physiker erklärt werden konnte, mit dem ich das Problem besprach. Auch die Kenntnis der relativen plasmolytischen Leistung, welche übrigens schon in allgemeinen Zügen vorlag (DE VRIES 1874), konnte das Grundproblem nicht aufhellen. Es

Die Genesis der Hautschicht betreffend, ergibt sich als Erfahrung aus den Thatsachen, dass verschiedene Theile des Protoplasmaorganismus, auch Körnerplasma, zur Bildung von Hautschicht und Vakuolen geeignet sind. Nach einer von DE VRIES¹⁾ übrigens nur als Hypothese vorgetragenen Annahme sollen die Hautschichten des ganzen Protoplasmas und einzelner Vakuolen, analog wie Zellkern und Chromatophoren, sich selbständig fortpflanzende, stets von Ahnen ihresgleichen abstammende Organe sein, welche entweder in der Hautschicht zusammenschließen oder als winzige Vakuolenbildner (Tonoplasten) im Protoplasma vertheilt sind. Nur insofern die Tonoplasten einseitig für diese Funktion bestimmt sind, hat diese Hypothese einen Sinn, nicht aber, wenn zur Bildung von Hautschicht und Vakuolen auch Massen dienen, welche im Protoplasma auch anderweitig als Bausteine und in Funktionen benutzt werden. Trifft dieses zu, dann ist der bezeichneten Hypothese der Boden geraubt, auch dann, wenn, was ja wahrscheinlich, nicht jedes beliebige Theilchen des Protoplasmas, des Gerüstwerks und der Interfilarmasse, zum Übergang in Hautschicht geeignet ist. Ein Descendent seinesgleichen ist aber jeder lebendige Protoplasmakörper.

Jedenfalls hat DE VRIES für seine Ansicht irgend genügende Argumente nicht beigebracht und die bisherigen Erfahrungen scheinen mir eher gegen dessen Hypothese zu sprechen. Jedenfalls muss diese zu allseitiger Durchdringung des Protoplasmas mit Tonoplasten die Zutlucht nehmen, da verschiedenste Theilstücke des Protoplasmas, auch des Körnerplasmas, zur Vakuolenbildung geeignet sind. Die Fähigkeit des Zellkerns und der Chlorophyllkörner, im Ganzen oder in ihren Theilstücken bei Einbringen in Wasser Vakuolen liefern zu können, muss es doch fraglich erscheinen lassen, ob die Vakuolenbildung nur an die für diesen Zweck bestimmten Organe geknüpft ist²⁾. Auch ist zu beachten, dass den hypothetischen Tonoplasten die doppelte Fähigkeit zukommen muss, selbst zu Vakuolen, durch Wasseraufnahme in ihr Inneres, zu werden oder zur Hautschicht zusammenzuschließen, denn dieses ist ja nöthig, wo Hautschicht um Körnerplasma oder um einen ins Innere des Körnerplasmas eingeführten Wassertropfen entsteht³⁾.

thut das dem hohen Werth der bezüglichen Untersuchungen keinen Abbruch, denn außer dass mit Hilfe der isotonischen Koeffizienten auf die in einem gegebenen Falle wirksamen Körper eventuell näher geschlossen werden kann, gestatten sie auch nach anderen Seiten hin methodische Erforschung gewisser diosmotischer Verhältnisse.

1) L. c. p. 489.

2) Aus der Bildung von Vakuolen durch Methylviolett (p. 255) ist deshalb auch noch nicht zu folgern, dass die Grana, aus welchen die Vakuolen hervorzugehen scheinen, nur die Funktion von Tonoplasten haben.

3) Etwas derartiges findet statt, wenn man ein Plasmodium kleine Körnchen flüssigen Leims verschlingen lässt, welcher zuvor im gelösten Zustand mit Indigkarmin

Das Zusammenschließen der Hautschichtträger beim Zerschneiden des Protoplasmakörpers, auf welches DE VRIES sich beruft, ist allerdings bei *Vaucheria* ¹⁾ Regel, doch kann sich an Schnittflächen durch Plasmodien ²⁾ auch Hautschicht ohne Zusammenschließen der Wundränder bilden. Auf Unfähigkeit der Forterhaltung der aus *Vaucheria* hervortretenden Ballen aus Körnerplasma kann sich mit Recht DE VRIES nicht berufen, denn seine Tonoplasten sind überall im Protoplasma, und Hautschichtbildung um Protoplasma und Vakuolen ist nicht gekettet an Existenzfähigkeit, welche zudem von verschiedenen Umständen, z. B. von dem Vorhandensein eines Zellkernes abhängt ³⁾.

Im lebensthätigen Protoplasma ist die Hautschicht selbst ein lebendiges und aktives Organ des Ganzen, von diesem getrennt ist sie nicht mehr existenzfähig und der Gesamtheit der vitalen Funktionen beraubt, wenn auch immerhin zunächst einzelne Funktionen, wie auch sonst bei separirten Organen bekannt ist, fortbestehen mögen. Vermöge der plastischen Eigenschaften, welche nach der Separirung sich für gewisse Zeit erhalten können, vermag die separirte Hautschicht ⁴⁾, ebenso wie nicht existenzfähige Vakuolen ⁵⁾, unter äußeren Einflüssen (auch aus rein physikalischen Gründen) Gestaltungen und auch Trennungen, sowie Verschmelzungen auszuführen. Funktionen lebendiger Thätigkeit sind das aber nicht mehr, und aus diesen Erscheinungen, so wenig wie aus der Trennung, kann eine genetische Selbständigkeit der Hautschicht nicht abgeleitet werden. Die Gestaltungen der Hautschicht in allen Bewegungen des lebensthätigen Protoplasmas, bei Bildung von Strömungsbändern, bei Zellentheilung, Vakuolenbildung u. s. w., verrathen an sich nie, was aktiv die Hautschicht thut, und was aus Wechselwirkungen mit dem lebendigen Protoplasten entspringt; eine Wechselwirkung, die aber jedenfalls nöthig ist, um lebendige Thätigkeit der Hautschicht zu ermöglichen ⁶⁾. Ein solches

gefärbt waren. Es entstehen dann Vakuolen mit blauem Zellsaft. Das Auftreten und auch das Vergehen der Vakuolen im lebendigen Protoplasma bedarf übrigens noch eines näheren Studiums. Es ist natürlich auch möglich, dass die in anderen Fällen unbestimmter auftretenden Vakuolen zu bestimmteren und selbständigeren Organen individualisirt werden, wie es z. B. für pulsirende Vakuolen der Fall ist. (Vergl. KLEBS, Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen. Bd. I. 1884—85. p. 249, 280.)

1) Siehe namentlich die ausführlichen Untersuchungen HANSTEIN'S, Botanische Abhandlg. Bd. IV. 1880. p. 45.

2) STRASBURGER, Studien über Protoplasma. 1876. p. 27.

3) Vergl. PFEFFER, Osmot. Unters. 1877. p. 128. — Über Existenzfähigkeit separirter Plasmamassen von Infusorien siehe NUSSBAUM, Archiv für mikroskop. Anatomie. Bd. 26. 1886. p. 516.

4) DE VRIES. l. c. p. 499.

5) Vergl. PFEFFER, Osmot. Unters. 1877. p. 443.

6) Dieses ist auch zu beachten bei Beurtheilung der Reizerscheinungen in den Drüsenhaaren von *Drosera*, welche in jüngster Zeit DE VRIES (Bot. Ztg. 1886. p. 4) studirte, der auch die Verwechslung mit der Fällung durch Ammoncarbonat, welche

Verhältnis ist ebenso gut möglich, wenn jeder Theil des Ganzen befähigt ist, die Stellung und Funktion der Hautschicht zu übernehmen.

XXIV. Hinweis auf die Farbstoffe als Hilfsmittel der Forschung.

Aus den angeführten Untersuchungen geht genugsam hervor, wie die Einführung von Farbstoffen in lebendige Zellen in verschiedener Weise nutzbar gemacht werden kann. Ohne hier ausmalen zu wollen, wie die Farbenreaktion noch anderweitig vielseitiger Anwendung fähig ist, dürfte es doch am Platze sein, einige allgemeine Andeutungen über die Färbung lebender Zellen als Hilfsmittel der Forschung zu machen.

Die Einführung von Farben in lebendige Zellen ist besonders deshalb von Bedeutung, weil ohne Beeinträchtigung der Struktur und überhaupt ohne Schädigung des Lebens Eigenschaften der Zelle, resp. ihrer Theile charakterisirt werden. Denn jede Farbenspeicherung, mag sie im Protoplasma oder Zellsaft auftreten, bedarf natürlich kausaler Erklärung und kann in ihrem Auftreten und weiteren Verhalten als Reagens für Qualitäten der Zelle ausgenutzt werden. Da ferner verschiedene Farbstoffe und ihr spezifisches Verhalten gegen die lebendige Zelle besondere Reaktionsmittel abgeben, ist hiermit eine Methode der Forschung geboten, welche nach mannigfachster Seite hin Aufschlüsse in stabile und veränderliche Eigenschaften der lebendigen Zelle zu geben vermag. Wie in jeder Forschungsmethode werden natürlich auch in dieser die thatsächlichen Erscheinungen erst auf richtige Fragestellung und Interpretation einen Blick in die im Organismus gebotenen Verhältnisse gewähren.

In jedem Falle kennzeichnet die Speicherung des Farbstoffs besondere Eigenschaften der Zelle, resp. ihrer Theile und zeigt somit immer irgend einen Unterschied der sich färbenden und nicht färbenden Theile an. Es gilt dieses ebenso für den Protoplastmakörper, in dem sich, wenn überhaupt, immer nur einzelne Theile färben, und in dem die mit der Schädigung sich anders gestaltende Färbung eine kausale Erklärung fordert, die in die besonderen im Leben gebotenen Verhältnisse eindringen muss.

Ist auch die Färbung für sich keine spezifische Reaktion eines einzelnen Körpers, so ist sie doch deshalb von höchstem Werthe, weil sie die Vertheilung eines anderweitig erkannten oder auch eines unbekanntem

Darwin veranlasste, aufklärte. In der hier sehr zahlreichen Vermehrung der Vakuolen durch Theilung sehe ich die Hautschicht im Prinzip nicht anders betheilig, als etwa bei der Vermehrung der Vakuolen in der Zelltheilung. Die Vakuolenwand bleibt aber immer ein Theil des lebendigen Protoplasmas, das in den gereizten Zellen von *Drosera* an Volumen gewinnt (aufquillt), jedoch nicht nur, wie DE VRIES angibt, wandständige Strömung zeigt. Wenigstens sehe ich nicht zu selten eine Strömungsbahn mit Mikrosomen das hyaline Plasma durchqueren oder längs einer Vakuole sich hinziehen.

Stoffs innerhalb der lebendigen Zelle erkennen lässt. Damit ist zugleich die Möglichkeit geboten, das Verhalten des speichernden Körpers in verschiedenen Entwicklungsstadien und unter dem Einfluss innerer und äusserer Veränderungen zu kontrolliren. Diese Erscheinungen erlauben hinwiederum Rückschlüsse auf die in der Zelle normalerweise gebotenen oder durch äußere Einwirkungen geschaffenen Bedingungen, wie z. B. bei Behandlung des Verbleibens oder des Auswanderns der gespeicherten Farbstoffe gezeigt wurde. In dieser Richtung eröffnet sich ein vielseitiges Gebiet dieser Methode der Forschung, welche zugleich mit Hilfe der in dem Farbenton veränderlichen Farbstoffe Aufschluss über verschiedene Eigenschaften der Zelle und ihrer Theile gewinnen kann, wie z. B. über saure und alkalische Reaktion und über Reduktionsthätigkeit.

Die gespeicherten Farbstoffe fordern wiederum dazu auf, ihr Verhalten für Wachstum und Zelltheilung und die damit verknüpften Vorgänge zu benutzen. Auch können diese gespeicherten Farbstoffe über Nichteindringen oder Eindringen solcher Körper entscheiden, welche mit ihnen eine nachweisliche Reaktion geben. Ferner dürften wohl die mit der Farbenspeicherung veränderten optischen Eigenschaften der Zelle einer nutzbringenden Anwendung fähig sein. Weiter ist daran zu denken, dass vielleicht die Färbung eines Protoplasmakörpers benutzt werden kann, um die Vorgänge bei sexueller oder anderweitiger Vereinigung zweier Protoplasten im näheren zu kontrolliren. Aus diesen allgemeinen Andeutungen ist wenigstens zu ersehen, in wie hohem Grade die Färbung lebendiger Zellen ein methodisches Hilfsmittel in den verschiedensten Fragen werden kann.

XXV. Zusammenfassung einiger Resultate.

Verschiedene Anilinfarben werden ohne Schädigung in lebensfähige Zellen aufgenommen. Da man aber auf Anwendung verdünnter Lösungen angewiesen ist, wird die Aufnahme im allgemeinen nur bemerklich, wenn eine Speicherung eintritt. Eine solche kommt sowohl im Protoplasma als im Zellsaft zu Stande.

Aufnahme wurde bis dahin konstatiert für Methylenblau, Methylviolett, Cyanin, Bismarckbraun, Fuchsin, Safranin, Methylorange, Tropäolin 000, Methylgrün, Jodgrün, Hoffmann's Violet, Gentianaviolett, Rosolsäure. Für alle diese Körper wurde eine Färbung des Protoplasmas, mit Ausnahme von Methylenblau, und eine Speicherung im Zellsaft, mit Ausnahme von Rosolsäure, beobachtet.

Speicherung wurde nicht beobachtet für Nigrosin, Anilinblau, Methylenblau, Marineblau, Anilingrau, Eosin und Kongoroth. Für Anilinblau und Nigrosin (ebenso Indigkarmin) wurde auch festgestellt, dass ein Eindringen in die lebendige Zelle nicht stattfindet.

Im lebendigen Protoplasma wurde eine sichere Färbung von Zellkern

und Chromatophoren nicht beobachtet, und im übrigen Protoplasmakörper färben sich nur einzelne distinkte Theile (Mikrosomen, Grana, Vakuolen).

Eine Schädigung der Zelle macht sich durch Färbung im Zellkern bemerklich, welcher nun auch Methylenblau speichert.

Ohne Tödtung vermögen manche Anilinfarben eine Deformation zu erzielen, welche sich in einem Ausstoßen vakuoliger und nicht vakuoliger plasmatischer Massen in den Zellsaft kund gibt.

Abgesehen von diesen Deformationen, welche theilweise rückgängig werden, verliert das Protoplasma mit der Zeit den aufgespeicherten Farbstoff.

In den Zellsaft gelangt Methylenblau ohne eine Färbung des Protoplasmas, dessen Tingirung durch andere Anilinfarben das Vordringen dieser bis zum Zellsaft nicht hindert.

Bei Speicherung bildet sich im Zellsaft farbige Lösung oder eine amorphe oder krystallinische Ausscheidung. Die Färbung präformirter Körper wurde, abgesehen von Fremdkörpern in Myxomyceten, bis dahin nur für Gerbsäureblasen beobachtet.

Speicherung wird erzielt, indem eine nicht oder doch nur schwierig diosmirende Verbindung entsteht, und deshalb so lange Farbstoff sich diosmotisch in der Zelle bewegt, als die Störung des Gleichgewichts fort dauert.

In dieser Weise wirken verschiedene Körper speichernd, von denen indess bisher nur die Gerbsäure erkannt wurde. Diese bedingt eine Anhäufung aller aufnehmbaren Anilinfarben (ausgenommen Rosolsäure), während nicht alle Anilinfarben mit den anderen Körpern eine nicht diosmirende Verbindung eingehen.

Eine nicht diosmirende Verbindung wird, von außen dargeboten, nicht in die Zelle aufgenommen, wie die Erfahrungen mit gerbsaurem Methylenblau und Methylviolett bestätigen.

Hinsichtlich der Gestaltung der Speicherung machen sich in derselben Zelle Unterschiede bei Aufnahme verschiedener Anilinfarben bemerklich. So wird z. B. die Gerbsäureverbindung des Farbstoffs entweder ganz ausgeschieden (Methylenblau, Methylviolett) oder bleibt mehr oder weniger gelöst (Fuchsin, Methylorange, Tropäolin 000). Übrigens können auch die im Zellsaft gebotenen Verhältnisse verursachen, dass dieselbe Verbindung entweder gelöst bleibt oder sogleich oder nach einiger Zeit mehr oder weniger ausgeschieden wird.

Bei der Abhängigkeit von bestimmten Körpern häufen nicht alle Pflanzen und nicht alle Zellen einer Pflanze eine Anilinfarbe in sich auf. Auch kann mit Erscheinen und Vergehen des speichernden Körpers, also nach Entwicklungsstadien und nach anderen Verhältnissen, die Speicherung in derselben Zelle verschieden ausfallen.

Bei Unterbleiben der Speicherung ist das Eindringen des Farbstoffs in die Zelle nicht ausgeschlossen. Möglich ist es übrigens, dass nicht jede Zelle und eine Zelle nicht unter allen Umständen zur diosmotischen Aufnahme bestimmter Anilinfarben befähigt ist. Jedenfalls kommen spezifische Differenzen in der ungleichen Empfindlichkeit gegen Anilinfarben zum Ausdruck.

Spezifische Differenzen des Protoplasmakörpers sind nicht leicht festzustellen, da schon die Qualität der Zellhaut das Vordringen des Farbstoffs bis zum Protoplasma in hohem Grade beeinflussen kann. Durch schwierig permeable Zellwände erfolgt demgemäß eine nur langsame Aufnahme in die Zelle.

Ebenso wird ein Vordringen des Farbstoffs in innere Zellen durch umhüllende Zelllagen verlangsamt. Halten diese zudem den Farbstoff in sich zurück, so rückt dieser nur langsam von Zelle zu Zelle weiter.

Bei leichter Durchlässigkeit der Zellhaut kann die Speicherung sehr schnell fortschreiten und selbst bei Darbietung sehr verdünnter Lösung, in kürzerer Zeit eine sehr ansehnliche Anhäufung des Farbstoffs herbeiführen. Dieser kann dabei einer Lösung endlich ganz entzogen werden, sofern die speichernden Zellen den aufgenommenen Farbstoff dauernd zurückhalten. Für Beschleunigung der Aufnahme ist der langsamen Hydrodiffusion der Farbstoffe halber, eine mechanische Mischung, insbesondere in einer stark verdünnten Lösung, von wesentlicher Bedeutung.

Ist auch der diosmirende Farbstoff giftig, so kann doch ohne Nachtheil im Zellsaft eine konzentriertere Lösung der gespeicherten Farbstoffverbindung sich ansammeln. Denn diese dringt nicht oder doch in jedem Augenblick in zu geringer Menge ins Protoplasma, um eine Schädigung desselben herbeizuführen.

Der im Zellsaft gespeicherte Farbstoff verbleibt entweder in der Zelle, oder in dieser tritt ganz allmählich Entfärbung ein. In beiden Fällen dauert das Leben fort, und in sich vermehrenden Zellen vertheilt sich der Farbstoff auf die Tochterzellen, während zugleich entsprechende Neubildung der Speicherung bewirkenden Körpers fortschreitet.

Nach Versuchen mit Methylenblau kann jede Zelle, ohne Schädigung, durch Einwirkung verdünnter Säuren entfärbt werden. Indem diese in Spuren zur Farbstoffverbindung gelangt, bewirkt sie in dieser eine geringe Zersetzung, welche mit Hülfe dauernder diosmotischer Entfernung der entstehenden diosmirenden Farbstoffverbindung endlich total werden kann, denn durch entsprechende Entfernung eines Produktes ist es überhaupt möglich, durch eine an sich geringfügige Reaktion eine weitgehende oder vollständige Umsetzung zu erzielen.

Die Bedingungen für solche partielle Zersetzung sind normalerweise in denjenigen Pflanzen vorhanden, welche sich ohne äußere Einwirkung allmählich entfärben. Es kann demgemäß auch nicht überraschen, wenn solche Entfärbungsbedingungen unter irgend welchen Umständen in Pflan-

zen eintreten, welche für gewöhnlich den im Zellsaft gespeicherten Farbstoff zurückhalten.

Sofern ein entfärbender Prozess thätig ist, kommt, als Resultante zweier antagonistischer Bestrebungen, in genügend verdünnter Lösung eine Speicherung nicht zu Stande. Verbleibt aber der einmal aufgenommene Farbstoff dauernd in der Zelle, so kann derselbe aus den verdünntesten Lösungen gespeichert werden.

Aufnahme und Speicherung der Anilinfarben ist nicht an die Lebensthätigkeit gekettet. Speicherung tritt demgemäß auch ein, wenn durch Entziehung des Sauerstoffs, durch Chloroformiren, durch Aufenthalt bei 0° oder 42° C. die normalen vitalen Funktionen partiell sistirt sind. Auch nach geeigneter Tödtung des Protoplasmas verhält sich die in ihrer Kontinuität erhaltene Hautschicht zunächst gegen aufnehmbare und nicht aufnehmbare Anilinfarben in der bisherigen Weise.

Über diosmotische Aufnahme oder Nichtaufnahme durch die Hautschicht (übrigens ebenso durch künstliche Membranen) entscheidet keineswegs in erster Linie die Größe der gelösten Moleküle. Denn sofern genügende Anziehung zwischen den Partikeln der Hautschicht und des gelösten Körpers besteht, drängen sich letztere, gleichsam wie Keile, zwischen die auseinander weichenden Partikel der Hautschicht und finden so ihren Weg ins Innere der Protoplasma Körper, resp. aus diesen in die angrenzende Flüssigkeit, ohne dass dabei anderen nicht diosmirenden Körpern ein Weg gebahnt wird. Dieserhalb vermögen auch Anilinfarben in die Zelle einzudringen, obgleich ihnen aller Wahrscheinlichkeit nach in Lösung viel größere Moleküle zukommen, als etwa dem nicht diosmirenden Salpeter.

Diese Aufnahme gelöster Stoffe hat eine gewisse Ähnlichkeit mit der Einführung sichtbarer Körpertheile in das Protoplasma. Im ersteren Falle resultirt aber das Durchzwängen von einer molekularen Wechselwirkung zwischen Haut und gelöstem Stoffe, während in letzterem Falle, unabhängig von solcher molekularer Wechselwirkung, eine mechanische Durchpressung erzielt wird.

Gleiches wie für die Farbstoffe gilt überhaupt für Aufnahme und Ausgabe von Stoffen, so weit solche ohne Lebensthätigkeit zu Stande kommt. Greift letztere ein, so werden die zur Aufnahmethätigkeit bestimmten und selbst veränderlichen Organe im Dienste des lebendigen Organismus, je nach spezifischer Eigenschaft und Reaktionsfähigkeit desselben, zu den mannigfachsten Leistungen benutzt, und es werden deshalb auch zeitweise oder dauernd Stoffe aufgenommen, welche in das leblose Protoplasma nicht eindringen.

Bei alledem ist die mechanische Ausführung der Stoffaufnahme eine Funktion der im Dienste des lebendigen Organismus thätigen Hautschicht.

Aus der Wechselwirkung mit dieser entspringt demgemäß auch die osmotische Leistung der nicht eindringenden Körper.

Das Protoplasma lässt genügend verdünnte Zitronensäure, auch andere Säuren ohne Schädigung passiren. Nimmt es dabei saure Reaktion an, so stellt sich doch die frühere Reaktion nach Entziehung des Reagens wieder ein.

In dem übrigens schwach sauren Zellsaft der untersuchten Pflanzen können, sofern der gespeicherte Farbstoff in der Zelle verbleibt, nicht solche freie Säuren bestehen, die wie Zitronensäure eine Exosmose des Farbstoffs veranlassen.

Aufnehmbare Anilinfarben vermögen, sofern sie durch Säuren oder Alkalien einen Farbenwechsel erfahren, über Reaktion im Zellsaft und Protoplasma Aufschluss zu geben. Auch in mannigfach anderer Weise können Anilinfarben als Reagens benutzt werden, um Eigenschaften und Thätigkeiten des Protoplasmas zu kennzeichnen. Als ein Beispiel sei hier erwähnt, dass das nicht gährthätige Protoplasma Safranin und Methylenblau nicht reduziert, obgleich aus beiden Farbstoffen ein Leukoprodukt herstellbar ist.

Sehr verbreitet findet sich im Vereine mit Gerbstoff ein Proteinkörper in der Zelle gelöst, welcher in Verbindung mit Gerbstoff durch Ammoncarbonat gefällt wird. Der entstandene Niederschlag kann sich wieder im Zellsaft lösen, so lange er nicht in die unlösliche Modifikation übergegangen ist.

In der Wurzel von *Azolla* wird der gerbsaure Proteinstoff durch Plasmolyse in der Form von Gerbsäureblasen ausgeschieden.

Diese Fällungen enthalten mit der Gerbsäure auch den die Farbstoffe in diesen Zellen speichernden Körper.

Erklärung der Abbildungen auf Taf. II.

(Die eingeklammerten Zahlen geben die Vergrößerung an.)

- Fig. 1. *Azolla caroliniana*. Ausgewachsene Epidermiszelle der Wurzel. Nach 20 stündigem Aufenthalt in 0,0008 % Methylenblaulösung mit 2 % Salpeterlösung plasmolysirt. (310)
- Fig. 2. *Azolla caroliniana*. Mittelgroßes Wurzelhaar. Nach Plasmolyse mit 3 % Salpeterlösung sind die Gerbsäurekugeln ausgeschieden. (310)
- Fig. 3. *Azolla caroliniana*. Kleineres Wurzelhaar nach 20 stündiger Behandlung mit 0,0008 % Methylenblaulösung. (310)
- Fig. 4. *Spirogyra communis*. Eine Zelle eines Fadens, der 20 Stunden in einer 0,0002 % Methylenblaulösung verweilt hatte. (700)
- Fig. 5. *Trianea bogotensis*. Ein jüngeres Haar im optischen Längsschnitt nach 2 stündigem Aufenthalt in 0,0008 % Methylenblaulösung. Der Zellsaft ist noch nicht mit Farbstoff gesättigt, würde also bei längerem Aufenthalt in der Lösung tiefer blau geworden sein. Die feinkörnige Ausscheidung im Zellsaft ist in diesem Haare reichlicher als gewöhnlich. Einzelne der im Zellsaft entstandenen farbigen Aggregate sind in das Protoplasma aufgenommen. (205)
- Fig. 6. *Trianea bogotensis*. Eine ausgewachsene Epidermiszelle einer Wurzel, nachdem diese 20 Stunden in 0,0004 % Methylenblaulösung zugebracht hatte. (205)
- Fig. 7 und 8. *Lemna minor*. Epidermiszellen aus Wurzeln nach 48 stündiger Behandlung mit 0,0008 % Methylenblaulösung. Fig. 8, aus einer jungen Wurzel stammend, zeigt tief blauen Zellsaft und ein Aggregat feinkörniger blauer Ausscheidung. — Fig. 7 ist eine Zelle aus dem oberen Theil einer längeren Wurzel. Man sieht bei *a* das feinkörnige Aggregat, außerdem sind strahlig krystallinische blaue Massen gebildet. Die sehr geringe bläuliche Färbung des Zellsaftes wurde in der Figur weggelassen. (510)
- Fig. 9 und 10. *Zygnema cruciatum*. In beiden Fällen sind fast alle Gerbsäureblasen schön blau. In Fig. 9 ist der Zellsaft gefärbt, in Fig. 10 ist die anfangs gelöste farbige Verbindung nachträglich besonders schön auskrystallisirt. Fig. 9 entstammt einem Faden, der 24 Stunden, Fig. 10 einem solchen, der 4 Tage in 0,0008 % Methylenblaulösung zugebracht hatte. (510)
- Fig. 11. Stück aus dem Protoplasma des Wurzelhaares von *Trianea bogotensis*, nach 6 Minuten langem Einwirken einer Lösung mit 0,00025 % Methylviolett. Die Zeichnung sucht das Bild zu versinnlichen, welches ein dünner Wandbelag bietet. Die farblosen Räume sind Vakuolen, die tief blauen Körnchen die Mikrosomen, die größeren schwächer gefärbten Körper die Grana. Letztere weichen hier besonders reichlich und weitgehend von der Kugelgestalt ab. (1200)

- Fig. 42. Wie Fig. 41, doch nach 20 Min. langem Aufenthalt in der Methylviolett-lösung. Die Bildung von Farbstoffbläschen hat begonnen, die zum Theil schon in den Zellsaft der Vakuolen ausgestoßen, übrigens noch ziemlich klein sind. (1200)
- Fig. 43. Spitze des Wurzelhaars von *Trianea* nach 2 stündigem Aufenthalt in 0,00025 % Lösung von Methylviolett. Zahlreiche Farbstoffbläschen finden sich im Zellsaft. Bei *a* sind einige separirte Plasmamassen zu bemerken. Das noch strömende Protoplasma ist schön violett gefärbt. (205)
- Fig. 44 und 45. *Saprolegnia ferax*. Oberflächenansichten von Hyphen, die auf Fliegenbeinen kultivirt und unter Deckglas 5 bis 15 Min. mit 0,00025 % Methylviolettlösung behandelt worden waren. In beiden Fällen sieht man die gefärbten Vakuolen und die ungefärbten Mikrosomen. In Fig. 44 bildet das Protoplasma einen dünnen, netzförmigen Wandbelag. In Fig. 45 ist die Hyphe mit Protoplasma erfüllt. (1000)

Inhaltsübersicht.

	Seite
I. Einleitung	179
II. Vorläufige Orientirung	182
III. Methodisches	183
IV. Versuche mit Methylenblau.	186
1) Allgemeine Resultate	186
2) Spezielle Beobachtungen	207
3) Qualität der speichernden Stoffe	231
V. Fällungen durch Ammoncarbonat im Zellsaft	239
VI. Plasmolytische Ausscheidung in <i>Azolla</i>	245
VII. Versuche mit Methylviolett	247
1) Färbung im Protoplasma.	247
2) Färbung im Zellsaft	256
3) Einige spezielle Beobachtungen.	257
VIII. Versuche mit Cyanin.	259
IX. » » Bismarckbraun	262
X. » » Fuchsin	264
XI. » » Safranin	266
XII. » » Methylorange	266
XIII. » » Tropäolin 000, Tropäolin 00, Rosolsäure	267
XIV. Versuche mit anderen aufnehmbaren und nicht aufnehmbaren Farbstoffen	268
XV. Historisches über Aufnahme von Farbstoffen	269
XVI. Vergleichende Betrachtungen über die Färbung durch verschiedene Anilin- farben	271
XVII. Beobachtungen über die Färbung im lebenden und todten Protoplasma .	276
XVIII. Bedingungen für Aufnahme und Ausgabe von Farbstoffen	280
1) Bedeutung der Qualität der dargebotenen Verbindung	280
2) Unabhängigkeit der Farbstoffaufnahme von der Lebensthätigkeit. .	282
3) Natürliche und künstliche Exosmose der gespeicherten Farbstoffe	286
4) Bemerkungen über saure und alkalische Reaktion in der Zelle . .	293
XIX. Aufnahme fester Körper	297
XX. Osmotische Aufnahme ohne Lebensthätigkeit	299
XXI. Stoffaufnahme in die lebensthätige Zelle	304
XXII. Blicke auf die Stoffwanderung.	312
XXIII. Bedeutung der Hautschicht und Verbreitung der diosmirenden Stoffe im Innern des Protoplasmaorganismus.	315
XXIV. Hinweis auf die Farbstoffe als Hilfsmittel der Forschung	324
XXV. Zusammenfassung einiger Resultate	325
Erklärung der Abbildungen	330

V.

Über die Organisation der Gallerte bei einigen Algen und Flagellaten.

Von

Georg Klebs.

Mit Tafel III und IV.

Der größere Theil der Algenformen, welche in unsern süßen Gewässern leben, zeichnen sich durch schleimige Beschaffenheit an ihrer Oberfläche aus. Je nach den einzelnen Fällen finden wir die verschiedenartigsten Verhältnisse ausgebildet, sowohl bezüglich der Menge des von einer Art gebildeten Schleimes, wie auch besonders in Hinsicht auf die Eigenschaften desselben. Die festen verzweigten Stiele vieler Diatomeen, die scharf begrenzten, oft sehr dicken Schleimscheiden der Conjugaten, die lockern, oft in riesiger Menge auftretenden Schleime von Protococcoiden geben einige Beispiele aus der Mannigfaltigkeit der Erscheinungen. Die gewöhnliche Bezeichnung des betreffenden Bestandtheiles, als Schleim, beruht auf der Ähnlichkeit desselben mit dem bekannten Schleime der Samen. Die hauptsächlichste Eigenschaft des letzteren, die Aufquellung in Wasser, fehlt nun meistens dem Bestandtheil der Algen, der im Wasser unverändert bleibt und deshalb vielmehr als eine Art Gallerte zu bezeichnen ist. Die Unterscheidung wird dadurch nicht beseitigt, dass in vielen Fällen bei den Algen die Gallerte in einen stark aufquellenden Schleim sich verwandelt; hierfür ist augenscheinlich stets ein besonderer Prozess, sei er chemischer oder physikalischer Art, die Vorbedingung.

Gerade die gallertartigen Bestandtheile der Algen sind es, welche das Thema der vorliegenden Untersuchung bilden. In der Literatur finden sich außer der Beschreibung der äußerlichen Erscheinung keine ausführlicheren Angaben über den Bau, die Eigenschaften und die Entstehung. Im Allgemeinen besteht die Annahme¹⁾, dass die Gallerthül-

1) Vergl. z. B. KIRCHNER in Kryptogamen-Flora von Schlesien. II, 1. 1878. p. 19—20.

len der Algen Umwandlungsprodukte der Zellwandschichten sind, analog wie die Schleime der Samen. In einer kleinen Abhandlung¹⁾ habe ich für die Desmidiaceen eine andere Entstehungsart nachzuweisen gesucht, nämlich durch Ausscheidung von Seiten des Cytoplasmas, wie sie bei den Flagellaten schon früher stets behauptet worden ist²⁾. — Am ausführlichsten sind von mir die Gallertscheiden der Zygnemen untersucht worden, welche in dem ersten Abschnitt der Abhandlung behandelt werden. In den darauf folgenden Kapiteln werden die bezüglichen Verhältnisse bei einigen anderen Algenfamilien und mehr beiläufig auch bei einigen Flagellaten geschildert.

I. Die Gallertscheiden der Zygnemen.

Es ist seit lange bekannt, dass einige Arten von *Zygnema* von besonderen gallertartigen Hüllen umkleidet sind³⁾, während andere sich durch sehr dicke, geschichtete Zellhäute auszeichnen. An den normalen vegetativen Zellen der von mir untersuchten Arten ist die Zellhaut relativ dünn, nie deutlich geschichtet, und auf ihr liegt nach außen die Gallertscheide, ein von der Zellwand sehr scharf unterschiedenes Organ der Zelle, welches je nach den Arten in verschiedener, für ein und dieselbe Art meist in sehr konstanter Dicke und Lichtbrechung erscheint. Allerdings ist es bei den Zygnemen sehr schwierig, die Arten zu bestimmen, wenn nur die vegetativen Zustände vorliegen. So weit das der Fall ist, begnüge ich mich, die von mir für verschieden gehaltenen Formen mit Buchstaben zu bezeichnen.

Folgende Formen unterscheide ich hauptsächlich nach der Breite der Scheide.

Zygnema A.

Breite der Gallertscheide = 44 — 48 μ .

Die Fäden der *Zygnema A* zeichnen sich durch die sehr breite, aber zarte und schwach lichtbrechende Gallertscheide aus, welche auch bei der Mehrzahl den angegebenen Durchmesser bewahrt. Aber allerdings finden sich häufig darunter einzelne Fäden, bei welchen die Scheide weniger breit ist (40 — 42 μ , ja selbst nur 8 μ). Es ist nicht zu entscheiden, in welchem Verhältnis diese schmälere Formen zu den breiten stehen; wahrscheinlich sind es nur individuelle Abweichungen. Zwei deutlich geschiedene Arten⁴⁾, welche in ihren vegetativen Zuständen sich nicht trennen lassen, gehören zu *Zygnema A*.

1) GEORG KLEBS, Über Schleimbildung und Bewegung der Desmidiaceen; Biologisches Centralblatt. IV. 1885.

2) Vergl. BÜTSCHLI, Protozoen in BRONN'S Klassen des Thierreichs. 2. Aufl. p. 684.

3) Vergl. besonders DE BARY, Untersuchungen über die Familie der Conjugaten. 1858. p. 9.

4) In der Literatur über Zygnemen habe ich diese beiden Formen nirgends er-

*α) Zygnema vaginatum.*Breite der Zellen = 25 — 27 μ .

Die Zellen sind $4\frac{1}{2}$ — 3mal so lang als breit. Die Kopulation ist leiterförmig, die Sporen liegen in den nicht besonders angeschwollenen Zellen des einen Fadens. Die Sporen sind etwas zusammengedrückt, rundlich bis elliptisch im Umriss und besitzen eine braune Mittelhaut mit grob-netzig-grubiger Struktur¹⁾ (III. Fig. 13).

*β) Zygnema (Zyogonium) laete-virens.*Breite der Zellen = 27 — 31 μ .

Die Zellen sind $4\frac{1}{2}$ — 3mal so lang als breit. Die Sporen liegen in dem relativ langen Kopulationskanal zwischen den nicht angeschwollenen kurzen Zellen. Die kugligen oder länglichen Sporen zeichnen sich durch den Besitz von 4 Hüllen aus, einer äußeren farblosen weichen, einer zweiten braunen grob getüpfelten, einer dritten mit kleinen körnigen Erhabenheiten besetzten und einer vierten glatten weißen Innenhaut (III. Fig. 14).

*Zygnema B.*Breite der Scheide = 5 — 6 μ .Breite der Zellen = 21 — 23 μ .

Die Zellen sind $2\frac{1}{2}$ — 5mal so lang als breit. Diese Form, welche ich mehrere Monate hindurch rein an einem Standort beobachtete, zeichnet sich durch die langgestreckten, sehr dünnwandigen Zellen aus mit schmaler, schwach lichtbrechender Gallertscheide. Die Sporen wurden bisher nicht gesehen.

*Zygnema C.*Breite der Scheide = 5 — 6 μ .Breite der Zellen = 39 — 42 μ .

Die Zellen sind $4\frac{1}{2}$ — 3mal so lang wie breit. Zu dieser Form gehört das sehr verbreitete *Zygnema (Zyogonium) pectinatum*²⁾, welches auch als solches in seinen vegetativen Zuständen durch die breiten Zellen mit den massigen Chlorophyllkörpern, die hier und dort auftretenden braunen

wähnt noch abgebildet gefunden; ebenso wenig habe ich dieselben unter den zahlreichen Formen, welche in RABENHORST'S Algen-Dekaden getrocknet sind, nachweisen können. Ich sehe mich daher genöthigt, zwei neue Arten aufzustellen. Allerdings wäre es möglich, ja wahrscheinlich, dass die vegetativen Zellfäden schon bemerkt, ihre breite, relativ schwach lichtbrechende Scheide dagegen übersehen wäre. Aber da auch die Sporen nicht dabei erwähnt worden sind, ist es dann einfach unmöglich, die Identität darzulegen.

1) Ein kleiner, aber nicht durchgreifender Unterschied zwischen den vegetativen Fäden dieser und der folgenden Art besteht darin, dass bei der *Zygnema vaginatum* die Zellen an den Querwänden ein klein wenig schmaler sind, als in der Mitte der Seitenwände, so dass sie schwach tonnenförmig gewölbt erscheinen, während bei *Zygnema laete-virens* die Zellen meist gleichmäßig zylindrisch sind.

2) Vergl. DE BARY, Conjugaten p. 9.

Ruhezellen zu erkennen ist. Die Gallertscheide ist zwar schmal, tritt aber durch starke Lichtbrechung hervor, so dass gerade an dieser Form dieselbe schon in früherer Zeit von den Beobachtern gesehen worden ist.

Zygnema D.

Breite der Scheide = 1,8 — 3 μ .

Breite der Zellen = 25 — 29 μ .

Die Zellen sind $1\frac{1}{2}$ — 3mal so lang als breit. Bei dieser Form erkennt man nicht ohne Färbung die Gallertscheide, die neben ihrer geringen Breite auch sehr schwach lichtbrechend erscheint.

4. Die Struktur der Gallertscheide.

Die Gallertscheiden erscheinen an den lebenden Zygnemafäden vollkommen homogen; vielfach treten allerdings einzelne zarte, aber scharf begrenzte Stäbchen in ihnen hervor, besonders häufig bei *Zygnema C.* Jedoch die genauere Untersuchung zeigt stets, dass es nur eingedrungene Bakterien sind¹⁾. Die eigentliche Struktur wird erst sichtbar bei Anwendung von Färbungsmitteln und Reagentien, sie ist nicht bei allen Formen in gleichem Grade ausgebildet, sondern vorzugsweise bei *Zygnema A* α und β , *B.* Bei diesen wurde die Struktur auf folgende Art und Weise nachgewiesen:

a) durch absoluten Alkohol.

Derselbe entzieht der Gallerte Wasser, sodass sie sich zusammenzieht, bei *Zygnema A* etwa um die Hälfte (III. Fig. 2c). Zugleich erscheint sie bei seitlicher Ansicht gleichmäßig zusammengesetzt aus feinen Stäbchen, die bei der Aufsicht als kleine Körnchen sich zeigen, und über welchen gewöhnlich noch eine zarte homogene Schicht liegt. Sowie wieder Wasser hinzutritt, quellen sichtbar die Stäbchen und zwar so lange, bis die ursprüngliche homogene Scheide wiederhergestellt ist. Genau dasselbe Verhalten spricht sich bei *Zygnema B* gegenüber Alkohol aus; jedoch habe ich die peripherische homogene Lage nicht bemerkt.

b) durch Glykose-Pepton.

Bei einem Aufenthalt der Zygnemen *A* in einer Lösung von 1% Glykose und 0,5 Pepton (häufig weiterhin als Glyk.-Ppt. bezeichnet) lagert sich in die Gallertscheide eine stickstoffhaltige Substanz ein. Zugleich tritt damit sehr klar und scharf die Stäbchenstruktur hervor. Mit Ausnahme einer peripherischen, nicht immer sichtbaren Schicht besteht die Scheide aus dichtgelagerten Stäbchen, welche je nach den Fäden bald sehr fein und gleichmäßig dick, bald auch stärker und nach außen allmählich verjüngt erscheinen (III. Fig. 2a, 2d). An den Stellen, welche den Querwänden

¹⁾ Solche Stäbchen sind besonders in der Gallertscheide von der *Spirogyra orthospira* NÄGELI häufig beobachtet und ihre Bakteriennatur von STRASBURGER nachgewiesen worden (Bau und Wachstum der Zellhäute. 1882. p. 69).

entsprechen, und welche durch eine kleine Einbuchtung an der Peripherie der Scheide gekennzeichnet sind, neigen gewöhnlich die angrenzenden Stäbchen konvergierend gegen einander (III. Fig. 2 *a*). Bisweilen sind überhaupt in der ganzen Scheide eines Fadens die Stäbchen in einzelnen Gruppen angeordnet, jede aus einem Bündel von oben auseinander strahlenden Stäbchen gebildet (Fig. 2 *b*).

Bei jenen Formen von *Zyg. A*, welche eine schmalere Scheide besitzen, zeigen sich bei der Seitenansicht entsprechend kürzere Stäbchen. Bei der Aufsicht treten dieselben aber nicht als nebeneinander liegende Körnchen auf; vielmehr erblickt man ein deutliches Netzwerk, dessen Maschen je nach Zellen und Fäden sehr verschieden eng, dessen Balken meist deutlich geschlängelt sind (III. Fig. 4 *b*). In den ausgesprochenen Fällen nimmt das Netzwerk den inneren Theil der Scheide ein, von welchem nach außen stäbchenartige Elemente ausgehen, wie es scheint, besonders von den Schnittpunkten des Netzes aus.

c) Durch Farbstoffe.

Am intensivsten färben Methylviolett, Methylenblau, Vesuvin die Gallertscheide. Verdünnte Lösungen, besonders der beiden ersteren, rufen die Färbung an lebenden Fäden hervor, ohne für kurze Zeit zu schädigen. Zunächst lagert sich der Farbstoff vollkommen homogen in die Scheide ein. Steigert man jedoch die Konzentration, so tritt sehr bald die Stäbchenstruktur sowohl bei *Zyg. A* wie *B* ausgezeichnet hervor. Sehr merkwürdig ist die Wirkung der Farbstoffe bei noch größerer Konzentration, insofern eine allmähliche Kontraktion der ganzen Scheide merkbar wird. Hierbei muss das Wasser derselben in einem noch höheren Grade durch den Farbstoff verdrängt resp. ausgetrieben werden, als bei der Wirkung des absoluten Alkohol, da bei *Zyg. A* die durch den Farbstoff kontrahierte Scheide schmäler ist, als die mit Alkohol behandelte ¹⁾. Augenscheinlich geht aber im ersteren Falle ein ganz anderer Prozess vor sich, da die Stäbchen selbst nicht unverändert bleiben, sondern sich anscheinend zusammenlegen zu einzelnen dickeren Gruppen. Denn der Unterschied in der Dicke der Stäbchen bei schwacher und starker Färbung ist größer, als der Kontraktion eines einzelnen Stäbchens entsprechen würde (vgl. III. Fig. 5 schwach gefärbt, Fig. 6 intensiv gefärbt; *a* Aufsicht, *b* Seitenansicht). Nach dem Auswaschen des Farbstoffes nimmt die Scheide allmählich ihr normales Aussehen an.

Zyg. B zeigt nach Behandlung mit Farbstoffen wesentlich dieselbe Struktur, wie sie vorhin für die schmäleren Formen von *Zyg. A* angegeben wurde, d. h. ein sehr verschieden enges Netzwerk, von welchem an den Netzpunkten oder häufig an allen Balken kleine Stäbchen sich erheben (III. Fig. 4 *a*). Im Einzelnen finden sich mannigfache Verschiedenheiten, von

¹⁾ Die mit Vesuvin schwach gelb gefärbte Gallertscheide von *Zyg. A* hatte eine Breite von 16 μ , die intensiv braunrothe hatte ihre Breite bis auf 2,7 μ verengert, was auf eine ganz enorme Kontraktion hinweist.

denen hier übrigens nicht festgestellt ist, inwieweit sie von der Individualität der Zelle oder der Wirkung verschiedener Konzentration abhängig sind. Ein häufiges Vorkommen zeigt sich darin, dass statt des Netzes mit runden Maschen ein solches mit engen und sehr lang gestreckten sichtbar ist, wobei die Balken als lange schief zur Zellachse verlaufende, etwas gewellte Fäden erscheinen (III. Fig. 1 b).

d) Durch Einlagerung von Thonerde-, Chromoxyd-, Eisenoxyd-Verbindungen.

Bei der Einlagerung verschiedener unlöslicher Verbindungen in die Gallertscheide (näheres folgt weiter unten) vertheilen sich die einen Niederschläge homogen; die oben genannten rufen sehr scharf die mehrfach berührte Struktur hervor. Die Scheide von *Zyg. B* verhält sich nach Einlagerung von borsaurem Chromoxyd, ferner Chromoxydhydrat, Thonerde, Eisenoxydhydrat wie nach Färbung mit Methylviolett. Das Netzwerk ist verschieden eng, auf den Balken erheben sich die Stäbchen. Bei Einlagerung von phosphorsaurem, arsensaurem Chromoxyd erschien das Netzwerk relativ grobmaschig, seine Balken fast glatt, während bei der Seitenansicht weit auseinander stehende Stäbchen sichtbar waren, welche den Schnittpunkten des Netzes entsprachen und durch nach außen konkave Lamellen verbunden schienen. Bei *Zyg. A* α und β tritt nach Einlagerung von Thonerde, Eisenoxydhydrat, Chromoxydhydrat die Stäbchenstruktur sehr deutlich hervor.

Als Resultat der Untersuchung ergibt sich, dass die Gallertscheide von *Zyg. A* und *B* eine bestimmte Organisation besitzt, welche darin hervortritt, dass in einer Grundsubstanz sich Elemente finden, welche sich durch besondere Dichte und größere Anziehungskraft für Farbstoffe, gewisse stickstoffhaltige Substanzen, Thonerde-Chromoxydverbindungen auszeichnen. Diese Elemente erscheinen entweder als isolirte Stäbchen oder als solche Stäbchen, welche in dem inneren Theil der Scheide zu einem Netzwerk vereinigt sind.

Nicht so auffällig erweist sich die Struktur der Gallertscheide von *Zyg. C*. In absolutem Alkohol zieht sie sich sehr stark zusammen, so dass sie neben der Zellwand kaum bemerkbar ist, zeigt dann aber deutlich eine Zusammensetzung aus Körnchen, welche bei Wasserzutritt wieder verquellen. Methylenblau und Thonerde- und Chromoxydverbindungen rufen keine deutliche Stäbchenstruktur hervor, die jedoch bei sehr starker Einlagerung von Eisenoxydhydrat eintritt, welche stattfindet, wenn man die Zygneten in 0,1 % essigsurem Eisenoxyd kultivirt. Die körnige Struktur, welcher bei seitlicher Ansicht eine zarte Streifung entspricht, findet sich auch in Gallertscheiden, welche in Glyk.-Ppt. gelegen haben. Die Auffassung ist daher berechtigt, nach der auch bei *Zyg. C* dieselbe Organisation wie bei *Zyg. A* und *B* vorhanden ist, mit dem Unterschiede, dass die stäbchenartigen Elemente sehr fein und dicht gelagert sind.

An der sehr zarten und schmalen Gallertscheide von *Zyg. D.* konnte bisher keine deutliche Struktur beobachtet werden.

2. Die Eigenschaften der Gallertscheide.

Zu einer näheren Untersuchung der Eigenschaften der Gallertscheide gab eine merkwürdige Erscheinung Veranlassung, welche von Prof. PFEFFER zuerst gesehen wurde und die er dann so freundlich war, mir zur weiteren Erforschung zu überlassen. Er machte die Beobachtung, dass bei lebenden Zygneten, in deren Gallertscheide er Berliner Blau, resp. Turnbull's Blau niederschlug, nach 1—2 Tagen die Scheide mitsamt dem Niederschlage durch einen Quellungs Vorgang abgestoßen wurde; zugleich trat eine Verfärbung des Berliner Blaus in ein schmutziges Gelb ein. Es kam darauf an, über die Ursachen, den Verlauf dieser Quellungserscheinungen sich Klarheit zu verschaffen.

A. Methode der Einlagerung.

Die Methode ist im Prinzip dieselbe, welche in der Farbentechnik zur Erzeugung des Berliner Blaus in vegetabilischen Geweben angewandt wird, und welche LEBER¹⁾ für die Untersuchung der Hirnhaut gebraucht hat. PFEFFER²⁾ modifizierte die Methode in der Weise, dass das Berliner Blau in die peripherischen Zellhüllen lebender Zellen niedergeschlagen werden konnte, ohne dieselben dadurch zu schädigen. Nach seinen Versuchen ist es das Geeignetste, verdünnte Lösungen (0,2—0,25 %) von milchsaurem Eisenoxydul und Ferridcyan kalium anzuwenden. Von den Zygneten wird eine Anzahl mit einem Faden in der Mitte zusammengebunden, während 1—2 Minuten in das Eisensalz getaucht, dann einen Moment durch frisches Wasser gezogen und jetzt in das Ferridcyan kalium gebracht. In der Gallerte, die Eisensalz imbibirt enthält, schlägt sich das Turnbull's Blau nieder, in sehr geringer Menge aber vollständig fixirt. Aus der Lösung von Ferridcyan kalium bringt man die noch kaum gefärbten Zygneten wieder in das Eisensalz und wieder zurück, und so gelingt es durch mehrmalige Wiederholung des Prozesses, die Gallertscheide tief blau zu färben. Die wesentlich ungeschädigten Zygneten werden dann in reinem Wasser weiter kultivirt.

Nach derselben Methode kann man die verschiedenartigsten anorganischen wie organischen Verbindungen in die Gallertscheide lebender Zygneten niederschlagen. Die Konzentration der angewandten Lösung richtete sich nach der Schädlichkeit derselben und schwankte zwischen 0,4 und 0,5 %. In sehr schädliche Flüssigkeiten wurden die Algen auch nur sehr kurze Momente, dann aber häufiger wiederholt eingetaucht, wobei jedoch kleine Pausen gemacht wurden, in denen die Algen in reinem Wasser von der etwa in's Innere eingedrungenen Substanz sich wieder befreien konnten.

1) Vergl. GIERKE, Färberei zu mikroskopischen Zwecken. 1885. p. 77, 89.

2) Vergl. PFEFFER, Über Aufnahme von Anilinfarben, dieses Heft p. 277.

Im allgemeinen zeichnen sich die Zygnumen gerade in Folge des Besitzes ihrer Gallertscheide dadurch aus, dass die Salzlösungen relativ langsam in das Zellinnere eindringen, langsamer z. B. als bei den meisten Spirogyren, die sehr viel leichter absterben. So ist es möglich, Blei-, Schwefel-Verbindungen in die Scheide niederzuschlagen, selbst mit Hilfe sehr verdünnten Alkalis Metalloxyde, wenn auch im letzteren Falle immer nur ein kleinerer Theil der Fäden den Prozess lebend übersteht.

B. Verfärbung und Verquellung.

Wie oben kurz bemerkt wurde, befreien sich die Zygnumen, in deren Scheide Berliner Blau¹⁾ vorhanden ist, von demselben, indem die Gallertmasse in Quellung geräth und in faltigen weit abstehenden Massen abgestoßen wird (III. Fig. 12), in denen der Niederschlag enthalten ist. Die Verfärbung des Berliner Blaus, welche zugleich dabei beobachtet wurde, beruhte auf einer Zersetzung desselben, durch die es in Eisenoxydhydrat übergeführt worden war. Fügte man Ferrocyankalium und etwas Salzsäure hinzu, so wurde in der Gallerte das Berliner Blau regenerirt.

Diese Zersetzung konnte nach bekannten Erfahrungen nur von einem Alkali herrühren, was dadurch bewiesen wurde, dass, wenn man die blau gefärbten Zygnumen in schwach sauren Flüssigkeiten (z. B. in 0,02 % Zitronensäure, 0,04 % Weinsäure, 0,004 % Phosphorsäure, am einfachsten in 0,05—0,4 % Dikaliumphosphat) kultivirte, die Verfärbung der abgestoßenen Gallerte nicht eintrat. Dagegen ging die Zersetzung sehr viel lebhafter vor sich bei der Kultur der anfangs blauen Algenfäden in 0,04—0,4 % kohlen-saurem Natron. Darnach musste ein Alkali bei der Verfärbung betheilig-t sein und der Gedanke lag nahe, dass dasselbe auch die Verquellung herbeifüh-re. Jedoch wurde diese Annahme widerlegt dadurch, 1) dass in Alkali lösliche Verbindungen, wie Chromgelb, nach der Abstoßung in der Gallerte sich unverändert vorfanden; 2) dass die Lösung des in die Scheide einge-lagerten Chromgelbs durch Alkali bei vorher getödteten Zygnumen keine Verquellung bewirkte; 3) vor allem dass durch Alkali nicht zersetz-bare Verbindungen wie phosphorsaurer Kalk, phosphorsaures Uranyl die Ab-stoßung der Gallerte hervorriefen.

Die Untersuchung zeigte, dass die Zersetzung des Berliner Blaus nur eine sekundäre Erscheinung ist, welche dadurch bedingt wird, dass das Wasser in der Gallerte sowie in deren Umgebung infolge der Assimilation der Algen alkalisch wird. Mit Sublimat getödtete, blau gefärbte Zygnumen entfärben sich in schwach alkalischem Wasser (0,4 % Kali), ohne Verquel-lung zu zeigen. In der Dunkelheit tritt keine Verfärbung ein, wenn man für neutrale oder schwach saure Reaktion des Wassers Sorge trägt. Es ist eine leicht zu beobachtende Thatsache, dass die im Licht assimilirenden

¹⁾ Ich spreche im Folgenden stets nur von Berliner Blau, da dieses und das Turnbull's Blau, das ich häufiger anwandte, sich vollständig gleich verhalten.

Algen das Wasser alkalisch machen, wenn man etwas wässrige Phenolphthaleinlösung zufügt. In dem Maße wie die Assimilation vor sich geht, nimmt das Wasser eine tief rothe Farbe an, welche allmählich verschwindet bei anhaltender Verdunkelung. Es erklärt sich die Erscheinung einfach daraus, dass die Algen nicht bloß die im Wasser absorbirte, sondern auch zum Theil die an die sauren kohlen-sauren Salze gebundene Kohlensäure an sich ziehen, infolgedessen die alkalisch reagirenden Verbindungen entstehen, während im Dunkeln durch die Athmung der umgekehrte Prozess sich geltend macht. Bei der äußerst feinen Vertheilung und der, absolut genommen, sehr geringen Menge des Berliner Blaus in der Gallerte genügt ein sehr schwaches Alkali zu seiner Zersetzung.

Jedenfalls muss eine andere Ursache bei der Abstoßung des Niederschlages thätig sein. Die angewandten Lösungen selbst spielten ebenfalls keine Rolle dabei, da in Kulturversuchen der Zygomen in 0,25% milch-saurem Eisenoxydul und 0,25% Ferridcyan-kalium, worin die Algen 16—48 Stunden lebend aushalten, keine Veränderung der Gallertscheiden zu beobachten war. Die zunächst liegende Frage war, ob die Verquellung überhaupt durch die bestimmte chemische Natur des Niederschlages bedingt sei.

C. Einlagerung verschiedenartiger Niederschläge.

Nach der früher angegebenen Methode und den aus den Lehrbüchern der Chemie bekannten Reaktionen wurden hauptsächlich in der Gallertscheide von *Zyg. B.* und *C.* sehr verschiedene Verbindungen niedergeschlagen, von denen ein Theil die Abstoßung durch Verquellung der Gallerte hervorrief, ein anderer Theil dagegen nicht.

Folgende Niederschläge wurden von *Zyg. B.* abgestoßen.

Art der Niederschläge.	Angewandte Lösungen.	Aussehen der Gallertscheide.
Phosphorsaurer Kalk	0,5 salpetersaurer Kalk 0,5 Dikaliumphosphat	weiß, feinkörnig. 1)
Schwefelzink	0,25 Zinkvitriol Schwefelwasserstoffwasser	hell bräunlich feinkörnig.
Schwefelcadmium	0,25 borwolframs. Cadmium Schwefelwasserstoffwasser	gelb, anscheinend homogen.
Arsensaur. Bleioxyd	0,25 essigs. Blei 0,25 arsens. Kali	weiß, feinkörnig.
Phosphorsaures -	0,25 essigs. Blei 0,25 Dikaliumphosphat	weiß bis hell bräunlich, feinkörnig.
Molybdänsaures -	0,25 essigs. Blei 0,25 molybdäns. Ammoniak	hell bräunlich, feinkörnig.

1) Die Bezeichnung fein-, grobkörnig, homogen wurde nach dem Aussehen bei Untersuchung mit Wasser- resp. Ölimmersion bestimmt.

Art des Niederschlages.	Angewandte Lösungen.	Aussehen der Gallertscheide.
Vanadinsaures Bleioxyd	0,25 essigs. Blei 0,25 vanadins. Ammoniak	gelblich, feinkörnig, an der Peripherie krustenartig.
Chromsaures - (Chromgelb)	0,25 essigs. Blei 0,25 chroms. Kali	gelb, homogen bis feinkörnig.
Schwefelblei	0,25 essigs. Blei Schwefelwasserstoffwasser	braunschwarz, sehr feinkörnig.
Arsensaures Kupferoxyd	0,4 essigs. Kupfer 0,2 arsens. Kali	gelbgrünlich, feinkörnig.
Schwefelkupfer	0,4 essigs. Kupfer Schwefelwasserstoffwasser	braunschwarz, feinkörnig.
Phosphorsaure Thonerde	0,5 Alaun 0,5 Dikaliumphosphat	weiß, Stäbchenstruktur.
Phosphorsaures Uranyl	0,25 salpeters. Uran 0,25 Dikaliumphosphat	weiß, feinkörnig.
Ferrocyanzink	0,25 Ferrocyankalium 0,25 Zinkvitriol	weiß, feinkörnig.
Ferrocyanblei	0,25 Ferrocyankalium 0,25 essigs. Blei	weiß, sehr grobkörnig.
Ferrocyankupfer	0,2 Ferrocyankalium 0,2 essigs. Kupfer	rothbraun, feinkörnig.
Ferridcyaneisen (Turnbull's Blau)	0,25 Ferridcyankalium 0,25 milchs. Eisenoxydul	blau, homogen.
Ferrocyankobalt	0,25 Ferrocyankalium 0,25 schwefels. Kobalt	hell bläulichgrün, feinkörnig.
Alizarin-Bleioxyd ¹⁾	0,2 essigs. Blei Alizarinlösung ²⁾	rothviolett, homogen.
Karmin- -	0,2 essigs. Blei Kochenille-Extrakt	blauviolett, homogen.
Hämatein- -	0,2 essigs. Blei 0,4 Hämatein	blau, homogen.
Brasilin- -	0,2 essigs. Blei Gelbholz-Extrakt	rosa, homogen.
Gerbsaurer Leim	0,5 Leimlösung 0,25 Tannin	gelbbraunlich, feinkörnig.

1) Bei den Verbindungen der Gerbstoffe mit Metalloxyden habe ich mich einfach begnügt, den Namen des Farbstoffes mit dem des Oxydes zu verbinden, ohne auf die chemische Natur der Verbindung näher einzugehen.

2) Alizarin in Wasser, das eine Spur Alkali enthält, gelöst.

Folgende Verbindungen werden von *Zygnema C.* abgestoßen.

Zinkoxydhydrat,
 Borsaures Bleioxyd,
 Chromsaures Bleioxyd,
 Kieselsaures -
 Phosphorsaure Thonerde,
 Kieselsaure -
 Borsäure -
 Molybdänsaures Eisenoxyd,
 Vanadinsaures Eisenoxydul,
 Kohlensaures Kobaltoxydul,
 Phosphorsaures -
 Manganoxyduloxydhydrat,
 Berliner Blau,
 Ferrocyanokobalt,
 Katechu-Bleioxyd,
 Katechu-Eisenoxyd,
 Krocinscharlach-Bleioxyd.
 Hämatein- -
 Hämatoxylin- -
 Gerbsaures Blei,
 Gerbsaures Pepton,
 Gerbsaures Methylenblau,
 Albumin-Bleioxyd.

Die Abstoßung der Niederschläge geht in den einzelnen Versuchen nicht bei allen Verbindungen in gleicher Weise vor sich, worauf ich noch später zurückkommen werde. Hier ist nur hervorzuheben, dass auch bei den sehr schädlichen Kupfer-, Schwefelverbindungen an einer Anzahl lebend gebliebener Fäden unzweifelhafte Abstoßung beobachtet wurde. Zunächst ergibt sich als wichtige Thatsache, dass die allerverschiedenartigsten Verbindungen durch Quellung der Gallertscheide von den Zygneimen abgestoßen werden, so dass ein Einfluss des chemischen Charakters bei diesem Vorgang von vorn herein ausgeschlossen erscheint. Abgesehen von ganz wenigen Fällen, in denen sekundäre Erscheinungen eintreten, findet auch während der Abstoßung, resp. durch dieselbe keine chemische Veränderung des Niederschlages statt¹⁾. Vielmehr wird man zu der Vorstellung gedrängt,

1) Solche Veränderungen traten außer bei Einlagerung von Berliner Blau und dem analog sich verhaltenden Ferrocyanuran bei jenen Zygneimen hervor, in deren Scheide Schwefeleisen oder Schwefelblei niedergeschlagen wurde. Im ersteren Falle wird die Gallerte entfärbt, in den stets dabei absterbenden Zellen treten schwarze glänzende Körner auf. Dieser Zersetzungsprozess geht im Licht schneller vor sich, als im Dunkeln und erfolgt auch bei vorher getödteten Zygneimen. Analog ist die

dass das Vorhandensein fester Körpertheilchen zwischen den Theilchen der Gallertscheide die mechanische Veranlassung von Prozessen ist, welche mit der Abstoßung der Scheide sammt Niederschlag ihr Ende finden. Diese Anschauung wurde bestätigt resp. erweitert durch das Verhalten einiger anderer Niederschläge, welche nicht homogen oder in äußerst feinen Körnchen sich in die Gallerte einlagerten, sondern in Form von deutlich sichtbaren Kryställchen. Solche ausgebildet krystallinischen Niederschläge werden nicht in bestimmter Weise durch einen Quellungsprozess abgestoßen, sondern bleiben wochenlang unverändert in der Gallerte, aus der sie schließlich nach und nach verschwinden.

Folgende Niederschläge zeigten das angegebene Verhalten :

bei <i>Zyg. B.</i>	bei <i>Zyg. C.</i>
Schwefelsaures Bleioxyd	Schwefelsaurer Baryt,
Benzoesaures Bleioxyd	Chromsaurer Baryt
Jodblei	Kohlensaurer Kalk
	Oxalsaurer Kalk
	Bas. kohlen-saures Bleioxyd
	Weinsaures Bleioxyd
	Jodsaures Bleioxyd.

Sehr klar ergibt sich der Einfluss der Form, in welcher der Niederschlag in der Gallerte erscheint, bei einem Vergleich der verschiedenen Bleioxydverbindungen, welche mit Vorliebe von mir angewandt worden sind, weil sie sehr schwer löslich sind und leicht aus verdünnten Lösungen ausfallen. In der Menge der geprüften Bleisalze finden wir eine ganz allmähliche Stufenreihe von dem grobkrySTALLINISCH sich einlagernden weinsauren Blei oder Jodblei bis zu dem sehr fein, häufig homogen vertheilten Chromgelb. Die grobkörnigen Niederschläge bewirken keine Veränderung der Gallerte, die feinkörnigen werden abgestoßen. Etwa auf der Grenze von beiden Gruppen steht Ferrocyanblei, dem sich auch borsaures Blei anzuschließen scheint. Beide finden sich in Form deutlich erkennbarer Körner, resp. von Nadelchen in der Gallerte und fallen leicht heraus, so dass ich bei den ersten Versuchen mit Ferrocyanblei überhaupt keine Abstoßung zu beobachten glaubte. Erst bei ungestörtem Liegen der Fäden auf dem Objekträger sah man eine die Körner enthaltende Schicht blasig abheben oder in hautartigen Fetzen abgestoßen, welche mit Methylenblau sich deutlich färbten. Mit der Größe der noch sichtbaren Theilchen des Niederschlages steht auch die Fähigkeit desselben im Zusammenhange, mit Hilfe weniger Gallertmasse zu einer hautartigen Schicht verklebt zu werden, was

Zersetzung des Schwefelbleis, welche hauptsächlich im Licht vor sich geht, wobei die Fäden schnell absterben und die Gallerte keine Verquellung zeigt, während letztere bei einer gleichzeitigen, aber dunkel gehaltenen Probe zu Stande kommt. Bei der Zersetzung wird die Gallerte entfärbt, der Zellinhalt färbt sich rothbraun.

für die Abstoßung ebenfalls eine Vorbedingung ist. Fällt man aus sehr verdünnten Lösungen (0,1—0,2%) den schwefelsauren Baryt, so lagert er sich in der Gallerte in einzelnen größeren Krystallen ab, welche zu groß und zu schwer sind, um leicht mit einander zu verkleben, während bei Fällung aus 4% Lösung die Theilchen kleiner sind und sehr viel dichter sich einlagern, so dass man mitunter an einzelnen Stellen in der That ein blasenförmiges Abheben einer gallerthaltigen Krystallschicht beobachtet.

Der Anschauung, dass wesentlich die physikalische Natur des Niederschlages bei dem Abstoßungsprozess maßgebend ist, scheint nun auf den ersten Blick das Verhalten einiger anderer Niederschläge zu widersprechen, welche sämmtlich außerordentlich fein vertheilt in die Gallertscheide sich einlagern und doch nicht oder nur in sehr beschränktem Maße abgestoßen werden. Am schärfsten spricht sich das Verhalten solcher Verbindungen bei *Zygnema B.* aus. Folgende Salze wurden bei mehrfach wiederholten Versuchen nicht abgestoßen:

Eisenoxydhydrat	Thonerde	Chromoxydhydrat
Eisenoxydhydrat-Hämatoxylin	Thonerde-Alizarin	Arsensaures Chromoxyd
Arsensaures Eisenoxyd	Arsens. Thonerde	Borsaures -
Benzoesaures -	—	Chromsaures -
Borsaures -	Gerbsaures Eisen	Phosphorsaures -
Phosphorsaures -	Gerbsaures Kupfer	—
Schwefeleisen	Gerbsaures Blei	Ferrocyanuran
Katechueisenoxyd	—	
Weinsaures Antimonyleisen		

Von diesen Verbindungen gehört der größte Theil ihrer Basis nach zu den Oxyden der drei Metalle Eisen, Aluminium, Chrom, gerade solche Elemente, welche einer gemeinsamen chemischen Gruppe angehören und deren Verbindungen in physikalischer Beziehung sich durch ihre gallertartige Natur auszeichnen. Dieselben Metalloxyde sind es auch, welche von den vegetabilischen Gewebefasern mit so großer Kraft fixirt werden, dass sie eine höchst ausgedehnte Anwendung als Beizen zur Erzeugung echter Farben auf Baumwolle in der Färbetechnik finden. Die Gallertscheiden der Zygmenen verhalten sich in dieser Beziehung ähnlich der Baumwolle, insofern eine echte Färbung mit Alizarinroth, Hämatoxylinblau, Katechubraun nur möglich ist nach vorhergehender Beizung und hierfür die genannten Metalloxyde am geeignetsten sind, weil die Gallerte wie die Zellhaut eine spezifisch lebhaftere Anziehungskraft auf diese Oxyde ausüben. Sehr klar tritt diese Anziehung z. B. hervor, wenn man die Zygmenen in 0,1% essigsaurem Eisen kultivirt. Nach 24 Stunden hat sich die Scheide intensiv gelbroth gefärbt, indem sie aus der leicht zersetzbaren Verbindung das Eisenoxydhydrat herauszieht und in sich fixirt. So vermag auch die Scheide Alaun zu fixiren, weshalb Hämatoxylin, das für sich nicht färbt, bei Alaun-

zusatz die Gallerte tief blau färbt¹⁾. Aber auch aus einer anderen Erscheinung folgt die spezifische Verwandtschaft der Gallertscheide zu den drei Oxyden. Sie nebst ihren Salzen sind die einzigen Verbindungen (von den Farbstoffen abgesehen), welche bei *Zygnema B.* die Stäbchenstruktur hervorrufen (vergl. p. 338) was darauf hinweist, dass bestimmte Bestandtheile der Scheide diese Anziehungskraft ausüben, und zwar sind es gerade diejenigen, auf welchen, wie wir sehen werden, die wesentlichsten Eigenschaften der Gallerte beruhen. Am schärfsten treten die Strukturen bei Chromoxyd-, dann bei Thonerdeverbindungen auf, nicht immer bei Eisenoxydsalzen, bei denen, wie es scheint, dazu eine besonders intensive Einlagerung nothwendig ist. In der neueren Zeit neigt man dazu, die Vereinigung der vegetabilischen Faser mit den Metalloxyden nicht als eine chemische Verbindung aufzufassen, sondern als eine solche, welche auf der physikalischen Eigenschaft der Oberflächenanziehung beruht, ohne dass übrigens diese selbst bisher näher erklärt worden ist²⁾. Jedenfalls können wir wohl mit Recht sagen, dass die spezifische Verwandtschaft der Eisenoxyd-, Thonerde-, Chromoxyd-Verbindungen mit der Gallertscheide die Veranlassung ist, dass diese Niederschläge nicht abgestoßen werden³⁾.

Eine zweite Gruppe jener Verbindungen, welche, einmal eingelagert, in der Scheide unverändert bleiben, stellen gewisse gerbsaure Salze dar. Für dieselben gilt im wesentlichen das Gleiche, wie für die Metalloxyde. Denn auch die Gerbsäure wird mit besonderer Vorliebe von vegetabilischen Zellhäuten festgehalten; auch sie findet als Beize besonders für zahlreiche sonst so schwer fixirbare Anilinfarbstoffe eine große Anwendung in der Technik. Die Gallerte der Zygnemen wie überhaupt die der verschiedenartigsten niederen Organismen besitzen dieselbe Verwandtschaft, was man mitunter sehr mit Vortheil zum Nachweis benutzen kann⁴⁾.

1) Vergl. auch GIERKE, Färberei zu mikroskopischen Zwecken. 1883. p. 242.

2) Über die ganze Frage vergl. GIERKE, Färberei zu mikroskopischen Zwecken. p. 185—219.

3) Wenn in dieselbe Gallertscheide von *Zyg. B.* ein die Abstoßung hervorrufer und ein dieselbe nicht bewirkender Niederschlag eingelagert wird, so wird durch den ersteren dennoch die Quellung der Gallerte veranlasst und der andere Niederschlag mitgerissen. So geschieht es z. B. bei Einlagerung von Chromgelb und Thonerde, wobei es gleichgültig ist, ob zuerst Chromgelb oder die Thonerde niedergeschlagen wird, ebenso auch bei Einlagerung von Thonerde und vanadinsaurem Blei. Dagegen bei Berliner Blau und Thonerde, ferner Eisenoxydhydrat und Chromgelb wurde nur eine geringe Verquellung beobachtet.

4) Obwohl Tanninlösung mit manchen Anilinfarbstoffen, wie Methylenblau, Vesuvin, Fällungen gibt, so bleibt doch bei Gegenwart überschüssiger Gerbsäure das gerbsaure Salz zum Theil in Lösung und dieselbe kann nun als treffliches Färbemittel dienen, da der Farbstoff gleich fixirt wird. Besonders angewendet habe ich mehrfach gerbsaures Vesuvin, weil damit manche sonst schwer färbbare Gallerte, wie z. B. von *Gonium*, sich sicher nachweisen lässt. Doch haben diese Lösungen den Übelstand, dass sie nur kurze Zeit sich halten.

Jedoch gibt es nun von den eben besprochenen Erscheinungen Ausnahmen, welche bis jetzt nicht näher zu erklären sind. Unter den Verbindungen der Eisengruppe sowie des Tannins gibt es einige, die abgestoßen werden, so von *Zygnema B.* die phosphorsaure Thonerde, der gerbsaure Leim (letzterer allerdings sehr ungleichmäßig). Andererseits verhalten sich andere *Zygnema*-Arten in etwas abweichender Weise. So besitzt *Zygnema C.* im allgemeinen eine größere Abstoßungsfähigkeit als *Zyg. B.* Unzweifelhaft Abstoßung wurde beobachtet nach Einlagerung von molybdänsaurem, phosphorsaurem Eisenoxyd, vanadinsaurem Eisenoxydul, phosphorsaurer, borsaurer Thonerde, phosphorsaurem Chromoxyd. Allerdings geht die Abstoßung selten so allgemein vor sich, wie etwa bei Chromgelb, Berliner Blau. Noch sehr viel spärlicher, in manchen Versuchen gar nicht tritt die Abstoßung bei Eisenoxydhydrat, Thonerde, Chromoxydhydrat, borsaurem Eisen und Chromoxyd, vanadinsaurem Eisenoxyd, ferner bei gerbsaurem Eisen, Ferrocyanuran auf, so dass man in der That auch für *Zygnema C.* behaupten kann, dass bei den Verbindungen der drei Elemente die Abstoßung auffallend beschränkt ist.

Von den verschiedenen Faktoren, welche dem verschiedenen Verhalten der einzelnen Arten zu Grunde liegen und welche vorläufig nicht genügend erkannt sind, will ich nur auf einen, der möglicherweise eine Rolle dabei spielt, hinweisen. Die genannten Verbindungen der Eisengruppe, sowie die Tanninsalze üben einen merkwürdig schädlichen Einfluss auf die lebenden Zellen aus und zwar in einem Grade, der in keinem Verhältnis steht zu der geringen Schädigung, welche durch die Art und Weise der Methode herbeigeführt wird. Vielmehr ist es augenscheinlich, dass die besonders fixe Einlagerung der Niederschläge tödtlich auf die Zellen einwirkt. Je weniger widerstandsfähig überhaupt die betreffende Algenart ist, um so schneller erfolgt der Tod. *Zygnema B.* gehört zum Beispiel zu den zarten Arten; sie kränkelt resp. stirbt größtentheils schon ab, selbst wenn ich nur wenig gerbsaures Eisen in ihre Gallerte niederschlug, aus Lösungen von 0,05 % milchsäurem Eisenoxydul, welches durch längeres Stehen oxydhaltig geworden war, und 0,05 % Tannin, also Lösungen, in denen die Algen tagelang aushalten. *Zygnema C.* mit ihren relativ dicken Membranen ist sehr viel widerstandsfähiger allen Verhältnissen gegenüber, erhält sich auch nach Einlagerung von gerbsaurem Eisen länger lebend und zeigt dann in der That ab und zu Spuren von Abstoßung. Jedoch ist hervorzuheben, dass mit dem schnellen Tod nur zum geringsten Theil der Mangel der Abstoßung erklärt ist.

Vollständig unerklärt ist das Verhalten des Ferrocyanurans. Die Ferrocyanverbindungen werden im allgemeinen sehr sicher und leicht abgestoßen, ebenso die Uranverbindungen. Um so mehr fällt das gegentheilige Verhalten des Ferrocyanurans auf. Bei wiederholten Versuchen sowohl mit *Zygnema B.* wie *C.* blieb die braunroth gefärbte Gallertscheide unver-

ändert. Dabei halten sich die Zellen eine ganze Reihe von Tagen lebend, viel länger als nach Einlagerung von Eisenoxydsalzen u. s. w. Allmählich im Laufe einer Woche tritt der Tod ein, zugleich verbunden mit einer Zersetzung des Ferrocyanurans, aus welchem Uran in unbekannter Verbindung in den Zellinhalt übergeht. Dieser Prozess geht auch im Dunkeln vor sich, sehr viel leichter allerdings im Licht, wobei dann die Zersetzung durch Alkali entsprechend wie beim Berliner Blau sehr befördert wird. Die leichte Zersetzbarkeit sowie das Aussehen sprechen dafür, dass das Ferrocyanuran in äußerst feiner Vertheilung in der Gallerte eingelagert ist. Der Gedanke lässt sich nicht ganz abweisen, dass vielleicht die Theilchen der Verbindung zu klein sind, um als Ursache der Abstoßung wirken zu können, dass wir daher auch ein Minimum in der Größe der Niederschlagstheilehen für ihre Wirksamkeit anzunehmen hätten, wie es ein Maximum in der That gibt. Jedoch eine nähere Begründung des Gedankens ließ sich bisher nicht ausführen.

Die andern *Zygnema*-Arten wurden nicht in dem Grade wie *B.* und *C.* in ihrem Verhalten Niederschlägen gegenüber untersucht. Für *Zygnema A.* mit der breiten Gallertscheide wurde festgestellt, dass eine Abstoßung erfolgt nach Einlagerung von Berliner Blau, Chromgelb, Ferrocyankobalt, phosphorsaurem Uranyl, dagegen nicht oder nur sehr spärlich bei Thonerde-Alizarin, phosphorsaurem Chromoxyd, vanadinsaurem Eisenoxyd, Ferrocyanuran. Im allgemeinen erfolgt bei *Zygnema A.* die Abstoßung nicht so gleichmäßig wie bei *Zygnema B.* und *C.*, da sich bei einem Versuch immer zahlreiche Fäden vorfinden, welche ihren Niederschlag nicht abstoßen, zum Theil früh abgestorben sind, oder auch noch lange damit leben.

Für *Zygnema D.* mit der sehr schmalen Scheide wurde festgestellt, dass Abstoßung bei Einlagerung von Chromgelb, nicht oder nur in beschränktem Maße bei Einlagerung von Thonerde-Alizarin erfolgt.

D. Die Art und Weise der Abstoßung.

In dem letzten Abschnitt wurde gezeigt, dass in erster Linie der Niederschlag in der Gallertscheide durch seine physikalische Beschaffenheit, durch die Größe und Anordnung seiner darin eingelagerten Theilchen wirkt. Bei den Niederschlägen der verschiedenartigen Verbindungen tritt der Prozess der Abstoßung nicht immer in der gleichen Weise ein, die Menge der eingelagerten Substanz spielt eine gewisse Rolle dabei, es machen sich individuelle, spezifische Verschiedenheiten der Algenfäden selbst bemerkbar, es zeigen sich Wirkungen der Einlagerungsmethode, Folgen der Einlagerung selbst an den lebenden Zellen, wobei dann Rückwirkungen auf die Abstoßung eintreten; kurz bei der Mannigfaltigkeit der einwirkenden Umstände gestaltet sich das Bild der Abstoßung eines Niederschlages verschieden und sehr wechselnd. Nur selten gelingt es, die

einzelnen Erscheinungsformen der Abstoßung als nothwendige Folgen bestimmter Verhältnisse zu erkennen.

An einem Beispiel möge zuerst der Verlauf der Abstoßung erläutert werden, und hierzu will ich die Wirkung der Einlagerung des von mir am meisten untersuchten Chromgelbs auf *Zygnema C.* schildern. Die Gallertscheide erscheint bei 3—5 maligem Eintauchen der Fäden in die beiden Lösungen des Bleizuckers und des Kaliummonochromats goldgelb und meist homogen gefärbt. Sofort nach der Einlagerung, ja schon während derselben beginnt die Abstoßung, indem an der Peripherie der Scheide sich Chromgelbkörnchen ansammeln, welche in lockeren unregelmäßigen Massen erscheinen oder sehr vielfach in Form feiner, dicht aufeinander folgender körniger Streifen oder in sehr verschieden großen und weiten blasenförmigen Ausstülpungen (III. Fig. 9, 40, 41), welche ganz besonders regelmäßig bei Abstoßung anderer Niederschläge, wie z. B. Katechueisenoxyd auftreten (III. Fig. 8). Es macht den Eindruck, als wenn die Chromgelbkörnchen aus der Scheide herausgleiten und sich an der Peripherie mit Hilfe mitgerissener Schleimtheile zu einer Haut vereinigen, welche dann in mannigfachster Weise abgehoben und abgestoßen wird. Vielfach erhält sie sich als ein weiter und weiter abstehender, hin und her gebuchteter Schlauch (III. Fig. 22) oder sie zerfällt in einzelne grob gefaltete Fetzen. Bisweilen nimmt diese sich abhebende Haut ein außerordentlich zierliches Aussehen an durch sehr regelmäßige, dabei mäandrisch durcheinander laufende Falten; noch schöner tritt diese Erscheinung häufig bei der Abstoßung des Berliner Blaus hervor (III. Fig. 12).

Als die wesentlichen Momente in dem Prozess der Abstoßung sind wohl hervorzuheben 1) die Ansammlung der vorher in der Gallerte gleichmäßig fein vertheilten Chromgelbtheilchen zu deutlicheren Körnchen, welche durch mitgerissenen Schleim verklebt werden, und 2) die Abstoßung dieser chromgelbhaltigen Schicht. Das Herausgleiten und die Abstoßung gehen nun nicht gleichmäßig an allen Fäden vor sich, sondern bald hier bald dort in sehr verschiedener Intensität und selbst an benachbarten Zellen machen sich Unterschiede bemerkbar. Am schnellsten geschieht die ganze Abstoßung bei sehr geringer Einlagerung; sie tritt ein selbst bei der geringsten Menge Chromgelb, welche nach der angewandten Methode sich überhaupt einlagern lässt, d. h. durch einmaliges kurzes Eintauchen in Bleizucker und Kaliummonochromat. Schon nach der ersten halben Stunde ist bei der Mehrzahl der Fäden das Chromgelb entfernt und die Gallertscheide erscheint vollkommen unverändert. Je intensiver man nun einlagert, desto mehr Zeit ist nothwendig, um sämtliches Chromgelb hinauszubefördern, und desto mehr von der Gallerte selbst wird in Mitleidenschaft gezogen. Bei 10 mal wiederholtem Eintauchen der Fäden in jede Lösung dauert es mehrere Tage, bis die meisten Fäden sich von dem Niederschlag befreit haben; die abgestoßenen Massen sind sehr dichtkörnig,

enthalten auch viel Gallerts substanz, so dass sie sich mit Methylenblau sehr intensiv färben. An den Fäden selbst erkennt man so gut wie nichts mehr von einer Gallertscheide, und auch mit Methylenblau lässt sie sich nicht mehr nachweisen. — Bei den Versuchen mit Berliner Blau geht im allgemeinen die Abstoßung nicht so rasch wie bei dem Chromgelb vor sich, namentlich nicht bei stärkerer Einlagerung. Dann besonders tritt eine Erscheinung häufig auf, welche auch bei der Abstoßung von Chromgelb und überhaupt von vielen anderen Niederschlägen sich zeigt. Die erste Abstoßung in Form nach außen sich erweiternder Blasen tritt sehr regelmäßig in der Nähe der Querwände auf¹⁾ (III. Fig. 7, 44), und die sich hervorwölbenden Blasen sind auch die erste Zeit stärker entwickelt als an dem übrigen Theile der Zelle. Erst wenn mehr und mehr Blasen nebeneinander stehen, dieselben sich dann bei stärkerer Abstoßung zu den zierlichen gefalteten und häufig netzförmig durchbrochenen Häuten vereinigen, verschwindet der Unterschied. Die abgestoßene Gallerthaut enthält das Berliner Blau in deutlich gesonderten Körnchen, während vor der Abstoßung der Niederschlag vollkommen homogen vertheilt ist. Bei schwacher Einlagerung, wenn direkt unter der abgestoßenen Gallerthaut die Scheide scheinbar unverändert wieder sichtbar ist, erweckt es den Eindruck, als wenn der Niederschlag überhaupt nur in der Peripherie eingelagert gewesen wäre. Jedoch ist es keinem Zweifel unterworfen, dass das Berliner Blau ebenso wie das Chromgelb auch dann vorher stets in der ganzen Scheide gleichmäßig vertheilt eingelagert war. Das bewiesen Querschnitte durch solche gefärbten Fäden, welche nach der Einlagerung oder auch vorher getödtet und dann in Gummi eingebettet waren. An solchen Schnitten erkannte man, dass bis dicht an die Zellwand der Niederschlag sich vorfand, an denjenigen Stellen, an welchen die Abstoßung etwa begonnen hatte, dagegen schon an der Peripherie angesammelt war.

Bei anderen Niederschlägen ist es nicht immer so sicher entschieden, ob sie die ganze Scheide durchlagern oder nur den peripherischen Theil derselben. Höchst wahrscheinlich, wenn man nach dem Aussehen urtheilt, wie Berliner Blau verhalten sich alle Verbindungen von Eisenoxyd, Thonerde, die verschiedenen Farbenlacke des Bleioxyds, Methylenblautannin u. s. w. Hauptsächlich, aber durchaus nicht ausschließlich sind dagegen in der Peripherie die Niederschläge von Ferrocyanblei, Ferrocyankobalt, borsaurem Bleioxyd, bei welchen gewöhnlich die Scheide fest, krustenartig erstarrt zu sein scheint. In diesen Fällen erfolgt übrigens vielfach die Abstoßung auch in ganz ähnlicher Weise, in lockeren faltigen oder blasigen Massen,

1) Ferrocyanuran wird von *Zyg. C.* meist ebensowenig abgestoßen, als von *Zyg. B.* Jedoch beobachtete ich an manchen Fäden Anfänge von Verquellung, insofern an manchen Querwänden ein wolkenartiges Hervorwölben einer zarten braunen Schleimmasse sich bemerkbar machte.

wie vorhin beschrieben, oder aber es erfolgt eine Absprengung in Stücken eines Cylindermantels wie bei dem borsäuren Bleioxyd, phosphorsauren Kalk, arsensauren Bleioxyd. In etwas abweichender Weise gestaltet sich die Abstoßung bei *Zygnema C.* nach Einlagerung der Chromoxydverbindungen, wie besonders von Chromoxydhydrat bei jener immerhin kleinen Anzahl von Fäden, wo der Prozess überhaupt stattfindet. Hierbei tritt die den Niederschlag mit sich führende Gallerte in ganz lockeren zarten, diffusen Schleimmassen heraus, welche außerdem ganz homogen erscheinen, so dass die feine Vertheilung des Niederschlages auch nach der Abstoßung beibehalten ist.

Zygnema A. und *B.* verhalten sich im wesentlichen bei der Abstoßung in gleicher Weise, wie *Zygnema C.*, insofern in den meisten Fällen die Gallerte mit dem Niederschlag in blasigen faltigen Häuten abgehoben wird; nur tritt bei ihnen die wichtige Frage auf, was aus den in ihrer Gallertscheide leicht erkennbaren Stäbchen bei dem Prozesse wird. Die zahlreichen Versuche besonders mit *Zygnema B.* haben ergeben, dass je nach der Menge der eingelagerten Substanz, vor allem je nach dem Grade der eintretenden Quellung wir die verschiedensten Zustände antreffen, von dem nach der Abstoßung scheinbar nicht veränderten Zustand der Stäbchen bis zum vollständigen Verschwinden derselben. So beobachtete ich nach der Abstoßung des Ferrocyankobalts, des molybdänsäuren Bleis und dann zugefügter Methylenblaulösung die Stäbchenstruktur noch schärfer hervortretend als gewöhnlich, was sich wohl daraus erklärt, dass eine Anzahl Stäbchen herausgequollen sind, und die zurückbleibenden deshalb um so klarer von einander gesondert erscheinen. In andern Fällen, z. B. im Versuch mit Ferrocyanzink, schienen die Stäbchen kürzer geworden zu sein; nach lebhafter Abstoßung des Berliner Blaus treten überhaupt keine Stäbchen mehr hervor. Jedoch zeigt sich dicht der Zellwand anliegend ein sehr zartes engmaschiges blau gefärbtes Netzwerk oder eine sehr dünne Schicht dicht zusammenliegender Körnchen als letzter Rest, welcher überhaupt nur in den seltensten Fällen ganz abgestoßen wird. Da gewöhnlich in einer Probe bei den verschiedenen Fäden die Einlagerung in verschiedenem Grade eintritt und außerdem, wie schon betont, die Abstoßung je nach den Fäden, ja Zellen desselben Fadens ungleichzeitig und ungleichmäßig vor sich geht, findet man auch alle Grade in dem Verschwinden der Stäbchen.

Erst im weiteren Laufe der Untersuchung wurde ich auf die Thatsache aufmerksam, dass selbst bei dem anscheinend vollständigsten Abstoßen der Scheide dieselbe doch stets in Form einer etwas schmäleren strukturlosen Schicht übrig bleibt, welche sich nicht mehr mit Farbstoffen wie Methylenblau färbt und nur sichtbar wird nach erneuter Einlagerung eines Niederschlages. Der mit Methylenblau färbbare, in Form der Stäbchen auftretende Bestandtheil ist es, welcher allein bei der Abstoßung betheiligt ist. Die

Trennung der beiden, die normale Gallertscheide zusammensetzenden Theile lässt sich aber auf anderem Wege leichter durchführen, ich komme später noch ausführlicher darauf zurück.

Eine sehr häufige Erscheinung, welche nach Einlagerung von Niederschlägen in die Gallertscheide erfolgt und theils unmittelbar, theils mittelbar mit dem Prozess der Abstoßung zusammenhängt, ist das Auseinanderfallen der Fäden in einzelne Zellen resp. kurze Zellstücke. Bei den verschiedenartigsten Niederschlägen tritt der Zerfall ein, bei dem einen Versuch oft sehr lebhaft, bei einem andern sehr viel weniger. Viel scheint es darauf anzukommen, ob der Niederschlag sehr fein vertheilt ist und ob er besonders an oder auch in die äußerste Zellhautschicht sich lagert. Bisweilen, so z. B. bei Versuchen mit phosphorsaurem Uranyl, welches in *Zygnema B.* eingelagert war, betraf lebhaftere Verquellung gerade die an den Querwänden befindlichen Theile der Gallerte, so dass die Zellen, welche sich trennten, sehr weit von einander entfernt wurden. Meistens jedoch erscheint diese Lösung der Zellen aus dem Verbande gerade bei sehr wenig lebhafter Abstoßung als ein anderes Mittel, sich vor dem schädlichen Einfluss der Einlagerung gewissermaßen zu retten, indem wenigstens die Querwände frei gelegt werden. Der Zerfall kommt dadurch zu Stande, dass die äußerste, den Zellen gemeinsame Zellhautschicht reißt, indem die beiden den Nachbarzellen angehörenden Querwände sich gegeneinander vorzuwölben und die Zellen auseinander zu drängen suchen. Die Hauptrolle spielt dabei die in der Zelle vorhandene Turgescenz, welche möglicherweise in der ersten Zeit durch die die Diffusion überhaupt sehr erschwerende Einlagerung in die Scheide vermehrt ist. Wenigstens geschieht nicht selten bei diesem Zerfall der Fäden das Hervordrücken der Querwände nach außen in so starkem Grade, dass die Zellhaut der plötzlichen Dehnung nicht Folge leisten kann und platzt, wobei der Zellinhalt zum Theil herausgedrängt wird. Zahlreiche auf diesem Wege zu Grunde gegangene Zellen findet man in den Kulturen.

An diese Erscheinung knüpft sich überhaupt die Frage, was aus den Zellen wird, wenn keine Abstoßung der Niederschläge eintritt. Dies ereignet sich einerseits bei einzelnen Fäden nach Einlagerung von Substanzen, welche für gewöhnlich schnell entfernt werden; andererseits wird die Frage beantwortet durch jene Zellen, welche nach Einlagerung von sonst nicht abstoßungsfähigen Verbindungen, wie Eisenoxyd-, Thonerde-Salzen u. s. w., noch lebendig bleiben. Vor allem ist zu bemerken, dass durch die Einlagerung die Gallertscheide und in den weitaus meisten Fällen auch die äußerste Zellhautschicht ihre Dehnbarkeit verliert, und zweitens außerdem der Stoffwechsel, der Verkehr mit der Außenwelt erschwert oder wie bei den Eisenoxydverbindungen so gut wie unmöglich gemacht wird. Zwei Fälle können dann eintreten, abgesehen von dem häufig herbeigeführten Tod. Entweder gehen die Zellen in einen Ruhezustand über,

in welchem sie monatelang verharren können, oder sie sprengen ihre Hülle, sei es durch Lösung der Zellen aus dem Verbande an den Querwänden, sei es durch Sprengung an den Seitenwänden. Das letztere geschieht nur dann, wenn die Zellen noch so lebensthätig sind, dass sie trotz des großen Widerstands in die Länge wachsen und dadurch äußere Zellhaut und Scheide zerreißen. Die mit besonderer Zellhaut umkleidete Zelle wölbt sich dabei knieförmig an einer Stelle hervor, durchstößt mit diesem Knie die über ihr liegenden Schichten und tritt in's Freie (III Fig. 15, 16, 20).

Sämmtliche dieser Fälle lassen sich beobachten nach der Einlagerung von Katechubleioxyd, welches überhaupt eine besondere Stellung einnimmt. Der Niederschlag zeichnet sich dadurch aus, dass er sehr wenig schädlich auf die Zellen wirkt und dass die vielfach erfolgende Abstoßung von ihm oft lange Zeit nach der Einlagerung sich bemerkbar macht. Bei den meisten andern Verbindungen entscheidet es sich in den ersten beiden Tagen, ob eine Abstoßung überhaupt erfolgt oder nicht. Nach Einlagerung der Katechuverbindung¹⁾ dagegen geschieht in den ersten 5—6 Tagen keine Veränderung an den Fäden. Dann erst beginnt allmählich hier und dort eine blasenförmige Abhebung der den Niederschlag enthaltenden Gallerte, und dieser Prozess schreitet langsam in den nächsten Wochen fort. Viele Fäden zeigen dagegen auch dann nicht eine andere Veränderung, als dass ihre Zellen in den Ruhezustand übergehen; andere lösen ihren Verband, wieder andere durchbrechen knieförmig die äußere Zellhaut und die Scheide. Allerdings scheint in dem letztern Falle das Heraustreten dadurch erleichtert zu werden, dass an der ganzen Stelle, wenigstens wo das Knie sich vorwölbt, vorher die Gallertscheide etwas zur Verquellung gebracht wird.

E. Die Beziehung des todtten und lebenden Zustandes von *Zygnema* zu dem Prozess der Abstoßung.

Eine der wichtigsten und sich zuerst aufdrängenden Fragen läuft darauf hinaus, ob der Vorgang der Abstoßung ein rein physiologischer ist, d. h. also direkt abhängig von dem lebenden Zustand der *Zygnema*-Zellen, oder nur bedingt ist durch bestimmte Eigenschaften der Gallertscheide, welche auch unabhängig vom lebenden Zellprotoplasma in Wirksamkeit treten können. So einfach und klar die Fragestellung ist, so ist die Beantwortung doch nicht mit Ja und Nein ohne Weiteres zu geben.

Das erscheint keinem Zweifel unterworfen, dass das Leben der Zelle von sehr großer Bedeutung für den Verlauf des ganzen Prozesses ist, und dass der Tod diesen überhaupt in den meisten Fällen verhindert. Im Vorhergehenden ist daher stets nur auf den lebenden Zustand der Versuchs-

1) Gleich nach der Einlagerung erscheint die Gallerte schwach roth gefärbt; allmählich nimmt sie aber im Wasser eine dunkelbraunrothe Färbung an.

algen Rücksicht genommen. Die ersten speziellen Versuche mit Fäden, welche vor oder gleich nach der Einlagerung von Berliner Blau mit Sublimat getödtet waren, zeigten absolut keine Veränderung der Gallertscheide, welche in dem lebenden Vergleichsobjekt sehr lebhaft abgestoßen wurde. Auch in den Versuchen mit lebenden Zygneimen trat der Einfluss des Lebens deutlich hervor, insofern stets eine Reihe Zellen infolge der Methode oder aus anderen Gründen früh abstarben und dann keine Abstoßung zeigten, während benachbarte lebende Zellen dieselbe aufwiesen. Diese Beobachtungen veranlassten mich lange Zeit, den Gedanken zu hegen, dass man es hier überhaupt mit einer wahren Reizerscheinung zu thun habe, welche bedingt ist durch den mechanischen Einfluss des Niederschlages in der Gallertscheide auf das Zellprotoplasma. Indessen hat sich herausgestellt, dass eine Abstoßung auch unabhängig von dem Leben desselben stattfinden kann. Zuerst wurde ich darauf aufmerksam durch das Verhalten plasmolytischer Zellen. Die Versuche wurden in der Weise angestellt, dass 0,25 % essigsäures Blei und Kaliummonochromat in 10 % Rohrzucker gelöst, das Chromgelb aus diesen Lösungen in die Zygneimen niedergeschlagen wurde, welche dann weiter in 10 % Zucker kultivirt wurden, wo sie sich wochenlang lebend erhielten. Unzweifelhaft trat, wenn auch nicht so lebhaft und umfassend wie bei normalen Fäden, an den plasmolysirten Zellen eine Abstoßung der Gallerte ein, oft sehr regelmäßig in großen Blasen an den den Querwänden entsprechenden Stellen. Hierdurch wurde die Annahme einer Reizerscheinung schon sehr zweifelhaft. Infolge dessen wurden zahlreiche Versuche gemacht mit Zygneimen, welche auf sehr verschiedene Weise getödtet waren, und in welche dann Chromgelb eingelagert wurde. Die Tödtung geschah z. B. durch konzentrirtes Sublimat, Eisessig, Jodjodkalium, Ammoniak (2 Tage in 8 % Lösung), Tannin (10 % während 24 Stunden), essigsäures Blei (1 % nach 5 Tagen), durch Austrocknen. Diese Mittel wirkten theils momentan tödtlich, theils wie beim Bleizucker und Tannin ganz allmählich. In allen diesen Versuchen konnte ich eine typische Abstoßung des Chromgelbs nicht beobachten. Nur eine Erscheinung zeigte sich, welche anfangs Bedenken und Zweifel erregte, nämlich eine Verbreiterung der Gallertscheide dadurch, dass von dem homogen gelbgefärbten Haupttheil derselben sich eine deutliche peripherische feinkörnige Schicht abhob, welche, so besonders nach Wirkung des Eisessig und Ammoniak, auch hier und dort weiter abstand. Jedoch bis zu einer deutlich blasigen oder faltigen Abstoßung dieser Schicht kam es nie, die eingetretene Verbreiterung ist wohl hauptsächlich dem Einfluss der Reagentien zuzuschreiben. Dagegen beobachtete ich sicherer eine deutliche Abstoßung nach Tödtung der Fäden mit Ätherdampf und Alkohol. Besonders der letzte Körper wurde in zahlreichen Versuchen angewandt, welche aber durchaus nicht das gleiche Resultat hatten. So viel ist sicher, dass die Abstoßung in dem Grade wie bei lebenden Zellen nicht

stattfindet, weil sie stets nur an einer beschränkten Anzahl von Fäden sich bemerkbar macht und sehr häufig nur in der Weise, dass die auch hier deutliche feinkörnige, peripherische Schicht blasenförmig abgehoben wird, während die eigentliche homogen gelbe Scheide unverändert bleibt. Relativ am lebhaftesten war die Abstoßung bei solchen Fäden, welche durch 20 % Alkohol getödtet waren; in den allermeisten Versuchen mit absolutem Alkohol trat nur die oben besprochene Verbreiterung der Scheide, aber keine Abstoßung ein, und um so klarer war dieses Resultat, je länger der Alkohol gewirkt hatte. Bei Zygnumen, welche mehrere Wochen in absolutem Alkohol gelegen hatten, habe ich nie eine Abstoßung beobachtet. Darnach scheint die Konzentration und die Länge der Wirkung des tödtenden Mittels einen gewissen Einfluss auszuüben, und das wird auch dadurch bestätigt, dass z. B. die in 0,1 % Sublimat 20 Stunden lang gehaltenen Zygnumen nach Einlagerung von Chromgelb noch hier und dort Abstoßung desselben zeigten, während konz. Sublimat das sicherste Mittel ist, dieselbe unmöglich zu machen, und ebenso verhält es sich mit 1 % und konzentrierter Pikrinsäure.

Als das Ergebnis der Versuche kann man den Satz hinstellen, dass die Fähigkeit der Gallerte, Niederschläge abzustößen, nicht nothwendig immer an das Leben des Zellprotoplasma gebunden ist, dass sie aber durch alle jene Mittel, welche das Leben der Zelle tödten, ebenfalls sehr bald vollständig verloren geht.

Da nun aber eine Abstoßung überhaupt von todtten Fäden ausgehen kann, so wird man zu der Auffassung gedrängt, dass der Vorgang nicht unmittelbar von dem Leben des Zellprotoplasmas abhängig ist. Man wird vielmehr der Gallertscheide, resp. einem ihrer Bestandtheile, selbst die Fähigkeit zuschreiben, nach Einlagerung von Niederschlägen dieselben durch einen Quellungsprozess zu entfernen. Diese Fähigkeit besitzt sie infolge einer spezifischen chemisch-physikalischen Organisation, welche zwar nicht ganz so leicht veränderlich ist wie die des aktiven Eiweißes, aber immerhin durch die meisten Tödtungsmittel des letzteren in einen passiven starren Zustand übergeführt wird, mit welchem die Fähigkeit verloren geht. Diese wenn auch nicht streng bewiesene, jedoch erlaubte Auffassung führt weiter zu der Frage, ob nicht diese leichte Veränderlichkeit der organisirten Scheide auf dem Vorhandensein einer eiweißartigen Substanz beruhe, da an dieser unter allen organischen Körpern am häufigsten sehr labile Modifikationen auftreten, welche durch sehr einfache chemische Mittel in sehr viel stabilere übergeführt werden können. Diese Frage veranlasste eine eingehende Untersuchung des mikrochemischen Verhaltens der Gallertscheide.

F. Das Verhalten der Gallertscheide gegenüber Farbstoffen und Reagentien.

Die Gallertscheide besitzt im allgemeinen nicht eine so große Anziehungskraft zu organischen Farbstoffen, wie das Zellprotoplasma, auch

eine etwas geringere, als die Zellhaut. Am lebhaftesten nimmt sie auf und am festesten hält sie Vesuvium, Methylviolett, Fuchsin, Methylenblau; sehr viel weniger schon Cyanin, Safranin, Gentianin, Methylgrün, so gut wie gar nicht Helianthin, Tropäolin, Korallin, Anilinblau, Eosin, Nigrosin, Indigkarmin, Hämatoxylin (rein wässrig), Kurkumin, Alizarin. Die oben erwähnten intensiv sich in die Scheide einlagernden Farbstoffe thun dies aber auch nur in wässriger Lösung; mit Alkohol behandelte Fäden färben sich in alkoholischen Lösungen nicht oder sehr schwach.

Gegentüber den echten Pflanzenschleimen und Gummiarten zeichnet sich die Gallerte der Zygneinscheide durch eine viel geringere Quellungs-fähigkeit aus. Sie bleibt selbst unverändert in kaltem Ammoniak, Kali, Essigsäure, seien diese Substanzen in verdünntem oder konzentriertem Zustande. Dagegen verschwindet scheinbar die Gallerte schon vollständig durch Kochen mit reinem Wasser, ebenso bei Behandlung mit Chlorzinkjod. Nach Hinzufügen von Methylenblau lässt sich ebenfalls nichts von einer Scheide mehr beobachten. Jedoch ist in der That dieselbe noch vorhanden in Form einer schmälern, sehr wenig dichten Schicht, welche an der Peripherie häufig etwas korrodirt aussieht. Bei der breiten Gallertscheide von *Zyg. A.* bleibt nach Kochen sowie infolge Chlorzinkjodwirkung die Scheide fast in normaler Breite zurück, färbt sich aber nicht mehr und lässt auf keine Weise mehr eine Stäbchenstruktur erkennen¹⁾. Das Vorhandensein der Scheide kann man nur durch eine Einlagerung färbender Verbindungen, wie z. B. von Chromgelb, nachweisen, von dem eine Abstoßung nicht mehr erfolgt.

Vollständig gelöst wird die Gallertscheide durch Salz-, Schwefel-, Salpetersäure, Kochen mit Eisessig, durch Wasserstoffsuperoxyd.

Als wichtigstes Ergebnis ist hervorzuheben, dass durch Kochen und Chlorzinkjod ein Bestandtheil aus der Gallertscheide entfernt wird, ein anderer zurückbleibt; der erstere bedingt die Fähigkeit der Scheide, Farbstoffe aufzunehmen, auf ihm beruht die Stäbchenstruktur. Aus den Versuchen über die Abstoßung von Niederschlägen wurde das Resultat erhalten, dass selbst bei vollständigster Verquellung stets eine nicht mehr färbbare Grundsubstanz übrigblieb, während der sich färbende Bestandtheil mit dem Niederschlage abgestoßen wurde. Augenscheinlich ist es derselbe, welcher durch kochendes Wasser und Chlorzinkjod gelöst wird. Um diesen Nachweis aber sicherer zu machen, musste gezeigt werden, dass auch an lebenden Zygneimen die Trennung der beiden Bestandtheile möglich ist, und dass mit der Entfernung des einen die Abstoßungsfähigkeit verloren geht.

1) Allerdings geht bei *Zyg. A.* die Lösung des in Methylenblau färbbaren Bestandtheiles langsamer vor sich, als bei *Zyg. C.*, so dass es erst nach $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ stündigem Kochen bei den meisten Fäden gelingt. Selbst dann erkennt man häufig noch dicht der Zellwand anliegend ein zartes Netzwerk, das mit Methylenblau sich färbt.

In der That gelingt eine solche Trennung bis zu einem gewissen Grade bei der Kultur der Zygneten in einigen Salzlösungen. Vorzugsweise geeignet erwiesen sich 0,1 % Eisenweinstein¹⁾, 0,1 % saures chromsaures Kali, schwächer und langsamer wirken chromsaures Kali, weinsaures Kali²⁾. Besonders untersucht wurde *Zyg. C.*, welches sehr widerstandsfähig ist und viele Tage lang in den betreffenden Lösungen aushält. In solchen Kulturen beobachtet man etwa nach einer Woche die Zygneten scheinbar ohne Gallertscheide, welche auch nicht durch Methylenblau sich nachweisen lässt. Erst die Einlagerung von Chromgelb weist das Vorhandensein der Scheide nach, nur dass sie schmaler, substanzärmer erscheint und sich häufig durch muldenförmige Ausbuchtungen an den den Querwänden entsprechenden Stellen auszeichnet. Vor allem ist das weitere Verhalten wichtig, dass die Abstoßung des Chromgelbes in den ersten Tagen nicht erfolgt, während sie sonst momentan eintritt. Zur Feststellung dieser Thatsache wurden eine Reihe von Versuchen in der Weise angestellt, dass gleichzeitig und genau in demselben Grade das Chromgelb in zwei Proben von Zygneten eingelagert wurde, von denen die eine normale Fäden enthielt, die andere solche, welche 5—6 Tage in Eisenweinstein oder saurem chromsaurem Kali zugebracht hatten. Stets war das Resultat dasselbe: die normalen Zygneten entfernten sofort das Chromgelb, bei der andern Probe zeigte sich in den ersten 2—3 Tagen keine Veränderung, dann fingen einzelne Zellen mit der Abstoßung an, welche in manchen Versuchen erst am 6. ja 10. Tage sich einstellte. Es gelingt also durch gewisse Salzlösungen, aus der Gallertscheide lebender Zygneten den mit Methylenblau sich färbenden und bei der Abstoßung wirksamen Bestandtheil zu lösen.

Dieser Vorgang erfolgt nun nicht mit der Exaktheit eines chemischen Prozesses. Vielmehr verläuft er sehr ungleichmäßig je nach den einzelnen Fäden, von welchen bei jedem Versuch eine Anzahl aus unbekanntem Gründen keine Veränderung ihrer Scheide erkennen lässt. Gewöhnlich

1) Bei den Versuchen mit dieser Substanz habe ich die Kulturgefäße dunkel gestellt, wobei die Zygneten doch bis zu einer Woche lebend blieben. Im Licht findet eine rasche Zersetzung des Eisenweinsteins statt. Andere organische Eisenverbindungen, wie z. B. Eisenzucker, in welchem die Zygneten sehr lange ohne jeglichen Schaden aushalten und dessen Lösung lichtbeständiger ist, üben nicht eine solche Wirkung auf die Gallertscheide aus. Bei längerer Kultur der Zygneten in Eisenweinstein, auch in den sich zersetzenden Lösungen zerfallen vielfach die Fäden in einzelne Zellen; es erfolgen auf der Zellwand, besonders gern auf den Querwänden krystallinische Ausscheidungen, welche zuerst in Form sehr verschieden großer weißlicher Körper hervortraten, welche an der Peripherie aus zahlreichen feinen Nadelchen nach Art eines Sphaerokrystals bestanden, während in der Mitte dunkle, zum Theil schwärzliche rundliche Massen sich zeigten. Weiter untersucht wurden diese Ausscheidungen nicht; ich bemerkte nur, dass je zahlreicher dieselben an einer Zelle erschienen, um so kränklicher die letztere aussah.

2) Dagegen wirken gar nicht z. B. Chlornatrium, 0,1 % Eisenzucker.

finden sich sehr verschiedene Mittelstufen, in denen z. B. nur die innerste Schicht der Scheide sich blau färbt oder die färbbare Substanz in Form einzelner Höcker sich vorfindet. Auch spezifische Unterschiede machen sich bemerkbar. So gelingt der Versuch viel besser mit *Zyg. C.* als mit *Zyg. A.*, bei welcher überhaupt der wirksame Bestandtheil viel fester gehalten wird, wie schon gegenüber Kochen und Chlorzinkjod zu bemerken ist.

Es kommt aber noch eine andere merkwürdige und ganz unerklärte Erscheinung in Betracht, welche das unregelmäßige Verhalten der einzelnen Fäden wohl mit bedingt. Es scheint, als wenn die Lösung des färbbaren Bestandtheils aus der Gallerte nur bei lebenden Zygneinen vor sich geht, nicht aber bei abgestorbenen. In 5% Lösung von Kaliumbichromat ¹⁾, welche schnell tödtet, bleibt die Gallertscheide von *Zyg. C.* wochenlang unverändert. Auf dieses Verhalten bin ich erst in letzter Zeit aufmerksam geworden, so dass eine genauere Untersuchung nicht mehr möglich war.

Die Thatsache, dass bei den in Eisenweinstein oder Kaliumbichromat kultivirten Zygneinen die Abstoßung des Chromgelbes zwar sehr verzögert, aber schließlich doch eintritt, kann davon herrühren, dass in der Scheide noch vor der Einlagerung ein Theil des wirksamen Bestandtheils vorhanden war, oder dass derselbe von den lebenden Zellen aus neu gebildet worden ist. Beides wird thatsächlich wohl in Betracht kommen. Für die Neubildung spricht folgender Versuch. Das Kaliummonochromat wirkt bei längerer Einwirkung in ähnlicher Weise, wie das saure Salz. Zygneinen, welche 8 Tage in einer Lösung von 0,4% gelebt hatten, zeigten eine etwas schmalere Gallertscheide mit Ausbuchtungen an den Querwänden. Nach Einlagerung von Chromgelb traten erst nach 3 Tagen deutliche Anzeichen von Verquellung auf. Eine Probe von Zygneinen, welche nach 8tägigem Aufenthalt in 0,4% Kaliummonochromat erst 24 Stunden in reinem Wasser kultivirt waren, und in welche dann Chromgelb eingelagert wurde, zeigte sofort die Abstoßung. Ebenso verhielt es sich bei einem zweiten Versuch mit Fäden, welche 14 Tage in 0,4% Kaliummonochromat, dann 3 Tage in Wasser zugebracht hatten.

Jedenfalls riefen die Resultate dieser Versuche den Gedanken wach, zu versuchen, ob es nicht gelingt, durch sehr günstige Ernährung eine besonders lebhaftere Neubildung der wirksamen Substanz in der Gallertscheide zu veranlassen. Zuerst wurden Rohrzuckerlösungen von 5—6% angewandt, und in denselben Zygneinen kultivirt, welche vorher in verdünntem Kaliummonochromat sich befunden hatten. Nach 5tägiger Kultur zeigte die Gallertscheide noch nicht ihre normale Breite, jedoch nach Einlagerung von Chromgelb sofortige Abstoßung.

1) *Zygnema C.*, welche 2½ Monate in 5% Kaliumbichromat gelegen hatte, zeigte nach Zusatz von Methylenblau überall eine deutlich blau gefärbte Gallertscheide, welche gegenüber normalen Fäden nur ein wenig schmaler erschien.

Da ich nun aus dem früher beschriebenen Verhalten vermuthete, dass in der Gallertscheide ein eiweißartiger Körper vorhanden sei, wurde in weiteren Versuchen eine Lösung von Glykose mit Pepton angewandt, in welcher ich zuerst ganz normale Zygomen kultivirte. Das Resultat war für den ersten Augenblick sehr überraschend. Denn die Gallertscheide hatte nach 2 Tagen ein sehr stark lichtbrechendes, weißglänzendes dichtes Aussehen angenommen, so dass sie gleich einer neu aufgelagerten dicken Zellwandschicht erschien. Unzweifelhaft hatte sich in die Scheide eine Substanz neu in großer Menge eingelagert, und zwar erwies sich dieselbe nach deren Reaktionen als eine stickstoffhaltige Substanz, welche vielleicht in die Gruppe der Proteinkörper zu rechnen ist. Die verdickte Gallertscheide färbt sich mit Jod intensiv gelb, nimmt Farbstoffe auf, welche sie früher nicht aufzunehmen fähig war, wie z. B. Anilinblau, Nigrosin; Salpetersäure ruft die Xanthoproteinreaktion hervor. Dagegen konnte ich mit MILON'schem Reagens keine deutliche Reaktion erhalten, und auch das Verhalten gegen Wasser, die Lösung beim Kochen desselben weist darauf hin, dass die eingelagerte Substanz nicht zu den bekannten Hauptgruppen der eigentlichen Eiweißkörper, Albuminen, Fibrinen, Globulinen, Kaseinen gehört, sondern möglicherweise zu den leimartigen Stoffen. Im Folgenden will ich, um einen kurzen Ausdruck zu haben, diesen Prozess der Einlagerung als »Verdickung« der Gallerte bezeichnen, wobei nur zu bemerken ist, dass stets die Gallerte nur dichter, aber nie in ihren Dimensionen, speziell in der Breite verändert wird.

In den ersten Versuchen hatte ich eine Lösung von 10% Glykose und 0,5% Pepton angewandt. Trotz der Plasmolyse war die Verdickung der Gallertscheide eingetreten; sie geht auch vor sich bei Fäden, welche vorher mit Alkohol getödtet waren. Die Fähigkeit, sich zu verdicken, ist daher unabhängig von dem Leben des Zellprotoplasmas, ist allein bedingt durch die spezifische Organisation der Gallertscheide selbst.

In den meisten weiteren Versuchen wurde eine Lösung von 4% Glykose und 0,5% Pepton benutzt, in welcher bei *Zyg. C.* nach 2 Tagen die Verdickung in dem überhaupt erreichbaren Grade erfolgt. Etwas langsamer geht der Prozess bei *Zyg. A. α* und *β* vor sich, da erst am 3.—4. Tage der Sättigungspunkt erreicht ist. Jedoch schon am 2. Tage zeigte sich die schon früher erwähnte Stäbchenstruktur (vergl. p. 336).

Zuerst tauchte der Gedanke auf, dass die Verdickung auf einer sehr lebhaften Imbibition der Peptonlösung beruht, resp. auf einer starken Anziehungskraft der Gallerte zum Pepton, entsprechend wie zu gewissen Farbstoffen. Indessen tritt die Eiweißeinlagerung nicht in reiner Peptonlösung auf, vielmehr nur bei gleichzeitiger Gegenwart eines Kohlehydrats. Die Glykose kann ersetzt werden durch Rohrzucker, in sehr viel geringerem Grade durch Milchzucker, dagegen gar nicht durch Mannit, Glycerin, weinsaures Ammoniak, Salpeter. Das Pepton darf in der Lösung in nicht zu ge-

ringer Menge vorhanden sein, denn schon bei einem Gehalt von 0,4 % ist die Verdickung der Scheide gering und unsicher. Das Pepton kann ersetzt werden durch 0,5 Albuminlösung, dagegen nicht durch Harnstoff, Tyrosin, Asparagin, Leucin, Pepsin und Diastase.

Die lebhafte Einlagerung von Eiweißsubstanz in die Gallertscheide wirkt ähnlich wie diejenige von Thonerde, Chromoxydhydrat u. s. w., tödtlich auf die Zellen ein. Nach 24 Stunden des Aufenthaltes in der Lösung sind schon die Mehrzahl der Fäden selbst von *Zyg. C.* todt, obwohl sie in sehr viel konzentrierteren Zuckerlösungen (selbst bis zu 20 %) viele Tage fort leben, und ebenso in 0,5 % Pepton, selbst wenn dasselbe schon in stinkende Fäulnis übergegangen ist. In Lösungen von 10 % Glykose und 0,4 % Asparagin, Leucin, Tyrosin leben ebenfalls die Zygneten lange Zeit, so dass wohl daraus folgt, dass das Vorhandensein der Eiweißsubstanz in der Scheide die alleinige Ursache des schnellen Todes der Zellen sein kann.

Es stellt sich zunächst die Frage ein, wie diese Verdickung der Gallertscheide aufzufassen ist. Traubenzucker und Pepton sind an und für sich Substanzen, welche nicht ohne Weiteres aufeinander wirken, selbst beim Kochen nicht, und ebensowenig wenn sie gleichzeitig durch organisirte Körper imbibirt werden. Denn in diesem Falle müsste jede imbibitionsfähige Gallerte die Eiweißeinlagerung zeigen, was jedoch nicht stattfindet. Die Scheide der Zygneten muss eine besondere chemisch-physikalische Organisation besitzen, in Folge deren bei gleichzeitiger Anwesenheit von Glykose und Pepton ein in Wasser zunächst unlöslicher¹⁾ stickstoffhaltiger Körper in ihr erzeugt wird. Man könnte in gewisser Weise diese Bildung mit der Thätigkeit eines lebendigen Plasmas vergleichen, welches ebenfalls aus indifferenten Lösungen von bestimmten Körpern, besonders Kohlehydraten und Eiweißsubstanzen, neue eigenartige Stoffe zu bilden vermag, und in allen Fällen würde wohl die nähere Aufklärung des Verdickungsvorganges bei *Zygnema* zugleich etwas Licht verbreiten über die uns noch völlig räthselhaften Ernährungsprozesse der Zellorgane, speziell der Zellohaut. Indessen die Verdickung direkt als eine Art Ernährung aufzufassen, scheint doch nicht berechtigt. Der neu eingelagerte Körper zeigt zwar in mancher Beziehung in seinen Eigenschaften eine Ähnlichkeit mit dem Hauptbestandtheil der Gallerte, ist aber nicht identisch, wie ich selbst anfangs glaubte. Beide sind unlöslich in Alkohol, Äther, löslich in kochendem Wasser, verdünnten Säuren, und auffallenderweise verquillt dabei die verdickte Gallerte in wesentlich derselben Weise, wie bei der Abstoßung von Chrom-

1) Legt man die verdickten Fäden in Wasser, so beginnt allmählich in der 2. bis 4. Woche ein Verschwinden der eingelagerten Substanz. Höchst wahrscheinlich spielen die Hauptrolle dabei die anwesenden, sich besonders reichlich oft an der Gallerte festsetzenden Bakterien. In Glykose-Pepton, dem ich Thymollösung zugesetzt hatte, hielt sich die Verdickung unverändert während 2 Monate, nach welcher Zeit der Versuch abgebrochen wurde.

gelb, Berlinerblau. Augenscheinlich ist der eingelagerte Körper auch in gewissem Grade quellungsfähig, er vermehrt wenigstens anscheinend die Quellungsfähigkeit¹⁾ der Gallerte. Denn er zeichnet sich dadurch aus, dass Alkalien bei schneller Einwirkung ihn lösen, während die anscheinend jetzt wieder normale Gallertscheide zurückbleibt, bei langsamer Einwirkung dagegen deutlich vor der Lösung eine Verquellung derselben in Form von blasig sich vorwölbenden, dann faltigen Massen herbeiführen. Bei der besonderen Art der Quellung übt aber hauptsächlich die eingelagerte Substanz als fester Niederschlag eine bedeutsame Wirkung aus, insofern nur bei Vorhandensein eines solchen die Gallertsubstanz im quellenden Zustande sichtbar gemacht wird. Das tritt z. B. auch auffallend in dem Verhalten der verdickten Fäden gegenüber Chlorzinkjod hervor. Dasselbe löst ohne deutliche Quellung aus der normalen Gallerte den Hauptbestandtheil heraus; bei Einwirkung des Reagens auf verdickte Fäden macht sich auch hier wieder eine Verquellung der Scheide wie bei der Abstoßung fremder Niederschläge bemerkbar. In den blasigen, faltigen, bald ganz schleimartig sich gestaltenden Massen treten zahllose Körnchen auf, welche mehr und mehr zusammenfließen zu größeren, ölarartig aussehenden, gelb gefärbten Tropfen, welche schließlich allein zurückbleiben und die jedenfalls von dem neu eingelagerten Körper herrühren. Derselbe, zwar wohl verändert durch Chlorzinkjod, aber nicht gelöst, bedingt darnach in rein mechanischer Weise durch sein Vorhandensein die besondere Art der Quellung. Das andere Verhalten gegenüber Alkalien, die intensive Färbung mit Jod und gewissen Farbstoffen, welche die Gallerte nicht festzuhalten fähig ist, weist auf einen chemischen Unterschied der eingelagerten Substanz und der ersteren hin. In Bezug auf das Verhältnis beider kann man an zwei Möglichkeiten denken. Die eingelagerte Substanz steht in keiner chemischen Verbindung mit der Gallerte, erscheint vielmehr als Einlagerung eines fremden Körpers, vergleichsweise wie von Thonerdehydrat. Die Gallerte wirkt bei der Erzeugung des Körpers in rein physikalischer Beziehung, wird selbst dabei nicht verändert, und wenn man sich auch über die Art dieser Wirkung keine ganz klare Vorstellung machen kann, so ist es doch gestattet, an die sog. katalytische Wirkung mancher Körper, z. B. des Platinmoor, bei gewissen chemischen Prozessen zu denken. Für diese Auffassung könnte sprechen die leichte Trennung von

1) Die Beobachtung dieser vermehrten Quellungsfähigkeit, andererseits der gleichen Quellungsart wie bei Abstoßung eingelagerter Niederschläge, ließ es möglich erscheinen, dass nicht durch die Verdickung bei der Gallerte das Vermögen der Abstoßung erhöht würde, so dass sie z. B. mit Thonerdehydrat u. s. w. in Quellung geräth. Versuche zeigten nun zwar, dass auch an den verdickten Zygmenen, die in Folge des Processes abgestorben waren, bei Einlagerung von Chromgelb die typische Abstoßung stattfindet, dass aber an den durch andere Tödtungsmittel (vergl. p. 354) vorher getödteten Zygmenen nach der Verdickung der Gallerte und dann erfolgter Einlagerung von Chromgelb, Thonerde keine Abstoßung mehr erfolgte.

Gallerte und eingelagertem Stoff durch Alkalien, das Verhalten des letzteren bei der Quellung der ersteren, ferner die Art und Weise seiner Einlagerung als die eines fremden festen Niederschlages.

Die entgegengesetzte Auffassung würde darin bestehen, dass bei der Verdickung eine besondere chemische Verbindung zwischen Gallerte und eingelagertem Stoff stattgefunden hat. Hierfür könnten zwei Beobachtungen sprechen, von denen allerdings die zuerst zu nennende die andere Auffassung nicht ausschließt. Die Verdickung tritt einmal nur dann ein, wenn der mit Methylenblau färbbare Bestandtheil in der Gallerte vorhanden ist. Die zarte Grundsubstanz, welche nach Behandlung der Zygmenen mit kochendem Wasser, Chlorzinkjod zurückbleibt, ist nicht mehr fähig, in Glykose-Pepton sich in nennenswerther Weise zu verdicken. Nach mehrtägiger Wirkung der Lösung färbt sie sich mit Jod nur schwach gelblich, was wohl auch nur darauf zurückzuführen ist, dass die letzten Spuren des Hauptbestandtheiles sehr schwer sich entfernen lassen. Nach Hinzufügen von Chlorzinkjod tritt keine Verquellung der Grundsubstanz ein, höchstens nur eine Ansammlung kleiner gelber Tröpfchen. Bei jenen Zygmenen, bei welchen durch den Aufenthalt in Kaliumbichromat, Eisenweinstein (siehe p. 357) der Hauptbestandtheil allmählich herausgelöst wird, zeigt die Scheide in dem Maße, wie die Lösung stattgefunden hat, auch eine immer schwächere Verdickung in Glykose-Pepton. An vielen Fäden erkennt man selbst nach mehrtägigem Aufenthalt erst bei Jodzusatz eine schwach gelblich sich färbende Scheide.

Bedeutungsvoller für die Auffassung einer chemischen Wirkung der Gallertsubstanz erscheint eine andere Thatsache. Schon früher wurde hervorgehoben, dass die Verdickung eintritt auch an Fäden, welche durch Alkohol getödtet waren. Dasselbe ist der Fall nach Tödtung mit Eisessig, Pikrinsäure, Thymol etc. Eine Ausnahme bilden aber jene Zygmenen, welche einige Zeit in konzentrirter¹⁾ Sublimatlösung und dann 1—2 Tage in reinem, mehrfach gewechseltem Wasser gelegen haben. In Glykose-Pepton tritt keine Verdickung der Gallertscheide bei solchen Fäden ein. Sublimat verbindet sich nun bekanntlich mit manchen organischen Substanzen, speziell den Eiweiß- und Leimstoffen. So vereinigt es sich auch mit derjenigen Substanz, welche bei der Verdickung der Scheide eingelagert wird, so dass in verdickten Zygmenen, welche in Sublimat gelegen haben und dann ausgewaschen wurden, durch Schwefelwasserstoff sich Schwefelquecksilber nachweisen lässt. Auch diese Verbindungsfähigkeit mit Sublimat weist auf die leimartige Natur der eingelagerten Substanz hin. Höchst wahrscheinlich geht nun das Sublimat auch eine Verbindung ein mit dem Hauptbestandtheil der normalen Gallerte und bewirkt dadurch eine solche Veränderung, dass er nicht

1) *Zygnema C.* dagegen, welche 2 Tage in 0,1% Sublimat gelegen hatte, verdickte in Glykose-Pepton ihre Scheide.

mehr fähig ist, in Glykose-Pepton Verdickung zu veranlassen. Diese Verbindung wird man als eine chemische auffassen müssen, um so mehr, als blos physikalisch gebundene Stoffe, wie z. B. eingelagerte Thonerde, nicht die Verdickung der Gallertscheide beeinträchtigen. Aus diesem ganzen Verhalten geht wieder die Verwandtschaft des eingelagerten Stoffes und der Gallerte hervor, und man könnte auch daraus schließen, dass bei dem Prozess der Einlagerung der Hauptbestandtheil der Scheide durch seinen chemischen Charakter wirksam ist, dass auf demselben die Erzeugung eines ähnlichen Stoffes aus Glykose-Pepton beruht.

Der ganze Prozess steht aber bisher als etwas so Besonderes da und das wesentlichste Moment dabei, die physikalisch-chemische Natur der Gallerte, ist so wenig aufgeklärt, dass überhaupt irgend eine Entscheidung vorläufig nicht zu treffen ist.

Fassen wir das Wesentlichste über den Bau der Gallertscheide von *Zygnema* zusammen, so ergibt sich eine hohe eigenartige Organisation derselben. Zwei Bestandtheile lassen sich an ihr unterscheiden: 1) eine zarte, sehr schwach lichtbrechende, sehr indifferent sich verhaltende Grundsubstanz, welche kaum färbbar und nicht quellungsfähig ist, sich nur löst in stärkeren Säuren; 2) ein die Hauptmasse der Gallerte bildender Stoff, welcher lebhaft Farbstoffe wie Methylenblau, Methylviolett, Vesuvin anzieht, in kochendem Wasser, Chlorzinkjod, Säuren löslich, in Alkohol, Alkalien unlöslich ist, welcher aus Glykose-Pepton eine stickstoffhaltige (leimartige) Substanz bildet und in sich einlagert und welcher fähig ist, nach künstlicher Einlagerung zahlreicher fester Niederschläge lebhaft zu verquellen. Dieser zweite Bestandtheil tritt in der Grundsubstanz in bestimmter Anordnung von zarten Stäbchen auf, welche meist in ihrem unteren Theile durch ein Netzwerk vereinigt scheinen. Die Färbbarkeit behält die betreffende Substanz, so lange sie nicht gelöst ist, die Quellbarkeit in kochendem Wasser, Chlorzinkjod verliert sie nach Einlagerung fester Niederschläge. Die Verdickungsfähigkeit behält sie nach Tödtung der Zygmenen-Zellen durch die meisten Tödtungsmittel mit Ausnahme des Sublimats. Die Verquellungsfähigkeit infolge der Einlagerung fester Niederschläge verliert sie nicht absolut, aber in sehr hohem Grade durch die meisten Tödtungsmittel lebender Zygmenen. Die zuletzt genannte eigenthümlichste Eigenschaft der Gallertscheide kann man wohl auch als den treffendsten Ausdruck ihrer hohen Organisation ansehen, insofern diese Eigenschaft bedingt zu sein scheint durch eine Art von lebendigem Zustand, welcher fast in demselben Grade, durch dieselben Mittel, wie lebendes Protoplasma, in einen starren passiven übergeht.

Da makrochemische Analysen nicht vorliegen, die mikrochemischen Reactionen nicht auf sonst schon genau bekannte Körper hinweisen, lässt sich über die chemische Natur der Gallertstoffe keine sichere Angabe machen. Die Verwandtschaft mit der bei der Verdickung der Scheide ein-

gelagerten Substanz, die Lösung in kochendem Wasser, die Unlöslichkeit in Alkohol, die Verbindungsfähigkeit mit Sublimat und ferner mit Gerbstoff (vergl. S. 346), könnte auf die Vermuthung bringen, dass der Hauptbestandtheil der Gallerte ebenfalls in die Gruppe der leimartigen Stoffe gehöre.

G. Über den Prozess der Abstoßung und der Quellung.

Die Abstoßung eines Niederschlages in Folge seiner mechanischen Wirksamkeit auf die ihn enthaltende Gallerte ist ein höchst eigenthümlicher Prozess, dessen Aufklärung in molekular-physikalischer Beziehung nicht bisher gelungen ist. Die Thatsache, dass unter Umständen der Prozess auch bei solchen Gallertscheiden vor sich geht, welche nicht mehr mit lebenden Zellen im Zusammenhang stehen, lässt es leichter möglich erscheinen, den Vorgang zu erklären, als wenn wir es mit dem ganz unbekanntem Protoplasma zu thun hätten. Jedoch wird aus dem Vorhergehenden schon klar geworden sein, dass die Gallertscheide eine sehr eigenartige und relativ hohe Organisation besitzt, welche andererseits noch so wenig in ihren chemischen und physikalischen Beziehungen erforscht ist, dass ich verzichten muss, eine ausführliche Theorie des Prozesses zu geben. Nur auf einige bemerkenswerthe Punkte möchte ich eingehen.

In der Gallertscheide der Zygneten müssen wir wie auch bei anderen organisirten Körpern, z. B. der Stärke, zweierlei Bestandtheile annehmen, das sehr lockere substanzarme Grundgerüst, in welchem die Theilchen des anderen Bestandtheiles nicht gleichmäßig, sondern in bestimmter reihenförmiger, zum Theil netzförmiger Anordnung eingelagert sind. Denn wir können wohl mit Recht die Stäbchenstruktur als einen Ausdruck auch der molekularen Struktur ansehen, weil ihr Auftreten darauf beruht, dass die einen Substanztheilchen eine größere Verwandtschaft zu Farbstoffen, Niederschlägen besitzen als die anderen der Grundsubstanz. Für die kleinsten Theilchen der beiden Gallertbestandtheile, von denen es sehr wahrscheinlich ist, dass sie nicht einfache Moleküle, sondern Molekülaggregate vorstellen, wollen wir den NÄGELI'schen Ausdruck Micellen anwenden, ohne auf die Form und den spezielleren Bau derselben hier näher einzugehen, da eine Zurückführung aller Erscheinungen auf die Micellartheorie NÄGELI's vielleicht nicht unmöglich ist, aber von mir in dieser Arbeit nicht beabsichtigt wird. Wenn ich in die Gallertscheide einen beliebigen Niederschlag einlagere, z. B. Chromgelb, so wird derselbe sich zunächst in den Micellarinterstitien bilden und dieselben in dem Maße, wie die Einlagerung geschieht, erfüllen. Dagegen werden die Wasserhüllen, welche wir mit NÄGELI als nothwendigen Bestandtheil der Micellen annehmen, selbst nicht wesentlich verändert sein. Jedoch kommt hierfür einmal die Kleinheit der Niederschlagstheilchen in Betracht, so dass bei den sehr fein vertheilten Substanzen, wie Berlinerblau, wohl auch Theilchen in

die Wasserhüllen eintreten können. Vor allem aber tritt bei Niederschlägen von Eisenoxydhydrat, Thonerdehydrat etc. die besonders lebhaftere Anziehungskraft der Micelle des Hauptbestandtheiles der Gallerte in Thätigkeit. Man muss sich vorstellen, dass nun auch in den Wasserhüllen der Niederschlag sich bildet und dieselben bei sehr intensiver Einlagerung überhaupt ganz ersetzt. Im normalen Leben muss der ganze osmotische Austausch zwischen dem lebenden Zellinhalt und der Außenwelt durch die Gallertscheide hindurchgehen. Infolge der Einlagerung werden die Wege der aus- und einwandernden Stoffe verlegt und zwar am allermeisten, ja vollständig bei vollständigster Umhüllung der Micellen selbst mit Niederschlagsmänteln. Unzweifelhaft auf dieser Behinderung der Ex- und Endosmose beruht wohl die große Schädlichkeit solcher Verbindungen wie Thonerdehydrat u. s. w. Andererseits hebt sich der große Vortheil in der Fähigkeit hervor, wenigstens einen großen Theil solcher eingelagerter Niederschläge entfernen zu können.

Wenn Chlorzinkjod, kochendes Wasser auf die Gallertscheide einwirken, so zeigt sich nicht eine allmähliche Aufquellung der ganzen Scheide. Vielmehr quillt der Hauptbestandtheil aus der zurückbleibenden Grundsubstanz heraus, wie es scheint in Form einzelner nicht zusammenhängender Körnchen, welche sich rasch in der Flüssigkeit vertheilen. Dieses Herausgleiten und Quellen scheint aber nur dann möglich, wenn die Micellarinterstitien der ganzen Scheide sozusagen bahnfrei sind. Befindet sich dagegen in ihnen ein fester Niederschlag, so tritt bei den genannten Reagentien überhaupt keine Veränderung der Gallertscheide ein. Zygnumafäden, in deren Scheide sich Chromgelb, Berlinerblau vorfindet, kann man kochen und lange mit Chlorzinkjod behandeln, ohne Veränderung der Scheide. Selbst verdünnte Salzsäure bringt keine quellende noch lösende Wirkung auf die Gallerte hervor, so lange nicht der Niederschlag, z. B. Berliner Blau, davon verändert wird.

Um so auffallender erscheint die Thatsache der Abstoßung des Niederschlages von Seiten der Gallerte. Dieser Vorgang erscheint wie ein Quellungsprozess des Hauptbestandtheiles der Scheide. Ich habe schon vorhin aufmerksam gemacht, dass überhaupt das Vorhandensein eines festen Körpers, wie z. B. des bei Glyk.-Ppt. eingelagerten stickstoffhaltigen Stoffes bewirkt, dass Chlorzinkjod, kochendes Wasser nicht mehr eine scheinbare Lösung, sondern eine typische Verquellung veranlassen, indem die herausgleitenden Substanztheilchen gleichsam durch den fremden Niederschlag zusammengehalten werden und infolge dessen zusammenhängende, blasig oder faltig geformte Häute bilden. Bei sehr geringer Einlagerung von Chromgelbkörnchen macht sich dieser Einfluss des Niederschlages kaum bemerkbar, so dass aus der Gallerte ganz lockere Schleimflöckchen mit einzelnen Chromgelbtheilchen herausgleiten, welche beide erst nach stärkerer vorheriger Einlagerung und stärkerer Quellung zusammenhängende

Häute bilden können. Das wesentlichste Moment in der Erklärung ist die Frage, wo kommt die Kraft her, die Gallerte bei Vorhandensein von festen Niederschlägen zur Quellung zu veranlassen. Es muss eine verhältnismäßig große Kraft sein, da in solchem Falle selbst starke Quellung bewirkende Mittel nicht wirksam sind, da der Niederschlag auch so fest sitzt, dass er durch großen mechanischen Druck nicht herausgepresst werden kann.

Die mannigfachen Versuche, der Lösung dieser Hauptfrage nahe zu treten, haben vorläufig nur zu dem einen Resultat geführt, dass es gelingt, den ganzen Verquellungs- und Abstoßungsprozess künstlich herbeizuführen.

Wenn man Eisenoxydhydrat in die Scheide von *Zygnema C.* einlagert und die Fäden in Ferrocyankalium taucht, dem etwas Salzsäure zugesetzt ist, entsteht in der Scheide Berlinerblau. Behandelt man dieselben Fäden mit Kali, so wird Eisenoxydhydrat regeneriert. Man kann diese Prozesse mit denselben Fäden mehrmals hintereinander wiederholen, ohne dass die Gallertscheide dabei verändert wird, ein deutliches Zeichen dafür, dass das Stattfinden von chemischen Prozessen in ihr überhaupt nicht direkt bei der Abstoßung wirksam ist. Anders gestaltet sich der Vorgang, wenn man die Berlinerblaubildung langsam unter dem Mikroskop eintreten lässt. Sowie das Ferrocyankalium, welchem man nur Spuren von Salzsäure beigegeben hat, mit der das Eisenoxydhydrat enthaltenden Gallertscheide in Berührung kommt, tritt allmählich unter tiefer Blaufärbung genau der typische Abstoßungsprozess der Gallerte ein. Die blau werdende Scheide erhebt sich in mannigfach gestalteten Blasen, welche sich zu zierlich netzförmig durchbrochenen oder gehirnartig gefalteten Häuten vereinigen. Diese nur bei langsamer Einwirkung des Reagens bemerkbare Quellung der Gallerte muss man sich wohl auf folgende Weise erklären. Die beigefügte Salzsäure löst in jedem Falle zuerst das Eisenoxydhydrat, welches dann sogleich durch Ferrocyankalium in das unlösliche Berlinerblau übergeführt wird. Dringen beide Substanzen gleichzeitig in die Gallerte ein, so erfolgt momentan die Berlinerblaubildung, die Salzsäure hat keine Zeit, mit den Gallerttheilchen selbst in Berührung zu kommen, welche ihrer Wirkung gleich durch den neuen Niederschlagsmantel entzogen werden. Bei langsamer Einwirkung dagegen dringt die Salzsäure zuerst in die Scheide ein, löst das Eisenoxydhydrat, kommt noch kurz vor der Verwandlung desselben in direkte Berührung mit den Gallerttheilchen und veranlasst dieselben zu der Verquellung. Erst während derselben findet die Bildung des Berliner Blaus statt. So wirken bei diesem Abstoßungsprozess zweierlei Momente mit, ein chemisches: die Sprengung des Niederschlagsmantels, welcher die Micelle umgiebt, und ein physikalisches, ein die Quellung veranlassendes Mittel; das Vorhandensein eines festen Niederschlages bedingt zugleich die besondere Art der Quellung. Der chemische

Prozess der Berlinerblaubildung selbst ist für die Verquellung gleichgültig. Es gelingt, wenn auch nicht so auffällig, dieselbe zur Beobachtung zu bringen bei Behandlung von Eisenoxydhydrat enthaltenden Gallertscheiden mit sehr langsam einwirkender, sehr verdünnter Salzsäure, welche zuerst den Mantel des Eisenoxydhydrats sprengt, quellend auf die frei gelegte Gallerte wirkt und dann erst endgültig den Niederschlag löst. Eine bloße Lösung des Niederschlages durch ein sonst nicht quellend wirkendes Mittel, wie z. B. die Entfernung des Chromgelbs aus der Gallerte durch Kali, veranlasst keine Veränderung der letzteren.

Dieselben Verquellungserscheinungen wird man auch durch andere Prozesse erzeugen können. Ich halte es für wahrscheinlich, dass bei der Verquellung der in Glyk.-Ppt. verdickten Scheiden durch Chlorzinkjod dasselbe insofern in analoger Weise wirkt, wie in dem Falle der Berlinerblaubildung die Salzsäure, als sie eine chemische Veränderung, wenn auch keine Lösung der eingelagerten Substanz veranlasst, wobei es dann möglich ist, die für kurze Momente frei gelegten Gallerttheile zur Quellung zu bringen. Noch ähnlicher ist aber die Wirkung des Schwefelwasserstoffwassers auf verdickte Zygneimen, welche einige Zeit in Sublimat gelegen haben. Allmählich tritt eine Zersetzung ein, dann eine Verquellung der Scheide, deren Resultat eine blasig und faltig erhobene Gallertmasse ist, in welcher Schwefelquecksilber vorhanden ist. Auffallenderweise kann aber auch Verquellung durch eine einfache Farbstofflösung herbeigeführt werden. Eine frisch bereitete Vesuvinslösung färbt sehr intensiv die Gallertscheide von *Zygnema C.*, und der Farbstoff wird außerordentlich fest gehalten. Als ich eine mehrere Monate alte Lösung desselben Farbstoffes anwandte, trat merkwürdigerweise eine sehr scharfe peripherische Begrenzung der Scheide auf, dann allmählich eine Verbreiterung derselben und nach und nach auch ein blasenförmiges Hervorwölben oder sogar Abheben der peripherischen Schicht in Form eines weiten Schlauches. Da mir unbekannt ist, was für chemische Veränderungen beim längeren Stehen einer Vesuvinslösung eintreten, muss ich auf eine weitere Erklärung der Erscheinung verzichten.¹⁾

Mit der gelungenen künstlichen Herbeiführung des Abstoßungsprozesses ist nun aber für die eigentliche Frage, welche Vorgänge dabei in der Gallerte lebender Zygneimen eine Rolle spielen, sehr wenig gewonnen. Höchst wahrscheinlich sogar kommen ganz andere Momente dafür in Betracht. Das Unterscheidende des Vorgangs bei lebenden Zygneimen von dem durch Salzsäure hervorgerufenen an toden beruht

1) Beiläufig mag hier noch erwähnt werden, dass ein Abheben der Gallertscheide theils in Form einzelner Blasen, theils in Form eines faltigen Schlauches auch durch die Wirksamkeit der Fäulnisbakterien herbeigeführt wird. *Zygnema C.*, welche wochenlang in einer faulenden Peptonlösung lag, zeigte obige Erscheinung. Jedoch geht dieser Verquellungsprozess sehr langsam vor sich, da selbst nach 7 Wochen noch viele sonst ziemlich ausgefaulte Zygneimen eine unveränderte Gallertscheide zeigten.

vor allem darin, dass der Niederschlag bei dem Prozess nicht chemisch verändert wird. Infolge dessen ist jede Annahme, nach welcher die Zellen etwa Säuren ausscheiden, um die Abstoßung des Niederschlages zu besorgen, ausgeschlossen und ebenso die in solchen Fällen sonst so beliebte Vorstellung von Fermenten. Denn die letzteren könnten doch nur in der Weise wirken, dass sie die Gallerte in einen leicht verquellenden Schleim überführten, aber damit ist das erste, die Lockerung und Lösung der Gallerttheile von dem sie umgebenden Niederschlag, nicht erklärt. Wie wir bei der Erforschung aller Lebenserscheinungen stets damit endigen, vor dem dunklen Räthsel des Protoplasmas stille zu stehen, und uns begnügen müssen, auf seine uns unbekannt Organisation hinzuweisen, so ist es auch hier in ähnlicher Weise der Fall mit der eigenartigen Abstoßungserscheinung von Seiten der Gallerte. Man muss sagen, dass der Grund hierfür eben in der ganz besonderen Organisation derselben, speziell des einen Bestandtheiles liege, ohne dass es aber vorläufig dabei möglich ist, das Wesen dieser Organisation klar darlegen zu können.

3) Über das Verhältniss der Gallertscheide zu der Zellmembran und das Wachsthum beider.

Aus der ganzen vorhergehenden Darstellung geht hervor, dass die Gallertscheide kein einfaches Degenerationsprodukt der Zellhaut ist, entsprechend wie etwa die Samenschleime, sondern ein besonders gebautes selbständiges Organ der Zelle. Die Frage nach dem näheren Verhältniss desselben zu der Zellhaut führte zugleich zu einer Untersuchung der letzteren. Zunächst ist zu betonen, dass beide Organe stets vollkommen scharf getrennt erscheinen, sodass man nie über die Grenze beider im Zweifel bleibt. Äußere Schichten der Zellhaut, welche etwa in ihrem Aussehen oder ihren Eigenschaften Übergänge zu der Gallerte zeigen, habe ich bisher niemals beobachtet. Die bis dahin vorwaltende Anschauung von der Entstehung der Scheide durch Vergallertung der Zellhaut ist überhaupt eine bloße Annahme, wofür eigentliche Thatsachen nicht vorliegen. Meine Beobachtungen haben wie bei den Desmidiaceen zu der Anschauung geführt, dass die Gallertscheide auch eine von der Zellhaut unabhängige Entstehung hat durch Ausscheidung von Seiten des lebenden Cytoplasmas der Zelle. Wenn auch von vorn herein zuzugeben ist, dass ein unumstößlicher Beweis für diese Vorstellung sich nicht hat geben lassen, so weisen doch eine ganze Reihe verschiedener Thatsachen auf ihre hohe Wahrscheinlichkeit hin, Thatsachen, welche bei der vergleichenden Untersuchung von Zellhaut und Scheide sowohl in den verschiedenen Eigenschaften als auch in der Wachstumsweise beider sich bemerkbar machen.

a. Die Eigenschaften von Zellhaut und Gallertscheide.

Im allgemeinen sind es dieselben Farbstoffe, welche Zellhaut und Gallerte färben, vor allem Vesuvin, Methylviolett, Methylenblau. Indessen ist die Anziehungskraft der Zellhaut eine sehr viel größere, da sie immer zuerst sich färbt und auch bei Verdünnungen der Lösung, bei welchen keine Färbung der Scheide mehr eintritt. Sehr viel lebhafter als die letztere färbt sich die Zellhaut mit Cyanin, Gentianin, Saffranin. Einen Farbstoff giebt es nun auch, welcher nur die Zellhaut färbt und niemals die Gallerte, nämlich Kongoroth, zugleich eine Substanz, welche in sehr weiten Grenzen vollkommen unschädlich ist. Bei Kultur von Zygnumen in Kongoroth, dann Einlagerung von Berlinerblau in die Scheide, hebt sich der grüne Zellinhalt von der rothen Zellhaut und der tiefblauen Scheide sehr überraschend hervor. Auf diese Färbung der Zellhaut mit Kongoroth lege ich einigen Werth, insofern dieselbe hier bei den Zygnumen und auch bei einigen anderen Algen als eine Art Reagens auf Cellulose erscheint. Es ist hier gleich zu bemerken, dass nicht der verschiedene physikalische Zustand von Gallerte und Zellhaut die verschiedene Färbfähigkeit bedingt. Wenn die Zellen von *Zygnema A.* in Ruhezustand übergehen, verdicken sich die Zellwände stark und bei dem späteren Absterben und Faulen der Fäden gehen diese inneren Zellwandschichten in Verquellung über, so dass sie in Form von gallertigen oder schleimigen Massen die äußerste Zellwandlage durchbrechen und nach außen quellen. Diese verschleimten Zellwände zeigen noch dieselbe Färbung mit Kongoroth.

Die Reaktionen auf Cellulose, welche in keiner Weise bei der Gallerte zu erzeugen sind, gelingen leicht bei der Zellhaut. Schon konzentrirte wässrige Jodjodkaliumlösung, besser Chlorzinkjod färben sie violett, Jod und Schwefelsäure blau. Bei der Anwendung des zuerst genannten Reagens, bei welcher die Gallerte erhalten bleibt, erscheint sie ganz farblos neben der violetten Zellhaut.

Die Zellwand der Zygnumen besteht nun keineswegs aus reiner Cellulose, sie enthält, wie bei fast allen Pflanzenzellen, gewisse Beimengungen. Analog wie bei der Gallertscheide muss man zwei Hauptbestandtheile in ihr annehmen, das eigentliche Kohlehydrat und eine Substanz von unbekannter chemischer Natur. Die Trennung geschieht am einfachsten durch Kochen mit verdünnter Salzsäure, wobei reine, in Kupferoxydammoniak sofort lösliche, die Zellstoffreaktionen sehr deutlich aufweisende Cellulose zurückbleibt. Die Lösung des andern Bestandtheiles aus der Zellhaut erkennt man an dem Verlust der Färbfähigkeit mit Methylviolett, Methylenblau. So zeigt sich in diesem Verhalten eine gewisse Ähnlichkeit mit der Gallertscheide, da auch bei dieser die Färbbarkeit nur dem einen ihrer Bestandtheile verdankt wird. Jedoch andererseits offenbaren sich dabei zugleich Unterschiede. Kochen mit Wasser, Chlorzinkjod verändern die

Zellhaut nicht, ihren färbbaren Bestandtheil verliert sie erst bei Anwendung von anorganischen Säuren oder durch Wasserstoffsuperoxyd. Sehr bemerkenswerth ist es, dass die gereinigte, mit Methylenblau nicht mehr färbbare Zellhaut in unveränderter Weise Kongoroth in sich fixirt.

In dem Verhalten zu Glykose-Pepton zeigt sich ebenfalls einerseits eine Ähnlichkeit, andererseits ein Unterschied zwischen Zellhaut und Scheide. Auch die erstere nimmt aus der Lösung einen stickstoffhaltigen Stoff in sich auf, infolge dessen sie sich mit Jod goldgelb färbt, was vorher nicht der Fall ist. Dieser neu eingelagerte Bestandtheil ist aber ein anderer, als der die Verdickung der Gallertscheide hervorrufende, da er nicht in kochendem Wasser¹⁾ löslich ist, sondern erst verschwindet bei Anwendung von stärkeren Säuren und Wasserstoffsuperoxyd. Er verhält sich also wie der eine Bestandtheil der Zellhaut und seine Einlagerung hängt auch von dessen Vorhandensein ab. Denn mit Salzsäure gereinigte Zellhaut hat sowohl die Fähigkeit verloren, mit Methylenblau sich zu färben, wie diejenige aus Glyk.-Ppt., eine stickstoffhaltige Substanz einzulagern. Beide Fähigkeiten hängen nicht von der Cellulose, sondern dem andern nicht näher bekannten Bestandtheil der Zellwand ab. Ein fernerer Unterschied gegenüber der Scheide zeigt sich in dem Verhalten zu konzentrirtem Sublimat. Dieses bewirkt eine Veränderung der Scheide, so dass sie in Glyk.-Ppt. sich nicht mehr zu verdicken vermag, während die entsprechende Fähigkeit der Zellhaut nicht dadurch beeinträchtigt wird.

Während die Gallertscheide eine charakteristische Struktur, je nach den Arten, in verschiedenem Grade der Ausbildung besitzt, zeigt die Zellwand von *Zygnema* keine analoge Erscheinung. Vielleicht gehört nur eine Beobachtung hierher, welche an Zellhäuten von *Zygnema C.* gemacht wurde, welche 24 Stunden in Kupferoxydammoniak gelegen hatten. Hierin quollen die Zellwände sehr stark auf und es scheint auch eine theilweise Lösung stattzufinden. Bei den meisten dieser verquollenen, bisweilen aufgerissenen und hautähnlich ausgebreiteten Zellwände sah man eine Art grober Längsstreifung. Viel deutlicher trat die Struktur nach Färbung mit Methylenblau hervor, in welchem sich der Länge nach verlaufende, häufig aber durch schiefe Querstreifen zu einem Netzwerk vereinigte blaue Balken von einer kaum gefärbten Grundsubstanz abhoben. Dieses System von Längsbalken resp. das Netzwerk wurde nach Behandlung mit absolutem Alkohol noch etwas schärfer sichtbar, ebenso nach Kochen mit Wasser, wurde nicht deutlich bei Anwendung von Chlorzinkjod, Kongoroth, da bei beiden eine gleichmäßige Färbung der aufgequollenen Zellhaut stattfand. Vielleicht stellen

1) Bei längerem Liegen in reinem Wasser geht auch die in die Zellhaut eingelagerte Substanz verloren (vergl. p. 360 Anmerkung), erhält sich aber länger, als die der Scheide. In Glykose-Pepton, dem Thymol zugesetzt ist, bleibt die Substanz beliebig lange Zeit in der Zellhaut.

diese Balken diejenigen Stellen dar, in welchen der mit Methylenblau färbare Bestandtheil in besonderer Dichte eingelagert ist. Jedoch lag eine weitere Verfolgung der Beobachtung nicht in meiner Absicht. Hervorzuheben ist nur, dass die Gallertscheide nicht in Kupferoxydammoniak quillt, wie die Zellhaut, sondern in ihrer Breite unverändert bleibt, dagegen die Färbefähigkeit mit Methylenblau aus nicht näher untersuchten Ursachen in hohem Grade einbüßt.

Aus dem Vergleich der Eigenschaften von Zellhaut und Gallertscheide ergibt sich, dass beide neben einigen Analogien wesentliche Unterschiede zeigen und gerade solche, welche von vorn herein die Entstehung der letzteren aus der ersteren unwahrscheinlich erscheinen lassen. Der Hauptbestandtheil der Zellhaut ist Cellulose, derjenige der Gallerte eine Substanz, die nicht bloß in allen Beziehungen davon verschieden ist, sondern auch mit den sonstigen Umwandlungsprodukten der Cellulose wie den Schleimen, Gummiarten u. s. w. keine Ähnlichkeit zeigt. In mehr positivem Sinne sprechen aber vor allem die Wachstumserscheinungen der Zellhaut für meine Anschauung von der davon unabhängigen Entstehung der Gallertscheide.

b) Das Wachstum von Zellhaut und Gallertscheide.

Die Zellhaut der Zellen eines *Zygnema*-Fadens setzt sich zusammen aus Quer- und Längswänden; die Dicke der letzteren bleibt im normalen vegetativen Zustand bei allen Zellen wesentlich dieselbe, während bei den Querwänden dünnere und dickere je nach dem Alter in verschiedenen Abstufungen des Durchmessers sich unterscheiden lassen. An jeder Zellwand unterscheide ich zwei Schichten, die primäre, welche mit der der Nachbarzelle zu einem einheitlichen Häutchen vereinigt ist, und eine sekundäre, das Cytoplasma direkt umkleidende¹⁾. Die gleichmäßige Dicke der Längswände kann nur davon herrühren, dass in demselben Maße, wie durch Längsstreckung mit vorher oder nachher erfolgender Zweitheilung die Zellhaut dünner gemacht wird, jedenfalls ein Wachstum in die Dicke eintritt. Der nähere Vorgang dieses Zellhautwachstums stellt hier wie in den meisten anderen Fällen bei Pflanzenzellen ein noch nicht klar gelöstes Problem dar. Durch SCHMITZ²⁾, besonders die ausführliche Arbeit von STRASBURGER³⁾

1) *Spirogyra orthospira* ist ganz entsprechend wie *Zygnema C.* gebaut; früher (Zellbildung und Zelltheilung. 2. Aufl. p. 50) unterschied STRASBURGER an der Zellwand außer der Gallertscheide ebenfalls zwei Schichten; in seinem neuesten Werk »Über Bau und Wachstum der Zellhäute« p. 68 unterscheidet S. außer der Gallertschicht, welche er als Cuticula bezeichnet, nur eine einzige Zellhautschicht. Das Verhalten gegen Reagentien, besonders aber bei dem Zerfall der Fäden in einzelne Zellen lassen die letztere Ansicht als nicht richtig erscheinen.

2) SCHMITZ, Über Bildung und Wachstum der pflanzlichen Zellmembran. Sitz.-Ber. d. niederrh. Gesellsch. f. Nat. u. H. Bonn 1880.

3) STRASBURGER, Bau u. Wachstum der Zellhäute. 1882.

ist die Appositionstheorie in den Vordergrund gesetzt; sie ist aber noch nicht allgemein durchgedrungen, was wohl daran liegt, dass selbst in denjenigen Fällen, in denen nach den Angaben Appositionswachsthum höchst wahrscheinlich ist, die Intussusceptionstheorie nicht ganz ausgeschlossen ist und andererseits die letztere für manche andere Fälle eine bessere Erklärung der Erscheinungen darzubieten scheint. WIESNER¹⁾ hat neuerdings wieder eine Art von Intussusceptionswachsthum für alle Zellhäute vertheidigt, allerdings mehr aus theoretischen und nicht ganz stichhaltigen Gründen. Die große Schwierigkeit, welche der Erforschung des Dickenwachsthums sich entgegenstellt, ist der Mangel einer bestimmten fest fixirten Marke in der Membran, an welcher bei dem weiteren Wachsthum der letzteren sicher zu erkennen ist, in welcher Weise die Verdickung erfolgt. Die Zygneten bieten nun nach dieser Hinsicht ein sehr lehrreiches Objekt dar. Kultivirt man *Zyg. C.* längere Zeit in 0,4 % Eisenweinstein, so beobachtet man an den lebenden Zellen schwarze körnige Massen, welche an der Innenseite der Zellwand sitzen, bei der Plasmolyse daran haften bleiben und überhaupt eine unverrückbare Stellung einnehmen. Dieselben schwarzen Körner treten als häufige Erscheinung auf nach Einlagerung verschiedenster Eisenverbindungen in die Gallertscheide, und entsprechende aber anders, z. B. rothbraun gefärbte Massen finden sich auch nach Einlagerung anderer Körper, besonders von Bleioxydsalzen, ferner von Uran-, Thonerdesalzen. In allen Fällen ohne Ausnahme sitzen die Körner an der Innenseite der Zellhaut, zeigen sich aber sonst sehr mannigfaltig. Meist sind es Körner, die zu dicht gedrängten, sehr verschieden großen Häufchen vereinigt sind (III. Fig. 49 r); bisweilen legen sie sich zu hautartig ausgebreiteten Flächen zusammen, welche in einzelnen Fällen, besonders nach Einlagerung von Albuminbleioxyd, mitunter auch von Katechubleioxyd, fast $\frac{1}{4}$ des ganzen Zellumfangs einnehmen. Diese Körnerhaufen sind an normalen *Zygnema*-Fäden nicht vorhanden, sie sind eine direkte Folge der Einwirkung der Salzlösungen, und wohl nur in denjenigen Fällen, wo die Niederschläge in der Gallerte nicht ganz unlöslich, resp. leichter zersetzlich sind, wie z. B. beim Katechubleioxyd, kann auch nach dem Prozess der Einlagerung noch eine Vermehrung dieser Ausscheidungen vor sich gehen. Es ist keine Frage, dass aus dem Zellplasma infolge einer Reizwirkung das Material für diese Ausscheidung geliefert wird, und höchst wahrscheinlich ist es, dass die in den *Zygnema*-Zellen so reichlich vorhandenen Gerbstoffbläschen zum Austritt aus dem Plasma und zur Verbindung mit dem Eisenoxyd resp. Bleioxyd zu unlöslichen, an der Zellwand festhaftenden Massen veranlasst werden. Die

1) WIESNER, Untersuchungen über die Organisation der vegetabilischen Zellhaut. Sitz.-Ber. d. Wiener Akad. 1886. — Ich erhielt die Arbeit, als meine eigene schon im wesentlichen fertig war; so werde ich an anderer Stelle meine Ansicht über die Auffassung von WIESNER aussprechen.

schwarzen Körner, in denen das Eisenoxyd sich leicht nachweisen lässt, haben bisweilen noch vollständig die ursprüngliche Form der Gerbstoffbläschen, und das Vorhandensein einer schwarzen Eisenverbindung weist noch klarer auf den Gerbstoffgehalt der Ausscheidungen hin. In jenen Zellen, an denen ganz besonders große Massen ausgeschieden sind, wie z. B. bei Albuminbleioxyd, sind fast sämtliche Gerbstoffbläschen verschwunden, so dass der Zellinhalt ein sehr lichtgrünes, klar durchsichtiges Aussehen angenommen hat.

Die *Zygnema*-Fäden mit solchen schwarzen oder rothbraunen Marken an der Innenseite der Zellwand sind sonst nach allen Beziehungen gesund und lebenskräftig und zeigen Wachstum. Jetzt stellt sich die Frage ein, ob dasselbe durch Intussusception oder Apposition geschieht. Im ersteren Falle müssten die schwarzen Körner stets an der Innenseite bleiben und sich durch die neu sich einlagernde Zellhautsubstanz von der äußeren peripherischen Schicht immer weiter entfernen; im zweiten Falle müssten sie dagegen eingeschlossen werden von der neu sich auflagernden Zellhautlamelle und sich bei weiterer Dickenzunahme immer weiter von der inneren Schicht der Zellhaut entfernen. Man überzeugt sich nun sicher, dass der zweite Fall bei den *Zygnemen* eintritt. Namentlich bei solchen Zellen, welche, ohne in die Länge zu wachsen, nur stark ihre Zellhaut verdicken, lagern sich dabei neue Lamellen über die schwarzen oder braunen Marken (III. Fig. 48). Bei Längenwachstum, welches allerdings bei den *Zygnemen* in Zimmerkulturen nie sehr ausgiebig ist, werden die äußeren Zellwandschichten wie es scheint allmählich gesprengt und die Ausscheidungen mit ihnen aus der Zelle entfernt. Wenigstens beobachtete ich solches sicher bei Fäden mit schwarzen Körnern, weil lange Zeit noch Fetzen der alten Zellwand erhalten blieben, an denen die Körner saßen (III. Fig. 47, 22). Was an diesen Beobachtungen ferner noch interessirt, ist, dass die Erhaltung dieser Zellwandfetzen dafür spricht, dass sie nicht etwa in Gallerte metamorphosirt werden.

So geben diese Beobachtungen für den bestimmten Fall von *Zygnema* eine vollkommene Bestätigung der Theorie von STRASBURGER, was noch klarer bei der weiteren Untersuchung hervortritt. Die beiden Momente des Zellhautwachstums, die Apposition neuer Zellhautlagen und die Dehnung, schließlich Absprengung der ältesten Lagen lassen sich noch vielfach beobachten in Folge der Wachstumserscheinungen, welche nach Einlagerung mancher Niederschläge in die Gallerte vorgehen. Einige derselben, wie z. B. die Eisenverbindungen, werden, wie früher bemerkt, nicht abgestossen, und immer gibt es bei *Zyg. C.* eine Anzahl Zellen, welche dabei nicht zu Grunde gehen. In allen Fällen wird durch die Einlagerung, bei welcher höchst wahrscheinlich, manchmal direkt nachweisbar, Niederschlagstheilchen auch in die peripherische Zellhautschicht eindringen, die Dehnbarkeit der letzteren aufgehoben. Bleibt nun die Zelle lebend, so kann zweierlei eintreten. Der Widerstand der erstarrten Zellhaut ist zu groß für die Zelle,

welche infolge dessen nicht in die Länge wachsen kann und sich begnügt, in einen Ruhezustand überzugehen, für welchen sie neue Zellhautlamellen bildet. Besonders häufig tritt dieser Zustand ein bei *Zyg. A.* nach Einlagerung des unschädlichen Katechubleioxyds, welches sie nur in geringem Maße abstoßen kann. Hier bilden sich mächtige Zellhautauflagerungen in mannigfachster, oft sehr unregelmäßiger Form, bisweilen fast die Hälfte des ursprünglichen Zellvolumens einnehmend (III. Fig. 26 z). In andern Fällen, besonders bei *Zygnema C.*, gelingt es den einzelnen Zellen, sich aus dem Verbande zu lösen, indem nach Sprengung der primären Zellhautschicht an den Querwänden die letzteren sich herauswölben, und jetzt die Zellen frei in die Länge wachsen können. Die alte primäre Schicht bleibt dann sehr lange als Mantel auf den sich lebhaft theilenden Zellen sitzen, dieselben besitzen nicht die Fähigkeit, aus derselben etwa Gallerte zu bilden. Bei solchen aus dem Verbande gelösten und sich theilenden Einzelzellen beobachtet man, wie schon nach der ersten Theilung eine neue Sprengung der nächst jüngeren Zellhautschicht an einem oder an beiden Enden eintritt, wobei die herauswachsenden Zellen an den freigelegten Stellen sofort mit neuer Gallerte sich umgeben.

Eigenartiger gestaltet sich das Wachsthum bei solchen Zellen, welche nicht an den Querwänden sich von einander trennen können. In diesem Falle sucht die Zelle knieförmig die alte Zellhaut an den Seitenwänden zu durchbrechen und allmählich herauszuwachsen. So beobachtete ich es besonders häufig bei *Zygnema B.* nach Einlagerung von Katechubleioxyd, wobei es ziemlich gleichgültig war, ob der Niederschlag mit der Gallerte abgestoßen war oder nicht. Im letzteren Falle war es auffallend, wie nur an der Stelle, wo die erste knieförmige Ausbuchtung sich bemerkbar machte, eine starke Verquellung der Gallerte stattfand, was hier wohl auf eine direkte Folge der Wirkung von Seiten des Cytoplasmas zurückzuführen ist. An der Kniestelle wird sehr bald die alte primäre Zellwand gesprengt, und die Zelle, mit der sekundären Schicht umkleidet, wölbt sich ganz allmählich hervor (III. Fig. 45, 46, 20). Sowie die dünne Zellwand mit der Außenwelt in direkte Berührung kommt, und nur soweit das geschieht, bedeckt sie sich mit neuer Gallerte, welche, wie Methylviolett färbung deutlich zeigt, in Form kleiner schmaler, häufig etwas gekrümmter Strahlen auftritt (III. Fig. 45). Man kann nun mit den besten optischen Hilfsmitteln die direkte und ununterbrochene Kontinuität der Zellhaut an diesen schleimbildenden Stellen mit den noch von alter Zellhaut bedeckten Partien nachweisen und ebenso das völlige Unverändertsein der ersteren, was mit der Annahme der Verschleimung nicht vereinbar ist. Die gesprengte alte Zellhülle bleibt vollständig erhalten und kann erst recht keine Rolle bei der Gallertbildung spielen, so dass die Anschauung von der allmählichen Ausscheidung der Gallerte durch die junge neue Zellwand von Seiten des Cytoplasmas als das Wahrscheinlichste erscheint. Man könnte allerdings den Einwand erheben, dass erst in Folge

der Einlagerung eines Niederschlages die primäre Zellhautschicht ihre Fähigkeit zu vergallerten verloren hat. Indessen ist der Einwand nicht stichhaltig. Denn auch bei ganz normalen Fäden ist gerade diese primäre Schicht diejenige, welche der Quellung am stärksten widersteht und welche bei der Fäulnis bis zuletzt erhalten bleibt, während die innere Zellhautschicht dabei verquillt.

In der bisherigen Betrachtung ist hauptsächlich auf solche *Zygnema*-Zellen Rücksicht genommen, welche unter besonderen Umständen Theilung und Membranwachsthum zeigten. Es taucht die Frage auf, wie das letztere unter ganz normalen Verhältnissen vor sich geht. Kein Grund ist vorhanden zu der Annahme, dass dabei das Wachsthum wesentlich anders verläuft. Die Apposition neuer Zellhautlamellen ist mit Hülfe der schwarzen Marken nachgewiesen worden bei sonst ganz normalen Fäden. Schwieriger ist die Frage, was aus den älteren Zellwandpartien wird. Augenscheinlich besitzen sie ein größeres Dehnungsvermögen, als unter den früher erwähnten Verhältnissen. Andererseits erscheint die von SCHMITZ¹⁾ und STRASBURGER für das Wachsthum anderer Fadenalgen angenommene beliebig große Dehnung, durch welche schließlich die älteren Zellhautlamellen zu einem gemeinsamen dünnen Häutchen zusammengeschweißt werden, sehr unwahrscheinlich. Vielmehr werden nach meiner Ansicht schließlich nach einer Anzahl von Zelltheilungen die ältesten und äußersten Zellwandschichten stets gesprengt, und die infolge der Dehnung sehr dünnen Hautfetzen verkleben mit den nächst jüngeren. Hierfür spricht die früher beschriebene direkte Beobachtung solcher Sprengungen und weiterhin auch das Vorhandensein von Resten der Zellhautlamellen an den älteren Querwänden. Bei jeder Bildung einer neuen Membranlamelle, besonders nach neuer Theilung wird dieselbe gleichzeitig an der ganzen Peripherie ausgeschieden. Je länger daher eine Querwand zu einer Zelle gehört, welche beständig neuen Theilungen unterworfen ist, desto dicker muss sie werden. Solche besonders dicken, stark lichtbrechenden und folglich alten Querwände sind gerade eine besondere charakteristische Erscheinung in den *Zygnemen*fäden. Es lässt sich nun nachweisen, dass diese dicken Querwände aus einzelnen Lamellen bestehen, welche nicht, wie nach der Auffassung von SCHMITZ und STRASBURGER gefordert wird, alle in die gemeinsame Zellhautschicht des Fadens übergehen, sondern vielmehr frei endigen, wobei die freien Enden häufig deutlich schief aufwärts gerichtet sind (III. Fig. 24), ein klares Zeichen dafür, dass jede der Lamellen einer Zellwandschicht entspricht, welche im Laufe der Fadenentwicklung gesprengt worden ist. Am einfachsten erkennt man diesen Bau der dicken Querwände durch Färbung mit Kongoroth.

Das Wachsthum der Gallertscheide selbst wird man sich in der Weise

1) SCHMITZ l. c. p. 7; STRASBURGER l. c. p. 180 u. w.

vorstellen müssen, dass es jeder Längsstreckung der Zelle folgt, indem immer neue Gallerttheile vom Plasma aus durch die Membran ausgeschieden werden. Man hat es in der Gewalt, die Zelle zur Gallertausscheidung zu bringen dadurch, dass man die Fäden in einzelne Stücke zerschneidet. Schon nach 24 Stunden findet sich in allen durch den Schnitt freigelegten und lebend gebliebenen Zellen an denjenigen Querwänden, welche mit der Außenwelt in direkte Berührung treten, Gallerte ausgeschieden, und auch hierbei lässt sich an denselben keine Veränderung beobachten, die zu sehen sein müsste, wenn wirklich die Querwand selbst in ihrer äußeren, der Nachbarzelle ursprünglich angehörenden Schicht vergallerten würde. Bei jenen *Zygnema*-Fäden, bei welchen lebhaft Abstoßung von Gallerte sammt Niederschlägen, wie z. B. Chromgelb, erfolgt ist, scheint die neue Gallertausscheidung ziemlich langsam vor sich zu gehen. Doch lassen sich genauere Daten wegen der Ungleichmäßigkeit des Abstoßungsprozesses nicht gewinnen.

Über den genaueren Vorgang der Gallertausscheidung herrscht vorläufig tiefes Dunkel; wir stehen wieder vor dem Räthsel des Protoplasmas. Doch möchte ich auf eine eigenthümliche Erscheinung aufmerksam machen, welche möglicherweise mit dieser Ausscheidung in Beziehung ist, für alle Fälle aber erwähnenswerth erscheint. Schon früher wurde hervorgehoben, dass in dem Plasma der *Zygnema*-Zellen sehr reichlich kleine runde Bläschen vorhanden sind, welche sehr lebhaft, während die Zellen noch lebend sind, Farbstoffe wie Methylviolett, Methylenblau aufnehmen. Prof. PFEFFER¹⁾ hat diese Bläschen einer Untersuchung unterzogen und nachgewiesen, dass sie aus zweierlei Substanzen bestehen, einem die Farbstoffe anziehenden Gerbstoff und einer Grundsubstanz, welche schleim-, vielleicht eiweißartiger Natur ist. Bei dem Tode der Zellen gehen diese Bläschen sehr schnell zu Grunde. Bei manchen zarten *Zygnema*-Fäden, welche wahrscheinlich zu *Zyg. B.* gehörten, trat nach Zusatz von Methylviolett zuerst eine lebhaft Violettfärbung der Bläschen ein und dann eine Verquellung in der Art, dass sie sich stark verbreiterten, zuerst zu einer Scheibe, dann zu einem Ringe. Auffallenderweise dringen die in der Nähe der Hautschicht vorhandenen Bläschen während der Quellung durch die Zellmembran, so dass im geeigneten, allerdings sehr vorübergehenden Moment die Zellhaut mit blauen Höckern durchsetzt erscheint, während sie selbst ganz schwach, die Gallertscheide gar nicht gefärbt ist (III. Fig. 24). Bei Anwendung von 40—42 % Zuckerlösung, in welcher man Methylviolett etwas gelöst hat, gelingt es mitunter, einen solchen Moment zu fixiren, wo die blauen, durch die Zellwand quellenden Bläschen noch mit dem schon etwas kontrahirten Zelleibe im Zusammenhang stehen (III. Fig. 23). Die einfache Färbung mit Methylviolett veranlasst also ein Herausquellen der Gerbstoffbläschen durch Hautschicht und Zellhaut. Diese eigenthümliche Reaktion der Bläschen gelingt

1) PFEFFER, Über Aufnahme von Anilinfarben in lebende Zellen; dieses Heft p. 235.

immer nur an einzelnen Fäden, oft nur an einzelnen Zellen; es ist unbekannt, von welchen Umständen dieses Verhalten abhängt. Das Methylviolett darf nicht zu verdünnt sein, weil dann keine Quellung erfolgt, es darf nicht zu konzentriert sein, weil dieselbe zu schnell erfolgt und vor allem weil das Protoplasma zu rasch kränkelt, und die ganze Reaktion gelingt nur, so lange noch die Zelle lebend ist.

Die Ursache der Quellung der Gerbstoffbläschen liegt wohl nicht in deren Gerbstoffgehalt, sondern in dem anderen schleimartigen Bestandtheil. Der Gedanke liegt nahe, anzunehmen, dass gerade diese Bläschen, welche so reichlich stets vorhanden sind und die doch eine wichtige physiologische Funktion ausüben müssen, vielleicht das Material für die Gallertausscheidung liefern. Dagegen könnten die Thatsachen sprechen, dass einmal reichlich ähnliche Gerbstoffbläschen bei Algen ohne Gallertscheide, wie *Mougeautia genuflexa* vorkommen, dass andererseits dieselben fehlen bei Algen mit Scheiden, wie z. B. bei *Spirogyra orthospira*. Indessen braucht der Vorgang nicht bei allen Formen in gleicher Weise zu geschehen und möglicherweise sind unter den Bläschen überhaupt verschiedene Formen zu unterscheiden, von denen die einen in analoger Weise für die Bildung der Zellhaut verbraucht werden. Man beobachtet stets bei *Zygnema* kleinere und größere, dichtere und weniger dichte und in verschiedenem Grade sich färbende Gerbstoffbläschen.

Übrigens will ich auf diese Hypothesen kein Gewicht legen; mir schien die Beobachtung deshalb so bemerkenswerth, als sie nachweist, dass tatsächlich gewisse Stoffe vom Cytoplasma lebender Zellen aus durch die Hautschicht und die Zellhaut heraustreten können, so dass dadurch meine Vorstellung von der Entstehung der Gallerte klar veranschaulicht wird.

II. Die Gallertbildungen bei anderen Conjugaten.

Von den zahlreichen Formen der Zygnemeen und Mesocarpeen sind, abgesehen von *Zygnema* selbst, nur einige wenige von mir untersucht worden, weil sie wenig Besonderheiten zeigten. Die meisten *Spirogyra*-Arten sind frei von Gallertscheiden, nur eine kleine Anzahl besitzt dieselben. Eine wenig ausgebildete, sehr schmale Scheide findet sich z. B. bei *Spirogyra setiformis*, am kräftigsten entwickelt dagegen bei *Sp. orthospira*, bei welcher der Entdecker der Art NÄGELI sie schon bemerkt hat¹⁾. Bezüglich des Aussehens, der Eigenschaften verhält sich die Gallertscheide dieser Spezies fast genau wie die von *Zygnema C.*; sie stellt eine homogene lichtbrechende Masse dar, welche lebhaft Methylviolett, Methylenblau aufnimmt, in Glyk.-Ppt. sich verdickt und hierbei, sowie nach Alkoholbehandlung, eine äußerst

1) NÄGELI in Pflanzenphysiologische Untersuchungen. I. 1855. Taf. III. Fig. 4. N. beobachtete auch schon in der Gallerte Stäbchen, von welchen dann STRASBURGER nachwies, dass es Bakterien sind; Bau und Wachstum der Zellhäute p. 69.

zarte Stäbchenstruktur erkennen lässt. Sie besitzt ferner die Fähigkeit, Niederschläge wie Chromgelb, Berliner Blau abzustößen, dagegen nicht Thonerde-Alizarin. Analog wie bei *Zyg. C.* treten bei Kultur der Fäden in Eisenweinstein an der Innenseite schwarze, aber meist nicht deutlich körnige Massen auf, welche übrigens bei dieser Art auch aus anderen Gründen, als infolge Einwirkung bestimmter Salzlösungen sich zeigen können. Bemerkenswerth ist der Mangel an Gerbstoffbläschen und das Vorhandensein des Gerbstoffes hauptsächlich im Zellsaft.

Die Mesocarpeen verhalten sich bezüglich der Ausbildung einer Gallertscheide ebenfalls verschieden je nach den Arten; einige derselben, wie z. B. *Mougeautia genuflexa*, *Staurospermum coerulescens*, besitzen sie nicht, andere nicht näher bestimmte Arten zeigen dagegen eine wohl ausgebildete (vergl. z. B. III. Fig. 25 c), welche bei einer derselben auch eine sehr deutliche Stäbchenstruktur aufwies. Gegenüber Farbstoffen, Glykose-Pepton, Reagentien spricht sich ein den *Zygnema*-Arten und *Spirogyra* sehr gleiches Verhalten aus. Beiläufig mag hier bei den Mesocarpeen auf eine Erscheinung aufmerksam gemacht werden, welche übrigens auch bei vielen Spirogyren, weniger bei Zygnemen vorhanden ist. Es ist bekannt, dass die genannten Formen leicht in einzelne Zellen zerfallen, was ich ganz besonders bei Eintritt ungünstiger Umstände, wie z. B. bei Zusatz schädlicher Farbstofflösungen beobachtete. Diese leicht zerfallenden Fäden besitzen gewöhnlich linsenförmige, verhältnismäßig sehr dick erscheinende Querwände, an welchen die eigentlichen Zellhauttheile sehr dünn sind, die den breiten linsenförmigen Mittelraum umgeben. In demselben beobachtet man eine anscheinend weniger dichte, gallertartige Substanz, welche übrigens meistens den Raum nicht ganz ausfüllt (III. Fig. 25 a). In Glykose-Pepton tritt lebhaftere Verdickung sowohl der Membran wie auch ganz besonders des linsenförmigen Querraums ein (Fig. 25 b), und nach Behandlung mit Chlorzinkjod, in dem alle zur Membran gehörenden Theile violett werden, bleibt die verdickte Gallertmasse zwischen den Querwänden gelb gefärbt und erscheint feinkörnig, dabei etwas verquollen (Fig. 25 c). Sehr wahrscheinlich wirkt bei der schnellen Trennung der einzelnen Zellen eines *Mesocarpus*-Fadens die zwischen den Querwänden vorhandene Gallerte wesentlich mit. Die sonstigen Eigenschaften derselben wurden nicht untersucht.

Sehr viel ausführlicher sind im Folgenden die Desmidiaceen untersucht worden, welche neben ihrem Reichthum an zierlichen Formen auch eine große Mannigfaltigkeit der Gallertbildungen darbieten, welche bisher so gut wie unberücksichtigt geblieben sind. Zugleich ist bei diesen Algen die interessante Erscheinung vorhanden, dass die Ausscheidung von Gallerte in bestimmter ursächlicher Beziehung zu den eigenartigen Bewegungserscheinungen steht. Wir können in der Reihe der Formen zwei Hauptgruppen von Gallertbildungen unterscheiden, solche, welche entsprechend wie bei den Scheiden der Zygnemen beständig mit den Zellen in Verbindung

sich befinden, und solche, welche nur bei bestimmten Anlässen, wie bei der Theilung, der Konjugation, der Bewegung entstehen, und infolgedessen auch vielfach an den Zellen fehlen können.

Die gallertumscheideten Desmidiaceen gehören sowohl der Abtheilung der fadenbildenden wie der der einzeln lebenden Formen an. Am ausgebildetsten erscheint die Scheide bei der Gattung *Hyalotheca*. Die von mir allein untersuchte Species *dissiliens* bildet lange, etwas steife Fäden, welche stets von einer breiten, schwach lichtbrechenden Gallertscheide umgeben sind. Dieselbe ist gewöhnlich etwas schmaler, als der Breite der Zellen entspricht (IV. Fig. 4 f), kann aber, wie es scheint, bei manchen Varietäten fast das Doppelte derselben erreichen (IV. Fig. 4 a). Sie ist an der Peripherie regelmäßig undulirt durch kleine Einbuchtungen, welche den Zellgrenzen entsprechen. Im normalen Zustande ganz homogen, nimmt sie mit Methylblau, Methylviolett eine außerordentlich scharf hervortretende Stäbchenstruktur an. Man sieht bei der Längsansicht die Stäbchen zu 5—6 in regelmäßigen Gruppen sitzen, je eine an jeder Zellhälfte (IV. Fig. 4 e), welche ihrerseits an der Zellwand mit 5—6 regelmäßigen Reihen von kleinen Körnchen besetzt ist¹⁾ (IV. Fig. 4 g). Die Aufsicht zeigt nun aber, dass die Strukturelemente der Scheide nicht einfache Stäbchen sind, sondern dass dieselben die Form von vierseitigen umgekehrten Pyramiden haben, welche mit ihren Spitzen der Zellwand aufsitzen und allmählich sich gegen die Peripherie der Scheide verbreitern, und mit den Basen der benachbarten Elemente zu einem regelmäßigen polygonalen Netze vereinigen (IV. Fig. 4 b). Vielleicht noch schärfer ist diese Struktur sichtbar nach Aufenthalt der Fäden in Glykose-Pepton, in welchem eine sehr starke Verdickung stattfindet, so dass die Scheide sehr lichtbrechend und dick erscheint und selbst schon beim Druck in eine fädige Schleimmasse verquellen kann. Bei der Aufsicht (IV. Fig. 4 d) erscheint die Scheide aus viereckigen Stücken zusammengesetzt, die in Längsreihen angeordnet sind, und von welchen jedes wieder aus zahlreichen kleinen Körnchen besteht, während bei der Längsansicht die Stäbchenstruktur hervortritt (IV. Fig. 4 c). Bei Zusatz von Chlorzinkjod wird im ersten Augenblick der Wirkung die Struktur noch deutlicher, dann aber quillt die Gallerte in großen Blasen hervor, allmählich in eine formlose Schleimmasse übergehend, während große gelbe ölartige Tropfen der eingelagerten Substanz sich ausscheiden.

Eine zweite sehr verbreitete fadenförmige Desmidiacee ist *Desmidium Swartzii*, dessen Zellen doppelt so breit wie lang und durch eine mittlere Ringfurche an der Zellwand in zwei Hälften abgetheilt sind. Die Fäden sind

1) In den meisten systematischen Werken wird die Zellhaut von *Hyalotheca dissiliens* als glatt angegeben; WILLE beschreibt dagegen an einer Stelle eine sehr feine punktirte Membran. Fersk vandsalger fra Novaja Semlja. Öfversigt af Kgl. Vetens. Förh. 1879. p. 64. Ich habe überhaupt bisher keine *Hyalotheca* ohne die obige Struktur gesehen.

nur von einer sehr schmalen, bisher überhaupt übersehenen Scheide bekleidet, welche bei der Seitenansicht undeutliche Stäbchenstruktur aufweist. Klarer tritt bei Aufsicht eine Struktur hervor, indem die Scheide der Hauptmasse nach an jeder Zellhälfte aus etwa 7 regelmäßigen Reihen kleiner polygonaler Gallertkörperchen besteht, welchen auf der Zellhaut selbst Reihen kleiner Körnchen genau entsprechen (IV. Fig. 2a). Dieselbe Struktur wird auch sichtbar nach Aufenthalt in Glykose-Pepton, in welchem übrigens sonst nicht eine sehr intensive Verdickung stattfindet (III. Fig. 2b).

Bei *Desmidiüm*, dessen Fäden in größerer Anzahl sich gewinnen lassen, sind wiederholt Versuche mit Einlagerung von Niederschlägen angestellt worden. Chromgelb, Berliner Blau wird lebhaft abgestoßen bei anscheinend vollständiger Verquellung der Gallerte zu einer formlosen Schleimmasse. In 0,4 % essigsauerm Eisen kultivirt, nahmen die Fäden lebhaft Eisenoxydhydrat auf, blieben in der Lösung einige Tage lebend und veranlassten ein blasenförmiges Abheben der rothgelben Gallertschicht. Gegenüber Thonerde-Alizarin war das Verhalten wechselnd; einige Fäden zeigten Abstoßung, andere nicht.

Noch etwas weniger ausgebildet ist die Gallertscheide bei der fadenbildenden *Bambusina Brebissonii* mit den ungefähr tonnenförmigen, übrigens je nach den Fäden verschieden gestalteten Zellen. An jeder Zellhälfte finden sich nach Färbung oder Verdickung auf der Außenseite der Zellwand zwei Gruppen von je 3 Reihen Gallertkörperchen (IV. Fig. 3), welche durch eine fast schleimfreie Zone gesondert sind.

Von den zahlreichen einzeln lebenden Desmidiaceen ist es relativ nur eine kleine Anzahl Formen, welche konstant von Gallerte umscheidet sind. Manche Vertreter der Gattung *Pleurotaenium* zeichnen sich dadurch aus. So findet sich die Zellhaut der langgestreckten zylindrischen, an den Enden meist abgestutzten Zellen von *Pleurotaenium Trabecula* bekleidet von einer homogenen, zart lichtbrechenden Scheide, welche nach Anwendung von Färbungsmitteln, z. B. Methylviolett, Methylenblau, der Hauptsache nach zusammengesetzt erscheint aus nebeneinander stehenden, stark gefärbten Gallerthöckern, welche je nach den Individuen bald enger, bald weiter stehen und durch eine Grundsubstanz zu einer einheitlichen Schicht vereinigt sind. In Glykose-Pepton tritt eine Verdickung und Verbreiterung der Höcker ein, so dass sie aneinander stoßen und polygonale Form annehmen (IV. Fig. 44 a, c). Man erkennt an jedem Höcker eine hellere Mitte, welcher an der Zellwandoberfläche eine kleine punktförmige Erhebung entspricht, und eine dichte Peripherie. Nach Zusatz von Chlorzinkjod quillt jeder Höcker zu einer weit sich vorwölbenden Blase auf (IV. Fig. 44 b), und man sieht jetzt am Grunde jeder je eines von den der Membran angehörenden Körnchen. Die Versuche mit in der Scheide eingelagerten Niederschlägen, z. B. Chromgelb, Berliner Blau, hatten wesentlich dasselbe Resultat wie bei *Zygnema*, d. h. Abstoßung der Gallerte mit dem Niederschlag in Form

lockerer, faltiger Massen (IV. Fig. 8, ein Exemplar von *Pleurotaenium Ehrenbergii*). Sehr merkwürdig ist die Eigenschaft von *Pleurotaenium Trabecula*, seine Gallertkörner abzuwerfen bei Einwirkung von Farbstoffen, besonders Methylviolett, selbst von solchen, welche die Gallerte kaum färben, wie Methylgrün, Karminsäure. Die Erscheinung tritt, wie es scheint, nur bei lebenden Individuen auf. Die Gallerthöcker springen bei Berührung mit dem Farbstoff nach und nach von der Zellhaut ab und umgeben die Zelle mit einem Hofe gefärbter, runder Körperchen. Dieselben sind zuerst ziemlich gleichmäßig dichte Scheibchen, zeigen aber allmählich Verquellung, wobei radiale Streifen auftreten, die wieder verschwinden, indem die Scheibchen zu einer homogenen, sehr schwach lichtbrechenden Masse verschleimen. Übrigens gelingt es auch durch Eintrocknen und durch mechanischen Druck, einige der Gallerthöckerchen abzusprennen. Wie bei der Quellung der Gerbstoffbläschen hängt aber das Eintreten der Erscheinung von unbekanntem Umständen ab, da bei vielen Individuen derselben Art in demselben Präparat nichts davon zu sehen ist. Bei einem *Pleurotaenium*, das der besprochenen Art *Trabecula* sehr nahe steht, aber von einem andern Standort herrührte, habe ich trotz wiederholter Versuche keine Absprennung der Gallerthöcker mit Hilfe von Farbstoffen erreichen können.

Pleurotaenium truncatum ist eine dickere Spezies mit etwas breiterer und stärker lichtbrechender Gallertscheide, welche sonst dieselbe Struktur wie *Trabecula* zeigt. Die sie bildenden Gallerthöcker stehen stets sehr dicht zusammen und sind mit einander an den Berührungsflächen verklebt (IV. Fig. 10). Es gelingt durch Druck niemals, die einzelnen Höcker abzusprennen, wohl aber die dabei etwas verquellende ganze Gallertscheide, welche bei gleichzeitigem Zusatz von Methylenblau sich zu einer sehr zierlich und regelmäßig polygonal gefelderten Haut ausbreitet.

Beständig von sehr dicker Gallertscheide umgeben sind einzelne *Spirotaenia*-Arten, so z. B. *Spirotaenia obscura*. Auffällig ist es, dass keine besondere Struktur dieser Scheide durch Farbstoffe sich nachweisen lässt. Diese homogene Gallerte zeigt auch in Glykose-Pepton nur eine relativ geringe Verdickung und eine nur begrenzte Quellung in Chlorzinkjod, so dass wir bei dieser Art eine abweichende Form der sonst bei Conjugaten verbreiteten Gallertsubstanz annehmen müssen.

Unter den anderen Gattungen der Desmidiaceen gibt es nur einzelne Vertreter, welche sehr beständig von Gallertscheiden eingehüllt sind, so z. B. *Cosmarium Phaseolus*, *Xanthidium fasciculatum*, bei welchen beiden Farbstoffe eine sehr scharfe Stäbchenstruktur nachweisen. *Micrasterias truncata* besitzt eine Zellhaut, auf welcher eine große Anzahl kleiner Gallertkörner sitzen, welche durch Druck, nicht aber durch Farbstoffe sich absprengen lassen. Konstant ist auch *Cosmarium de Baryi*, var. *inflatum* von einer dicken Scheide umgeben, welche besonders nach Verdickung in Glykose-Pepton aus deutlich gesonderten Gallertkörnern zusammengesetzt

ist. Sehr häufig finden sich auch Gallerthüllen um einzelne *Staurastrum*-Arten, wie z. B. *dejectum*, bei welchem bisweilen die Stäbchen mannigfaltig gekrümmt erscheinen (IV. Fig. 16), ferner um *Staurastrum margaritiferrum* (IV. Fig. 7), meist mit deutlicher Stäbchenstruktur. Gerade solche Formen, welche dann mitunter auch ohne Gallerte vorkommen, führen hinüber zu der zweiten Gruppe von Desmidiaceen, welche hauptsächlich bei Theilung, Konjugation und vor allem bei der Bewegung Gallerte bilden. Auf die hauptsächlichsten Erscheinungen bei den Bewegungen der Desmidiaceen habe ich in einer früheren Mittheilung¹⁾ aufmerksam gemacht: an dieser Stelle kommt es nur auf die dabei erzeugte Gallerte an. Sind die Algen in großer Menge zusammen und in lebhafter Bewegung begriffen, so bilden sie allmählich sich erhebende Gallertkegel; einzeln für sich bilden die Zellen Gallertstiele, auf denen sie sich in die Höhe heben oder welche sie während des Gleitens auf der Fläche ausscheiden. Das Aussehen, die Form der Stiele ist sehr mannigfaltig, und sehr verschieden bei derselben Spezies, bei demselben Individuum: einige Beispiele liefern die Figuren auf Taf. IV, 9, 12, 13, 14. Im allgemeinen erscheinen die Stiele fadenförmig, gewöhnlich hin- und hergebogen, an der Peripherie zart und ulirt, bald an der einen Stelle sehr dicht und schmal, an anderer mehr ausgebreitet, weich verquollen. Solche Gallertfäden sind beobachtet bei *Penium Digitus*, *Brebissonii*, *Cosmarium Botrytis*, *Euastrum ansatum*, *verrucosum*, *Staurastrum orbiculare*, *Tetmemorus granulatus*, *Closterium didymotocum*, *angustatum* etc. In allen Fällen geht der Gallertfaden von dem bei der Bewegung dem Substrat zugewendeten Ende aus und haftet an der äußersten Schicht der Zellhaut, ist aber, so weit unsere optischen Hilfsmittel ein Urtheil erlauben, stets scharf davon unterschieden. Bisweilen gelingt es, solche Gallertstiele zu beobachten, welche in eine Menge zarter Fäden auslaufen, welche sich an verschiedenen Stellen des Zellendes ansetzen (IV. Fig. 4 b, 12). Außer diesen scharf begrenzten Stielen sind aber die betreffenden Arten häufig auch an dem ganzen Umfang mit Gallerte bedeckt. So ist es vielfach der Fall mit *Tetmemorus granulatus*, welches, von einer weiten Gallerthülle eingeschlossen, zugleich sich bewegt und am einen Ende Gallerte ausscheidet in Form langer Fäden, welche bisweilen sehr breit, fast schlauchartig (IV. Fig. 14) erscheinen. *Cosmarium pyramidatum* ist nicht selten ebenfalls von einer Gallerthülle umkleidet, bewegt sich und scheidet dabei weniger einen Faden als eine breit zylindrische Gallertmasse aus, welche nach Färbung aus zarten langen Fädchen zusammengesetzt ist (IV. Fig. 13).

Die bei der Bewegung ausgeschiedene Gallertsubstanz besitzt sehr ähnliche Eigenschaften wie die der Gallertscheiden von Zygnemen und an-

1) GEORG KLEBS, Über Bewegung und Schleimbildung der Desmidiaceen. Biologisches Centralblatt 1885—86.

deren Desmidiaceen. Sie färbt sich mit Methylviolett, Methylenblau, Fuchsin, Vesuvin, Cyanin, nicht mit Eosin, Methylgrün, Anilinblau, Korallin und auch nicht mit Kongoroth. Von einer charakteristischen Struktur lässt sich nichts Sicheres beobachten. Bei den sehr festen Stielen erscheint die Gallerte homogen oder höchstens wie aus einzelnen Querseheibchen zusammengesetzt, was wohl mehr mit der Art der Entstehung zusammenhängt. Wenn die Gallerte dagegen weicher, verquollener ist, nimmt sie bei Färbungen ein feinfädiges bis zart netzförmiges Gefüge an, welches aber auch an anderen verquellenden Gallerten und Schleimen zu sehen ist. Die mit bloßem Auge sichtbaren Gallertkegel, welche die Desmidiaceen aufbauen, wenn sie in größerer Menge zusammengelagert sind, werden hauptsächlich gebildet durch die allmählich von den Einzelzellen erzeugten Gallertmassen, besonders den bei der Bewegung erzeugten Fäden. Infolgedessen erkennt man an einer solchen Gallerte nach Färbung mit Methylenblau noch vielfach die einzelnen dunkler gefärbten Gallertstränge, welche mit einander zu einem groben Netzwerk verschmolzen sind.

Die Gallerte besitzt ebenfalls die Fähigkeit, in Glykose-Pepton sich zu verdicken: besonders bei Gallertkegeln, welche nur von einer Art, z. B. *Euastrum verrucosum* hervorgebracht worden sind, erscheint dieselbe nach der Verdickung aus zahlreichen wild durcheinander verflochtenen Gallertsträngen zusammengesetzt, welche bei Zusatz von Chlorzinkjod sehr lebhaft zu homogenen Schleimmassen verquellen.

Die Frage nach der Entstehung der Gallerte bei der Bewegung der Desmidiaceen habe ich schon in meiner früheren Mittheilung¹⁾ kurz berührt. Die Gründe für die darin ausgesprochene Anschauung von der Ausscheidung der Gallerte durch die unverändert bleibende Zellhaut sind folgende. Die Zelle bildet in kurzer Zeit eine ihre Länge oft vielfach übertreffende Gallertmasse an einer ganz beschränkten Stelle, und während dieser Bildung lässt sich thatsächlich nicht die geringste Veränderung der Zellhautstelle nachweisen. Die Bildung der Gallerte findet an solchen Enden der Zellen statt, welche von sehr alten Membrantheilen umkleidet sind, ebenso an solchen mit eben neu entstandenen. Infolge der eigenartigen Zweitheilung kann man an Zellen von *Closterium*, *Penium* u. s. w. alte und junge Zellhälften unterscheiden, welche sich auch darin verschieden verhalten, dass der mit Methylenblau sich färbende Bestandtheil der Zellhaut in den älteren Zellhauttheilen in größerer Menge vorhanden ist, als in jüngeren. Am eigenartigsten bei allen Desmidiaceen ist die Zellmembran einiger Closterien, wie *didymotocum*, *angustatum*, *striolatum*, gebaut, insofern in ihr Eisenoxydhydrat²⁾ ein-

1) Biologisches Centralblatt. V. 1885—86. p. 364.

2) Infolge des Gehaltes an Eisenoxydhydrat zeigt sich bei Closterien eine eigenartige Erscheinung. Wenn man Desmidiaceen lange im Dunkeln hält, so beobachtet man nur bei den Closterien eine Schwarzfärbung der Zellhaut noch während des Le-

gelagert ist, welches eine gelbe bis rothbraune Färbung verleiht¹⁾. Diese Einlagerung ist eine nach manchen Beziehungen sehr merkwürdige Erscheinung, wenn man sich daran erinnert, dass bei künstlicher Einlagerung derselben Verbindung bloß in die Gallertscheiden die Zygneten sehr rasch zu Grunde gehen, dass jedenfalls ihre kaum davon betroffene Membran der Dehnbarkeit beraubt wird. Hier bei den Closterien ist eine merkbare Menge der Eisenverbindung in die Zellhaut selbst eingelagert, die Zellen leben und pflanzen sich dabei fort. Jedenfalls kann das Eisen nicht in den Micellarinterstitien vorhanden, es muss im Verbands der Zellhautmicellen selbst aufgenommen sein. An einer solchen eisenhaltigen Zellhaut entsteht nun nach außen eine Gallertsubstanz, welche vollständig eisenfrei ist²⁾, und ich kann mir nach den bisher vorliegenden Beobachtungen keine Vorstellung machen, wie eine Vergallertung der eisenhaltigen Zellhaut stattfinden soll, wobei die Eisenverbindung unverändert zurückbleibt. Es ist vor allem zu betonen, dass schon bei der Gallerte der Zygneten keine Quellung, nicht einmal durch stark wirkende Mittel wie Salzsäure bewirkt wird, so lange nicht der Niederschlagsmantel um die Gallerttheile gesprengt ist. Ebenso verhält sich die Zellhaut der Closterien, welche erst nach Lösung des Eisens quillt. Darnach müsste also bei der Ansicht von einer Vergallertung der Zellhaut zuerst das Eisen gelöst und dann zu gleicher Zeit wieder niedergeschlagen werden, da es beständig bei den ausscheidenden Enden in der Membran vorhanden ist, eine Annahme, welche durch nichts gestützt und sehr unwahrscheinlich ist³⁾.

bens, wenn die betreffenden Zellen dann auch meist kränklich aussehen. Diese Schwarzfärbung kann die ganze Membran oder nur einen Theil derselben betreffen. Augenscheinlich hat sich Schwefeleisen gebildet; durch wenig Schwefelwasserstoffwasser kann man die Erscheinung erzeugen. Im Licht findet Zersetzung des Schwefeleisens statt und die Zelle kann dabei sich lebend erhalten.

1) STRASBURGER (Das botanische Praktikum. 1884. p. 337) gibt für die Closterien ein Kieselsäureskelett an; ich habe mich von der Existenz eines solchen nicht überzeugen können. Schwefelsäure löst schließlich die ganze Membran auf, was bei einem Kieselsäureskelett nicht zutreffen würde. Salzsäure entfernt die Eisenverbindung und eine zarte farblose Zellhaut bleibt übrig. Glüht man Closterien, so bleibt allerdings ein Skelett übrig, aber nicht von Kieselsäure, sondern von Eisenoxyd, welches durch das Glühen in einen sehr schwer löslichen Zustand übergeführt wird.

2) Für diesen Nachweis muss man frische, hauptsächlich von den Closterien erzeugte Gallerte zur Verfügung haben; in Algenkulturen, welche einige Zeit im Zimmer stehen, ist es keine seltene Erscheinung, dass Eisenoxydhydrat ausgeschieden wird, wenn mit den Algen zugleich Sumpferde und verwesende Pflanzentheile in die Kultur gekommen sind. In solchen Fällen kann sich auch Eisenoxydhydrat in der Gallerte der Desmidiaceen niederschlagen und Täuschung veranlassen. Allerdings tritt dann das Eisen meistens sehr unregelmäßig in einzelnen körnigen Haufen auf, während man bei Ausscheidung von Seiten der Algen eine gleichmäßige Vertheilung erwarten dürfte.

3) Wie wenig selbst ganz junge Zellhäute bei den Desmidiaceen zur Vergallertung neigen, resp. wie wenig die Zelle selbst eine solche veranstalten kann, geht aus einer Beobachtung über die Theilung gewisser Formen hervor. Wenn durch Thei-

Nach den bisher vorliegenden Daten glaube ich meine Anschauung als die weitaus wahrscheinlichste hinstellen zu müssen. Die Art und Weise der Ausscheidung ist eine sehr mannigfaltige und steht in inniger Beziehung zu gewissen Strukturverhältnissen der Zellhaut. Es gibt nur eine geringe Anzahl von Formen, bei welchen die Zellhaut anscheinend ganz strukturlos ist und dann besonders intensiv Farbstoffe aufnimmt; hierzu gehören *Penium Digitus*, *oblongum*, *interruptum*, *Brebissonii*, *closterioides*, *Closterium acerosum*, *moniliferum*, *Lunula*. Die ausgeschiedene Gallerte dieser Arten, theils in Form zarter Hüllen, theils als Fäden, ist meist sehr weich, wenig scharf begrenzt und zeigt bei Färbung ein feinfädiges Gefüge.

Der größte Theil der Desmidiaceen zeichnet sich durch besondere Struktureigenthümlichkeiten der Zellwand aus und einige derselben haben augenscheinlich eine Bedeutung für die Ausscheidung der Gallerte. So tritt das klar bei jenen Closterien hervor, welche Eisenoxydhydrat in ihrer Zellhaut eingelagert haben. Diese Arten bilden gegenüber den anderen Desmidiaceen relativ wenig Gallerte an ihrem ganzen Zellumfange, wenn sie dessen auch unter Umständen fähig sind, sondern ganz vorzugsweise an den Enden bei der Bewegung. Diese Enden haben eine besondere Organisation, sie heben sich von der übrigen Membran als besondere Kappen ab, welche infolge höheren Eisengehaltes dunkler gefärbt sind. Lässt man konzentrierte Schwefelsäure einwirken, so verquillt sehr bald die ganze Membran mit Ausnahme dieser Endkappen, welche länger widerstehen und so isolirt werden können. An den Endkappen befindet sich auf der Innenseite der Scheitelkante eine knopfförmige Verdickung der Zellhaut, welcher bisweilen eine kleine Ausbuchtung an der Außenseite entspricht (IV. Fig. 5 a). Hier besonders haftet der Gallertstiel, während andererseits bei plasmolytischen Versuchen, wo zahlreiche Plasmafäden mit der Zellhaut, besonders am Ende in Verbindung stehen, solche gern an dem Knopf in stärkerer Masse hängen bleiben. Die Membran der Endkappen erscheint bei der Längsansicht von zarten Kanälen durchsetzt, welche an anderen Stellen der Haut nicht vorhanden sind; selbst bei jenen

lung einer Zelle von *Cosmarium Palangula* zwei nebeneinander gelagerte Tochterzellen entstanden sind mit je einer alten und einer jungen Zellhälfte, findet eine Abstoßung der neu gebildeten Membran an jeder jungen Zellhälfte statt und dieselbe bildet eine neue. Man sieht dann die beiden an der Endkante zusammenhängenden halbirtten Zellhäute sich lange Zeit erhalten (IV. Fig. 45). Dieselbe Häutung wurde beobachtet bei *Cosmarium Botrytis*, *undulatum*, *bioculatum*, *pyramidatum*, *subgranatum*, ferner auch bei *Tetmemorus granulatus*, so dass die Erscheinung eine ziemlich allgemeine zu sein scheint. Erklären könnte man sich dieses Abwerfen durch die begrenzte Dehnungsfähigkeit der Zellmembran. Gleich nach der Hervorwölbung jeder jungen Zellhälfte ist dieselbe von einer Zellhaut umgeben, welche nun in dem Verlaufe der Ausbildung jeder Hälfte so stark gedehnt wird, dass eine weitere Dehnung nicht möglich ist und eine solche Haut für die weitere Ausgestaltung der Tochterzellen nur ein Hindernis wäre.

Individuen, bei welchen die ganze Zellhaut zart punktirt aussieht. sind allein an den Enden deutlichere Längsstreifen zu sehen (IV. Fig. 5 *a, b*). Ich halte sie hauptsächlich deshalb für tüpfelähnliche Kanäle, weil bei der Aufsicht der isolirten Endkappen ganz scharf eine Tüpfelung sichtbar ist (IV. Fig. 5 *c, d*), welche je nach Individuen etwas verschieden ausgebildet ist. Ob wir es hier mit wirklichen Poren zu thun haben, in welche Plasmafäden fast bis nach außen gehen, ließ sich nicht entscheiden. Jedenfalls wird man nicht irren in der Annahme, dass diese Tüpfelung für den Prozess der Gallertausscheidung von Bedeutung ist.

Als ein anderes Beispiel aus der Reihe der Desmidiaceen mag *Tetmemorus granulatus* dienen, eine spindelförmige, in der Mitte ein wenig eingeschnürte Alge mit eigenthümlich gebauten Enden (IV. Fig. 6 *b*), deren Organisation¹⁾ indessen in keinen direkten Zusammenhang mit der Gallertausscheidung zu bringen war. Die Zellmembran ist eisenfrei, dünn, farblos und besitzt zerstreut stehende kleine punktförmige Erhabenheiten. Wenn man die einzelnen Individuen etwa 16—20 Stunden am besten bei höherer Temperatur (26—30° C.) ruhig im Wassertropfen sich selbst überlässt, so findet man infolge lebhafter Bewegung sehr verschiedene Grade der Gallertausscheidung, in Form von Stielen wie von ganzen Zellhüllen. Bei Zusatz von Färbungsmitteln treten auf den Körnchen der Zellwand Gallertkörner auf, welche je nach dem augenblicklichen Grade der Ausscheidung bald kleiner bald größer sind, sich allmählich weiter hervorwölben (IV. Fig. 6 *c*), bis sie zu einer einheitlichen Schicht sich vereinigen, welche von neu gebildeten nach außen gedrängt wird. Bei lebhafter Bewegung geht an den Enden eine besonders starke Ausscheidung vor sich, bald an dem einen, bald an dem andern, so dass zahlreiche Gallertkappen übereinander geschichtet werden (IV. Fig. 6 *a*). Fast stets gelingt es bei Anwendung von sehr verdünnten Farbstofflösungen, auch dicht unterhalb der Zellhaut intensiv und zuerst sich färbende Körner im lebenden Plasma nachzuweisen, die möglicherweise bei der Gallertausscheidung eine Rolle spielen; doch wurde Näheres nicht erforscht²⁾.

1) An den beiden Enden von *Tetmemorus granulatus* ist die Zellhaut stark verdickt, so dass es aussieht, als wenn auf der eigentlichen Haut noch eine besondere Zellstoffkappe aufsitzt. Beide sind faltenförmig eingebogen und diese Falte verläuft nicht in der Richtung eines geraden Durchmessers, sondern etwas bogenförmig. Sie stülpt sich gegen das Zellinnere blasenförmig hervor, und hieran sitzen 4 ausstrahlende kurze Zellstoffbalken, welche an den Enden knopfförmig verdickt erscheinen (IV. Fig. 6 *b*). Diese Balken sind sehr widerstandsfähig gegenüber Schwefelsäure, sind es mehr als die Kappen selbst. Bei plasmolytischen Versuchen bleibt der sich kontrahirende Protoplasmakörper gern an diesen Balken in besonders fester Verbindung.

2) Ganz ähnliche dicht unter der Zellwand befindliche Körner, welche bei lebenden Zellen Methylenblau intensiv aufnehmen, findet man besonders reichlich bei *Pennium Digitus*.

Bei zahlreichen anderen Desmidiaceen finden wir an der Zellhaut ähnliche punktförmige Erhabenheiten, an welchen besonders lebhaft die Gallertausscheidung vor sich zu gehen scheint, so bei den meisten Formen mit ständiger Scheide, wie den *Pleurotaenium*-Arten, *Hyalotheca*, *Desmidiium*, *Bambusina*, ferner auch bei *Cosmarium Phaseolus*, *Xanthidium fasciculatum*. Eine ganz entsprechende Struktur, bei der an den Körnchen der Membran vorzugsweise die Gallerte sitzt, wenn man nach der Färbung und der Verdickung in Glykose-Pepton urtheilt, zeigt sich bei zahlreichen anderen Arten der Gattung *Cosmarium*, wie z. B. *pyramidatum*, *granatum*, *conatum*, *Cucurbita*, *Palangula* etc., *Euastrum ansatum*, *pectinatum*, *oblongum*, *Staurastrum margaritifera* etc.

Es ist allerdings eine schwer zu entscheidende Frage, ob die Körnchen der Membran in allen Fällen kleine Verdickungen oder einfache Ausbuchtungen oder eigentlich zarte Verdünnungen sind, welche nur durch ein Gallertknöpfchen verdickt erscheinen. Alle diese Fälle werden wohl vorkommen. Die Körnchen bei *Tetmemorus*, *Pleurotaenium* erscheinen als kleine Verdickungen, und das kann kein Grund gegen die Auffassung sein, dass an ihnen besonders die Ausscheidung eintritt, weil sehr wohl ein zarter, bei der Kleinheit des Objekts nicht sichtbarer Kanal vorhanden sein kann. Das Gleiche muss man sogar für die weit größeren Höcker von *Cosmarium Botrytis*, *Euastrum verrucosum* annehmen, da auch an diesen hauptsächlich Gallertmasse sich ansammelt. Bei den Warzen der letzteren Art, welche zum Theil sogar etwas Eisenoxydhydrat enthalten, sieht man deutlich die Mitte hell hervorleuchten, als wenn sie von einem Kanal durchsetzt wäre. Übrigens finden sich vielfache Strukturen an den Zellhäuten, wie bei *Staurastrum*-, *Xanthidium*-Arten die mannigfaltigen Stachelbildungen, welche keine Beziehung zu der Gallertausscheidung haben.

In allen jenen Fällen, wo beständig Gallerte die Zellen umhüllt, muss nach jeder Theilung neue ausgeschieden werden. Sehr anschaulich tritt diese Neubildung bei den fadenbildenden Formen, besonders *Hyalotheca dissiliens* hervor. Sind die Fäden in lebhafter Theilung begriffen, so erkennt man nach Färbung mit Methylenblau oder Methylviolett, wie die Gallertseide gestreckt worden ist, so dass keine Unterbrechung derselben zu erblicken ist. Indessen betrifft die Streckung hauptsächlich die sich weniger färbende Grundsubstanz, in welcher erst von der neuen Zellhälfte aus die sich stark färbende, in Form der Stäbchen erscheinende Gallerte ausgeschieden wird. Man findet so verschiedene Entwicklungsstadien der Stäbchen, welche anfangs als ganz kurze, aber relativ sehr dicke und intensiv sich färbende Theile auf der Zellwand sitzen und erst allmählich zu der späteren Form der vierseitigen Pyramiden sich ausgestalten. Eine nicht häufige, aber doch mehrfach beobachtete Erscheinung wahrscheinlich bei Fäden, welche wenig Theilungen erfahren und lebhaft Gallerte

bilden, zeigt sich darin, dass an fast sämtlichen Zellen eine Neubildung von Stäbchen vor sich geht, während die alte Gallertscheide allmählich in Verquellung übergeht; ja in einem Falle beobachtete ich drei Generationen der Gallerte, resp. der Stäbchen (IV. Fig. 4 f). Alle diese Erscheinungen lassen sich am besten durch meine Anschauung von der Ausscheidung der Gallertsubstanz erklären.

III. Die Gallertbildungen bei einigen Diatomeen und Schizophyten.

Nach mancher Hinsicht zeigen die Diatomeen zu den Desmidiaceen eine gewisse Verwandtschaft oder bieten wenigstens einige analoge Erscheinungen dar. So zeichnen sich die Kieselalgen ebenfalls durch sehr mannigfaltige und reichliche Bildung von Gallerte aus; wir finden mächtige formlose Schleimmassen, oft sehr stark entwickelte Gallertröhren, in denen zahlreiche Individuen nebeneinander gelagert sind, und besonders mannigfaltig erscheinen die Stielbildungen aus Gallertsubstanz. Nur die letzteren will ich hier an dem Beispiel der *Gomphonema*-Arten in Betracht ziehen.

PFITZER¹⁾ beschreibt an den jungen Stielen von *Gomphonema constrictum* eine doppelt kontourirte schmale Außenschicht und eine helle Innenmasse, an alten eine breite helle Außenschicht und einen schmalen bräunlichen inneren Strang, während TROLLIUS²⁾ die Stiele als hohle Schläuche auffasst. Nach Färbungen und besonders der Einlagerung von Niederschlägen erscheinen nach meiner Beobachtung schon an den jüngsten Theilen die Stiele der genannten Species aus einer breiten dichten Masse, welche im Zentrum von einer viel weniger dichten flüssigeren Substanz kanalartig durchzogen ist (IV. Fig. 24 a). In derselben Weise beschreibt und bildet REINHARDT³⁾ die Stiele von *Achnanthes longipes* ab. Die Gallertsubstanz nimmt wie die der Conjugaten lebhaft Farbstoffe auf, z. B. Methylviolett, Methylenblau, Vesuvin, dagegen meistens nicht, oder nur selten in schwachem Grade Kongoroth. Sie unterscheidet sich von der Gallerte der Conjugaten durch die viel geringere Quellungsfähigkeit, da weder Kochen mit Wasser noch Chlorzinkjod sie zur Quellung, resp. zur Lösung bringt; ebenso lassen sie Kali, Ammoniak, schwache anorganische Säuren unverändert, während konzentrierte Schwefelsäure sie sehr langsam und ohne deutliche Quellung löst. Ein fernerer we-

1) PFITZER, Untersuchungen über Bau und Entwicklung der Bacillariaceen; in Botanische Abhandlungen, herg. von HANSTEIN. I. 1874. p. 90. Id., Die Bacillariaceen in SCHENK'S Handbuch der Botanik. p. 422.

2) TROLLIUS, Beobachtungen über die Diatomaceen der Umgebung von Jena; Inaug.-Diss. 1882. p. 97.

3) REINHARDT, Algologische Untersuchungen. 1885. p. 464 u. w. Taf. VII. 47. Die Übersetzung der bezüglichen Stellen aus der russisch geschriebenen Arbeit verdanke ich der Liebenswürdigkeit des Herrn JENTYS.

sentlicher Unterschied gegenüber der Conjugatengallerte tritt in dem Verhalten der Stiele bei Einlagerung von Niederschlägen auf. Nie fand eine Abstoßung derselben statt bei mehrfach wiederholten Versuchen mit Chromgelb, Berliner Blau, Thonerde-Alizarin, Katechubleioxyd, gerbsaurem Eisen. Dagegen ist die Gallerte der Verdickung fähig, wie bei dem Aufenthalt der Stiele in Glykose-Pepton sichtbar wird. Hierbei gewinnt die Gallertsubstanz ein sehr stark lichtbrechendes Aussehen, und der anscheinend unveränderte zentrale Kanal tritt infolge dessen bei vielen Stielen sehr scharf hervor. Im normalen Zustande durch Jod ungefärbt, nimmt jetzt der Stiel eine goldgelbe Färbung an, verquillt aber nicht in Chlorzinkjod.

Die wichtigste Frage bezieht sich auf die Entstehung der Gallertstiele. RABENHORST¹⁾ nahm eine Enddrüse als Absonderungsorgan an, PFITZER²⁾, TROLLIUS²⁾, REINHARDT²⁾ vermuthen eine Vergallertung der äußeren Zellwandschicht an begrenzter Stelle, dem Fußende der *Gomphonema*-Zelle. Sie stützen sich bei dieser Annahme darauf, dass der Gallertstiel allmählich in die gallertartige Außenschicht der Zelle übergeht. Abgesehen davon, dass, wenn dieses richtig wäre, damit wenig bewiesen wäre, weil wir von der Entstehung dieser Außenschicht selbst ebensowenig etwas wissen, muss ich auch die Richtigkeit der Thatsache in Abrede stellen. TROLLIUS hat mit Anilinroth, REINHARDT mit Hämatoxylin gefärbt, beides Farbstoffe, welche ebenso die Zellhaut, wenn auch langsamer, färben, infolge dessen dieselben für den Nachweis einer besonderen Gallertschicht an der letzteren nicht zu gebrauchen sind. Man muss nach solchen Mitteln suchen, welche nur das eine oder das andere färben. Kultivirt man die *Gomphonemen* in Kongoroth, so tritt eine Färbung der Zellen ein, während selbst nach wochenlangem Liegen in der Farbstofflösung zahlreiche Stiele ungefärbt bleiben. Dann tritt klar genug hervor, dass nur das allerunterste Ende der Zelle in einer schüsselförmigen Vertiefung des Stielendes sitzt, das letztere vollkommen scharf und ohne Übergang von der Zellhaut abgegrenzt ist. Allerdings gibt es immer eine Anzahl Stiele, welche bei längerem Liegen oder selbst schon nach wenigen Tagen eine zart rosige Färbung annehmen; indessen ist die Grenze derselben gegen die tiefrothe Zellhaut ebenso scharf zu bestimmen, wie im ersteren Falle. Wenn man andererseits aus verdünnten Lösungen (0,1 %) Niederschläge, wie Berliner Blau, gerbsaures Eisen, Thonerde-Alizarin in die Stiele einlagert, bleibt die Zellhaut ungefärbt, und jetzt heben sich die blauen, resp. schwarzen oder rothen Stiele noch schärfer von den auf ihnen sitzenden Zellen ab. Das Ungefärbtbleiben der letzteren weist darauf hin, dass, wenn überhaupt eine schleimige Außenschicht der Zellhaut vorhanden ist, dieselbe außerordentlich dünn und vor allem sehr wenig dicht sein muss, da so fein sich einlagernde und so sichtbare Niederschläge wie

1) RABENHORST, Die Süßwasser-Diatomaceen. 1853. p. 21.

2) PFITZER, l. c. p. 422. TROLLIUS, l. c. p. 99. REINHARDT, l. c. p. 162—165.

Berliner Blau, gerbsaures Eisen nicht mehr bemerkbar werden¹⁾. So viel folgt aus diesen Versuchen, dass die Gallertsubstanz der Stiele nicht allmählich übergeht in eine Gallertschicht der Zellhaut und dass eine solche überhaupt noch nicht nachgewiesen ist. Damit ist natürlich nicht behauptet, dass nicht an den *Gomphonema*-Zellen im ganzen Umfange Gallerte gebildet werden kann; denn thatsächlich findet das bei einzelnen Individuen bei nicht näher verfolgten Umständen statt, häufiger bei *Cocconema*. Aber dadurch wird über die Entstehung derselben wie über die der Stiele nichts ausgesagt.

Viel entscheidender für die Annahme einer Vergallertung der Zellhaut wäre die Beobachtung von TROLLIUS, dass nur in der Zellhaut der Gomphonemen, nicht im Zellinhalt, Eisenoxydul vorhanden ist, und dieses sich in den Gallertstielen wiederfindet. Indessen muss ich die Richtigkeit, mindestens die allgemeine Gültigkeit dieser Behauptung in Abrede stellen. Meine eigenen Versuche an Gomphonemen, die Eisenoxydulreaktion hervorzurufen, gelangen niemals; in dem mir vorliegenden Material war Zellhaut wie Gallertstiel eisenfrei. Überhaupt ist mir die Beobachtung von TROLLIUS unerklärlich; Eisenoxydul ist sehr schwierig darzustellen und noch viel schwieriger zu erhalten wegen seiner lebhaften Tendenz, sofort sich zu oxydiren, und ebenso steht es mit Eisenoxydulhydrat und dessen Salzen, von denen selbst die etwas beständigeren doch stets nach gewisser Zeit in Oxyde übergehen. Was TROLLIUS zu dieser Beobachtung veranlasst hat, vermag ich nicht anzugeben. Jedenfalls kann ihr für die vorliegende Frage keine Bedeutung zukommen. Sehr wichtig hierfür ist das Vorhandensein der Kieselsäure in der Membran und der Mangel in den Gallertstielen. Zahlreiche Glühversuche bezeugten diese Thatsache. In vielen Fällen bleibt überhaupt nichts von den Stielen nach sorgfältigem Glühen übrig, oder aber es zeigt sich ein sehr zartes anorganisches Skelett, welches in Salzsäure wieder gelöst wird, infolge dessen keine Kieselsäure sein kann, sondern vielleicht aus Kalksalzen besteht, welche in den meisten organischen Substanzen vorhanden sind. Die Löslichkeit der Stiele in konzentrierter Schwefelsäure ist ebenfalls ein Zeichen für den Mangel der Kieselsäure in den Stielen. Jetzt tritt hier dasselbe Problem auf, wie bei der Gallertbildung an den eisenoxydhaltigen Closterien. Die Kieselsäure, sei es in welcher Form sie in der Diatomeenmembran vorkomme, ist in äußerst fester Verbindung mit derselben, so dass eine gänzliche Trennung beider nur durch Flusssäure, andererseits durch Glühen oder längere Einwirkung von konzentrierter Schwefelsäure möglich ist. Wie soll also eine Trennung beider geschehen, so dass die Kieselsäure zurückbleibt und nur die äußerste Zellhautschicht in eine von ihr wesentlich verschiedene Substanz, wie sie die

1) Es sind immer nur wenige Individuen, an welchen ich eine ganz zart blaue Färbung auch an der Zellwand wahrzunehmen glaubte.

Gallerte der Stiele darstellt, verwandelt wird? Man hat sich diese Frage bisher nicht vorgelegt, ist einfach darüber hinweggegangen. Aber so lange sie nicht gelöst ist, steht die Annahme von der Vergallertung der Zellhaut auf ganz schwankem Grunde. Nach den bis jetzt vorliegenden Thatsachen erscheint mir die Annahme unabweisbar, dass auch hier bei den Diatomeen die Stiele durch allmähliche Ausscheidung von Seiten des Cytoplasmas in die Länge wachsen, indem fort und fort neue Gallertscheiben hauptsächlich von dem Rande, weniger der Mitte des Zellendes aus erzeugt werden. Dieses Appositionswachsthum der Gallerte tritt besonders anschaulich hervor, wenn man farbige Niederschläge, am besten Berliner Blau, in die Gallertstiele hinein befördert. Dann gelingt es, Zellen zu beobachten, welche auf den älteren blau gefärbten Theil des Stieles neue farblose Gallerte aufgelagert haben (IV. Fig. 21 b). Auffallend ist nur, wie relativ selten dieses Wachsthum unter den obwaltenden Umständen zu beobachten ist. Nach Einlagerung von Chromgelb, gerbsaurem Eisen, Katechubleioxyd, Thonerde-Alizarin gehen die meisten Gomphonemen allerdings bald zu Grunde, während bei Berliner Blau sie wochenlang normal gedeihen und doch merkwürdigerweise nur höchst selten den Stiel verlängern. Es kann dies nicht darin liegen, dass etwa Niederschlagstheilchen in die Zellhaut eingedrungen sind, dieselben so zu sagen verstopft haben, denn man beobachtete vielfach Theilungen nach der Einlagerung, so dass bei dem Mangel der Stiefbildung es eine nicht seltene Erscheinung war, dass 4 Gomphonemen-Zellen dicht nebeneinander auf demselben alten Stiele saßen und durch wenig Gallerte an ihren Fußenden zusammen gehalten sind, was in normalen Fällen nicht vorkommt, weil nach jeder Theilung die beiden Tochterzellen besondere Stiele ausscheiden. Eine nähere Erklärung dieser Beeinträchtigung, speziell der Gallertausscheidung, kann ich nicht liefern.

Die große formenreiche Klasse der Schizophyten zeichnet sich ebenfalls durchgehends durch großen Reichthum an verschiedenen Gallertbildungen aus; ich habe nur einige wenige Vertreter in Betracht gezogen.

Als ein Beispiel der einzelligen Chroococcaceen ist *Chroococcus helveticus* untersucht worden, welcher in 2- bis 4 zelligen kleinen Kolonien erscheint. Jede intensiv blaugrüne feinkörnige Zelle besitzt eine äußerst zarte, dünne Zellwand und eine dicke, stark lichtbrechende weiße Gallertscheide. Dieselbe färbt sich lebhaft mit Methylviolett, Methylenblau, Vesuvin, bleibt in Jodlösung farblos und zeigt gegenüber Chlorzinkjod, Schwefelsäure große Quellungsfähigkeit, da sie darin sofort vollständig verquillt. Dagegen unterscheidet sich die Gallerte von der der Conjugaten dadurch, dass in Glykose-Pepton nach 2 Tagen gar keine, selbst nach 3—5 Tagen nur eine sehr schwache Verdickung eintritt, wie die zarte Gelbfärbung durch Jod anzeigt. Ferner ist die Gallerte unfähig, eingelagertes Chromgelb zu entfernen. Eine andere sehr nahe stehende, aber kleinere *Chroococcus*-Species verhielt sich in den Eigenschaften der Gallerte etwas verschieden, insofern

die letztere in Chlorzinkjod nur wenig quoll, in Glykose-Pepton sich stärker verdickte.

Sehr indifferent gegenüber Farbstoffen und Reagentien ist die Gallertscheide von *Sirosiphon ocellata*. Sie färbt sich wenig mit Methylenblau, verquillt nicht in Chlorzinkjod, Ammoniak, Kali, bei deren Wirkung jedoch eine den Zellen zunächst liegende Schicht in Quellung übergeht, so dass die Zellen die Scheide an deren Spitze durchbrechen und herausdringen. In Glykose-Pepton findet nur eine sehr schwache Verdickung statt. Ebenso wie bei *Sirosiphon* verhielten sich auch die Scheiden von *Tolyptothrix*-, *Oscillaria*-Arten, welche im normalen Zustand häufig schon durch Jod gelb sich färben und bei welchen festgestellt wurde, dass eingelagerte Niederschläge, wie Chromgelb, Berliner Blau nicht abgestoßen werden.

Wesentlich verschieden von den bisher erwähnten Schizophyten erwies sich eine *Sphaerozyga*-Art¹⁾, welche ich als *mucosa* bezeichnen will. Die Zellfäden leben einzeln und bestehen aus rosenkranzförmig angeordneten rundlichen Zellen von 7—8 μ Durchmesser, zwischen welchen interkalar die kaum dickeren Grenzzellen sich vorfinden. Die in ihren Dimensionen sehr wechselnden Sporen finden sich interkalar theils neben einer Grenzzelle, theils aber auch ohne Begleitung der letzteren. Besonders eigenthümlich ist den Zellfäden der Besitz einer zarten, ohne Färbung kaum sichtbaren Gallertscheide von 1,8—3 μ Breite. Nach Hinzufügen von Methylviolett, Methylenblau erblickt man an den Seitenwänden jeder Zelle eine Gruppe von blauen, deutlich nach außen verjüngten und radial ausstrahlenden Stäbchen; da dieselben an den gegen die Nachbarzellen zugewendeten Seiten der Zellhaut fehlen, erscheinen die einzelnen Stäbchengruppen ganz isolirt von einander (IV. Fig. 24c). Merkwürdig ist es, dass häufig, aber nicht immer diese Stäbchen an einem Fadenstück in sämtlichen Gruppen scharf gegen das eine Ende gerichtet sind, und dass bei längeren, vielleicht ganz intakten Fäden von der Mitte aus gerechnet, die Stäbchen der einen Fadenhälfte nach dem einen, die der anderen nach dem anderen Ende zugewendet sind. Die Einlagerung von Berliner Blau weist aber nun nach, dass in der That eine

1) Ich muss WITTRÖCK, De Anabaena Notula E. Fasc. X Alg. Aq. dulc. exsicc. 1882, beistimmen, wenn er die Unterschiede von *Cylindrospermum*, *Sphaerozyga*, *Dolichospermum* etc. als nicht durchgreifend genug bezeichnet, um verschiedene Gattungen aufzustellen. Die vorliegende Form ist ein gutes Beispiel für die Übergänge zwischen den Gattungen; sie besitzt Eigenschaften von *Sphaerozyga*, *Aphanizomenon*, *Aulosira*, und da die Sporen bisweilen fast kugelig sind, auch einen Charakter von *Anabaena* (vergl. KIRCHNER, Schlesiens Kryptogamenflora. II. p. 235—237). Außerdem könnte man die Form wegen der besonderen Art der Scheide zu einer besonderen Gattung erheben. Denn die Scheiden von *Aulosira* sind hautartig. Indessen beabsichtige ich nicht eine ausführliche systematische Bearbeitung der ganzen Gruppe und stelle die Art wegen der meist zylindrischen Sporen und der interkalaren Heterocysten zu *Sphaerozyga*.

zusammenhängende breite homogen blaue Gallertscheide jeden Faden umkleidet und dass die Stäbchen entsprechend wie bei der Scheide der Zygomen nur diejenigen Elemente sind, welche sich durch besondere Anziehung zu Farbstoffen auszeichnen. Die Ähnlichkeit mit *Zygnema* tritt auch in dem weiteren Verhalten deutlich hervor. Die Gallertscheide wird durch die Einlagerung zu einer starken Quellung veranlasst (vergl. IV. Fig. 24 a gleich nach der Einlagerung, Fig. 24 b 24 Stunden nachher). Da an den den Querwänden entsprechenden Stellen die Quellung langsamer eintritt, so nimmt die verquollene Gallerte ein regelmäßig gefaltetes Aussehen an. Meistens verquillt die Gallerte an den Grenzzellen sehr viel weniger, so dass dann starke Einschnürungen der sonst weit abstehenden Masse bemerkt werden. In anderen Fällen dagegen sah ich die Scheide auch an den Grenzzellen verquollen. Nach der erfolgten Abstoßung lässt sich mit Methylblau keine Gallerte an den Zellen, jedenfalls keine Stäbchenstruktur mehr nachweisen; ob noch eine sich nicht färbende Grundsubstanz vorhanden bleibt, wurde nicht nachgewiesen. Das Verhalten gegen Glykosepepton und andere Reagentien wurde wegen eintretenden Mangels an Material nicht untersucht.

Hinsichtlich der Entstehung der Gallerte bei den Schizophyten ließen sich aus der bisherigen Untersuchung keine näheren Muthmaßungen erschließen; für die Scheiden der *Oscillaria*-, *Tolypothrix*-, *Sirosiphon*-Arten ist die Annahme, dass sie durch Metamorphose der Zellhaut entstehen, nicht unwahrscheinlich¹⁾.

IV. Die Gallertbildungen bei einigen Chlorophyceen.

Sehen wir ab von den eine ganz besondere Stellung einnehmenden Conjugaten, so treten uns in der Reihe der echten Chlorophyceen mehrere große Unterfamilien entgegen, welche hinsichtlich der Gallertbildung sehr verschieden sich verhalten. Eine ganze Anzahl Formen sind sehr arm daran, so z. B. die *Conferva*-, *Chroolepus*-, *Cladophora*-Arten; ebenso entbehren derselben die größere Zahl von Oedogonien²⁾, *Bolbochaete*, *Vaucheria*. Dagegen erzeugen die Chaetophoreen in sehr reichlichem Maße Gallerte und dieselbe bestimmt die äußere Formgestaltung der einzelnen Spezies. Als ein Beispiel von stark gelatinösen Fadenalgen soll *Chaetophora endiviaefolia* dienen.

Diese Alge fand sich in zylindrischen verzweigten bis 2 cm langen Gallertkolonien vor, welche an anderen Pflanzentheilen festsäßen. Eine jede solche Kolonie, resp. ein Zweig derselben besteht aus einem Bündel lang-

1) Vergl. STRASBURGER, Wachstum der Zellhäute, p. 190.

2) Bei einer schmalen, nicht näher bestimmten Art von *Oedogonium* beobachtete ich regelmäßig eine Gallertscheide.

gestreckter Zellfäden, welche in der Mitte liegen und von welchen zahlreiche Seitenäste ausgehen, die radial gegen die Peripherie strahlen und hier dicht mit kurzen fast wirtelig gestellten Zweigen besetzt sind. Einzelne Zweige verlängern sich zu sehr langen farblosen Zellfäden, welche weit aus der Gallerte hervorragen und als Haarfäden bezeichnet werden können. In der Mitte der Kolonie liegen die Zellfäden in sehr wenig dichter Gallerte, welche gegen die Peripherie hin fester und kompakter gestaltet und aus einzelnen Massen zusammengesetzt ist, von denen jede ihre Entstehung einem der Wirteläste verdankt. Bei Alkoholwirkung tritt diese Sonderung der Gallerte an der Peripherie deutlich hervor und ebenso auch bei Anwendung von Färbemitteln, z. B. Methylviolett, Methylenblau, Vesuvin. Dabei zeigt sich auch eine charakteristische Stäbchenstruktur. Von den obersten Zellen jedes Wirtelzweiges strahlen nach allen Seiten die Gallertstäbchen aus, welche mitunter eine ansehnliche Länge erreichen können (IV. Fig. 47c). Dagegen zeigt sich in der wenig dichten und stark verquollenen Gallerte in der Mitte der Kolonie keine Struktur mehr. In sehr charakteristischer Weise, welche an *Zygnema B* erinnert, bringt Methylenblau eine Struktur an der Gallertscheide der farblosen Haarfäden hervor. Es erscheint ein sehr verschieden weitmaschiges dunkelblaues Netzwerk, auf welchem besonders an den Schnittpunkten dichtere Balken sich erheben, welche bei der Seitenansicht als Stäbchen erscheinen. Außerdem aber ist die Gallertschicht, welche dicht der Zellwand anliegt und die Maschen des großen Netzwerkes ausfüllt, noch sehr fein netzförmig gestaltet (IV. Fig. 47a). An anderen Fäden erheben sich auf dem großen Netzwerk sehr zahlreiche Balken nebeneinander, so dass eine sehr dichte Stäbchenstruktur hervortritt.

Die Struktur sowohl der Haarfädenscheide wie der Gallerte der Wirteläste wird ebenso hervorgerufen durch den Aufenthalt in Glykose-Pepton. Die den einzelnen Wirtelästen angehörenden Gallertpartien sind deutlich gesondert, ihre Stäbchenstruktur bei nicht zu starker Einlagerung ist ebenfalls sichtbar oder tritt besonders bei der Aufsicht als Körnelung hervor (IV. Fig. 47b). Bei Hinzufügen von Chlorzinkjod wird eine lebhaftere Quellung veranlasst; die Scheiden der Haarfäden wölben sich in großen, weiten, blasigen und faltigen Massen hervor, welche schließlich sich gänzlich auflösen, während gelbe Tropfen ausgeschieden werden. Ebenso quillt die Gallerte der Wirteläste sehr intensiv. Ein Unterschied der letzteren gegenüber der Substanz der Zygnemenscheiden zeigt sich nur darin, dass bei *Chaetophora* die Gallerte nicht durch kochendes Wasser verschwindet, sondern nachher immer noch deutlich, besonders bei Färbung sichtbar ist. Vollständig gelöst wird die Gallerte durch Kochen mit verdünnter Salzsäure, durch welche die Zellmembran ihre Färbefähigkeit gegenüber Methylenblau verliert.

Inbetreff des Verhaltens bei Einlagerung von fremden Niederschlägen

ist das Resultat nicht so klar und prägnant, wie bei *Zygnema*. Augenscheinlich wird die Scheide der Haarfäden nach Einlagerung von Chromgelb, Berliner Blau in lockeren, faltigen Massen abgestoßen. Weil indessen überhaupt die Scheide leicht sich von der Zellwand trennt, tritt die Abstoßung nicht so scharf als besondere Erscheinung hervor. Unzweifelhaft findet auch Abstoßung und Verquellung der Gallerte der Wirteläste statt, da nach Einlagerung von Berliner Blau die einzelnen Gallertpartien an der Peripherie sich nach 24 Stunden stark hervorwölben in Form hellblauer lockerer blasiger Masse. Indessen geht die Verquellung und Abstoßung nur bis zu einem gewissen Grade vor sich und kann auch nicht weiter gehen, weil die Gallerte des inneren Theiles der Kolonie einmal sehr wenig oder nichts von Niederschlag enthält und weil sie auch infolge ihrer größeren Verdünnung überhaupt nicht der Abstoßung fähig zu sein scheint.

Eine zweite große Gruppe der Chlorophyceen, welche durch besondere Mannigfaltigkeit in den Gallertbildungen sich hervorhebt, stellen die formreichen Protococcoiden dar. Abgesehen von den Volvocineen, welche ich besonders in dem nächsten Abschnitt behandeln will, ist nur eine Form als Beispiel herangezogen worden, nämlich ein Vertreter der Tetrasporeen, *Gloeocystis ampla* (*Pleurococcus superbus* Cienkowski). Diese Alge erscheint theils in einzelnen, theils zu mehreren vereinigten Zellen, welche von einer Reihe ineinander geschachtelter Zellhäute eingeschlossen sind, die in verschiedenem Grade von einander abstehen und durch eine weiche Gallerte getrennt sind, welche nach den bisherigen Anschauungen aus etwas weniger dichten Zellhautlamellen bestehen soll. NÄGELI¹⁾ nimmt für die mit der Theilung der Zellen eintretende Vergrößerung der einzelnen Zellhautlamellen ein Intussusceptionswachsthum an, während SCHMITZ²⁾ und STRASBURGER³⁾ für die ganz entsprechend gebaute Gattung *Gloeocapsa* eine allmähliche Dehnung der Häute behaupten, welcher dann später eine Sprengung folgt. Die Absprengung der äußersten Zellhäute einer *Gloeocystis*-Kolonie hat schon CIENKOWSKY⁴⁾ richtig beobachtet. Infolge der Erhaltung der abgeworfenen Zellhäute wird bei der vorliegenden Species eine eigenartige Stielbildung zu Stande gebracht, welche allerdings nur nach Färbung mit Methylenblau u. s. w. hervortritt. Man erkennt dann, dass die einzelne *Gloeocystis*-Zelle, resp. eine Kolonie derselben, von zahlreichen Häuten umhüllt, auf einem verschieden langen Stiele sitzt, der aus einzelnen Etagen aufgebaut erscheint (IV. Fig. 18 a). Jede derselben besteht aus einer fast stets in gleicher Weise zusammengezogenen, stark gerunzelten inneren Haut und einer weichen, schleimigen äußeren Schicht, welche die betreffende Etage mit der oberen und unteren verbindet. Die Stielbildung beruht

1) NÄGELI, Pflanzenphysiologische Untersuchungen. II. 1858. p. 282.

2) SCHMITZ, l. c. p. 7.

3) STRASBURGER, l. c. p. 36.

4) CIENKOWSKY, Über einige chlorophyllhaltige *Gloeocapsen*. Bot. Ztg. 1865. p. 23.

darauf, dass die an der Peripherie befindliche Zellhaut, welche noch von einer weichen Gallertschicht der nächst älteren Ausscheidung der Zelle unkleidet ist, nur bis zu einem gewissen Grade gedehnt werden kann und dann plötzlich reißt, wobei sie am Scheitelpunkt platzt, sich sofort bis zum entgegengesetzten basalen Ende elastisch zu einer gerunzelten Haut zusammenzieht, welche mit der Gallertschicht eine neue Etage des Stieles bildet. Mit jeder Sprengung rückt die *Gloeocystis*-Zelle um eine Etage höher. Die Ursache für die Dehnung jeder Zellhaut liegt in der allmählichen Wasseraufnahme der an ihrer Innenseite befindlichen weichen Gallertschicht. STRASBURGER fasst bei *Gloeocapsa* dieselbe als eine Reihe weicher Zellhautschichten auf, worin ich ihm wenigstens hinsichtlich *Gloeocystis* nicht beistimmen kann, da ein Nachweis ihrer Zellhautnatur nicht gelingt, und ebenso wenig der Nachweis einer Zusammensetzung aus einzelnen Lamellen. Ich halte vielmehr diese weichen, schwach lichtbrechenden Lagen bei *Gloeocystis* in der That für Gallerte, entsprechend der Substanz bei anderen Algen. In dem jüngsten Stadium gleich nach ihrer Bildung erscheint sie vollkommen homogen, färbt sich auch ganz gleichmäßig und zeigt noch eine ziemlich starke Lichtbrechung, welche dann allmählich mit der Ausdehnung schwächer wird. Diese Gallerte besitzt gleich nach ihrer Entstehung ein Quellungsvermögen, infolge dessen sie Wasser aufnimmt und die Ursache der Dehnung der sie umgebenden Zellhautschicht wird. Indessen ist dieses Vermögen nur sehr begrenzt, so dass sie bald mit der Wasseraufnahme aufhört und nun selbst durch die Quellung der nächst jüngeren Gallertschicht und die dadurch wieder herbeigeführte Dehnung der zwischenliegenden Zellhaut gedehnt wird. Denn nach dem Platzen der äußeren Zellhaut bleibt die Gallerte mit der nächst inneren in Verbindung, ohne sich weiter zu verändern, und erhält sich beliebig lange Zeit später in den Etagen des Stieles. Die *Gloeocystis*-Zelle bildet darnach abwechselnd Zellhäute und Gallertschichten.

Die Substanz der letzteren besitzt in hohem Grade die Fähigkeit, in Glykose-Pepton stickstoffhaltige Substanzen einzulagern. Zwischen den einzelnen, kaum verändert aussehenden Zellhautblasen erscheint in solchem Falle eine sehr stark lichtbrechende weiße, mit Jod sehr intensiv gelblich färbende Gallertmasse. Indessen ist ihre Quellungsfähigkeit nicht so groß, wie bei den Conjugaten. Chlorzinkjod bewirkt nur, dass die eingelagerte Substanz sich in kleinen, bisweilen in regelmäßig konzentrischen Kreisen angeordneten Tröpfchen ausscheidet (IV. Fig. 48 b), welche dann später zu größeren Massen zusammenfließen. Diese starke Einlagerung in Glykose-Pepton findet sich besonders bei den jungen dichten Gallertschichten, da die älteren, besonders die am Stiel befindlichen nur schwache Verdickung zeigen. Dieselbe Erscheinung zeigt sich auch nach Einlagerung von Chromgelb, insofern die jüngsten Gallertlagen am intensivsten dasselbe in sich aufnehmen. Eine Abstoßung des Chromgelb wurde nie beobachtet, und es mag beiläufig hierbei erwähnt werden, dass die Gallertstiele von

Mischococcus ebenfalls nicht die Fähigkeit haben, eingelagertes Berliner Blau zu entfernen.

Die Zellhautschichten von *Gloeocystis* lagern, wie nach der Jodfärbung hervortritt, ebenfalls etwas stickstoffhaltige Substanz ein, ohne in Chlorzinkjod eine weitere Veränderung zu zeigen und ohne dass ein solcher Unterschied der jüngeren und älteren Lagen sich bemerkbar macht.

V. Die Gallertbildungen bei Volvocineen und Peridineen.

Den Tetrasporeen unter den Protococcoiden schließen sich die Volvocineen aufs innigste an, andererseits zeigen die letzteren in manchen Punkten, wie z. B. in der Bildung schwärmender Gallertkolonien, Beziehung zu den echten Flagellaten. Im allgemeinen sind die Volvocineen sehr vielfältig und genau untersucht, und ebenso hat man ihren Gallertbildungen mehr, als es bei anderen Organismen bisher geschehen war, Aufmerksamkeit gewidmet. Indessen nach mancher Hinsicht stehen noch Fragen offen, so dass eine ausführlichere Untersuchung geboten schien.

Die einfachsten Formen der Volvocineen sind die Chlamydomonaden, bei welchen die einzelnen Zellen, von einer Zellhaut umgeben, für sich schwärmen. Die Gattungen *Chlorogonium*, *Chlamydococcus* sind sehr arm an Gallerte, bilden solche kaum bei der Theilung, während die *Chlamydomonas*-Arten besonders bei längerer Zeit der Unbeweglichkeit mächtige tetrasporaähnliche Gallertmassen erzeugen.

Indessen sind die Eigenschaften dieser Gallerte von *Chlamydomonas* nicht näher verfolgt worden. Dafür bot sich Gelegenheit, einen bisher unbeachtet gebliebenen Organismus zu beobachten, welcher in gewisser Weise eine Übergangsform zwischen den Chlamydomonaden und den koloniebildenden eigentlichen Volvocineen darstellt, insofern die Einzelzelle außer ihrer Zellhaut noch stets mit einer besonderen Gallertbülle umkleidet ist. Die frei für sich umherschwärmenden Zellen (IV. Fig. 23 a) sind ellipsoidisch bis fast kugelig, von wechselnden Dimensionen (Lg. = 28—42 μ , Br. = 23—33 μ). Die Zellhaut liegt dem Zellinhalt ganz dicht auf und ist stark lichtbrechend und relativ sehr dick (4,5—4,8 μ). Die dunkelgrüne Farbe verdankt die Zelle dem Vorhandensein von zahlreichen rundlichen bis länglichen, in der Peripherie dicht zusammenstehenden Chlorophyllkörpern, welche ganz mit kleinen Stärkekörnchen erfüllt sind. Einen Amylonkern, wie er sonst bei allen anderen Chlamydomonaden vorkommt, konnte ich bisher bei keinem Exemplar beobachten. Am vorderen Ende liegen zwei abwechselnd pulsirende Vakuolen, etwas seitlich nahe der Zellwand ein länglicher Augenfleck. Sehr bemerkenswerth gegenüber den anderen Chlamydomonaden erscheint die Anheftungsweise der beiden langen Cilien. Sie entspringen nicht von der vordersten Spitze des Körpers, sondern mehr seitlich, ziemlich entfernt von einander, noch etwas hinter den kontraktilen Vakuolen

und gehen, jede für sich, durch einen besonderen Kanal der dicken Zellwand, welche übrigens an dieser Stelle ein wenig ausgerandet erscheint (III. Fig. 23 b z). Die Theilung der Zellen erfolgt im Ruhezustande durch successive Zweitheilung, entsprechend wie bei anderen Chlamydomonaden; ein weiteres Entwicklungsstadium wurde bisher nicht beobachtet.

Speziell interessirt hier bei diesem Organismus die besondere, meist $2,5 \mu$ dicke Gallertscheide neben der Zellhaut, beide durch verschiedenes Aussehen und andere Eigenschaften scharf unterschieden. Die Zellhaut färbt sich mit Jodlösung gelb, die Gallertscheide bleibt ungefärbt; Chlorzinkjod bringt letztere zur vollständigen Lösung, verändert die Zellhaut nicht in sichtbarer Weise, färbt sie auch nicht violett. Die Zellhaut zeichnet sich durch eine ganz besonders lebhaft Anziehungskraft zu Farbstoffen, wie Methylenblau, aus; die Scheide nimmt dieselben nur aus konzentrierteren Lösungen auf, zeigt dabei keine deutliche Struktur. In Glykose-Pepton dagegen tritt das umgekehrte Verhalten ein, insofern die Zellhaut relativ wenig einlagert, die Gallertscheide dagegen sehr stark lichtbrechend und glänzend wird, sich dann mit Jod intensiv gelb färbt und bei Zusatz von Chlorzinkjod lebhaft zu einer faltigen Haut quillt, welche eine Zeit lang feinkörnig erscheint durch die Ausscheidung des eingelagerten Körpers, bis sie schließlich ganz verschwindet.

Gallertscheide und Zellhaut sind hier bei *Gloeomonas* entsprechend wie bei den Conjugaten zwei verschiedene Organe der Zelle; beide kehren auch wieder bei den meisten der koloniebildenden Volvocineen.

Pandorina morum besteht bekanntlich aus 16 Zellen, welche zu einer kugeligen Kolonie vereinigt sind und von welchen jede von einer besonderen Zellhaut umkleidet ist. Außerdem ist die ganze Kolonie von einer gemeinsamen Mantelhülle umgeben, welche nach STEIN¹⁾ aus primären und sekundären Verdichtungsschichten bestehen soll. Die Schichtung kommt nur dadurch zu Stande, dass diese Mantelhülle aus zwei verschiedenen Lagen zusammengesetzt ist, einer inneren, welche aus den verschmolzenen peripherischen Zellhautstücken sämtlicher Einzelwesen besteht, und ferner aus einer äußeren, allen gemeinsamen Gallertscheide²⁾. Die erstere kann man als die Zellhaut der Kolonie bezeichnen, sie ist viel dicker, als die von ihr ausgehenden, die Einzelzellen trennenden radialen Seitenwände (IV. Fig. 22 s u. z). Die Gallertscheide ist entsprechend wie bei *Gloeomonas* deutlich von der dicken Zellhaut verschieden. Sie erscheint viel schwächer lichtbrechend, als die letztere, und zeichnet sich wie diese durch lebhaft Färbung in Methylenblau etc. aus, unterscheidet sich aber wesentlich dadurch, dass an ihr eine deutliche Stäbchenstruktur bemerkbar wird, wäh-

1) STEIN, Der Organismus der Infusionsthiere. III, 4; Die Flagellaten. Taf. XVI. Fig. 14, 45.

2) Vergl. auch KIRCHNER, Kryptogamenflora von Schlesien. II. p. 88.

rend die Zellhaut sich homogen färbt (IV. Fig. 22). In Glykose-Pepton nimmt die Gallertscheide in hohem Maße die durch Jod gelb werdende stickstoffhaltige Substanz auf, zeigt bei nicht zu starker Einlagerung die Stäbchenstruktur und quillt in Chlorzinkjod lebhaft zu einer sehr weit abstehenden, stark gefalteten, feinkörnig erscheinenden Haut. Die Zellhaut verdickt sich auch, aber viel weniger als die Gallerte in Glykose-Pepton, bleibt dann bei Zusatz von Chlorzinkjod im wesentlichen unverändert, so dass die Trennung von ihr und der Gallertscheide dadurch leicht herbeigeführt werden kann. Selbst in dem Falle, dass die *Pandorina*-Kolonie infolge der Theilung sich stark in die Fläche ausgebreitet hat, bleibt Scheide und Zellhaut deutlich gesondert; die erstere zeigt selbst bei stark verquollenen Kolonien ihre Stäbchenstruktur: die Zellhaut ist es besonders, welche durch die Entstehung der jungen Tochterkolonien stark ausgedehnt ist. Ihre Dicke bei ungetheilten Familienstöcken findet in diesem Verhalten bei der Theilung ihre biologische Erklärung.

Sehr nahe an *Pandorina* schließt sich *Eudorina elegans* an, von welcher mir aber nur ein ungenügendes Material zur Verfügung stand. Auch hier liegt auf der von allen Einzelzellen gebildeten Zellhaut eine besondere Gallertscheide, welche ebenfalls lebhaft Methylenblau aufnimmt, ohne aber dabei eine Stäbchenstruktur aufzuweisen. In Glykose-Pepton verdickt sie sich stark und zeigt dann eine körnige Struktur. Der wesentliche Unterschied der Gallertsubstanz von *Eudorina* gegenüber der von *Pandorina* besteht darin, dass weder die normale noch die verdickte Gallerte in Chlorzinkjod verquillt.

Noch schärfer von *Pandorina* unterscheidet sich die Gallertscheide von *Gonium pectorale* und *Tetras*. Bezüglich des Vorhandenseins einer besonderen Mantelhülle bei *Gonium* ist bisher noch keine Übereinstimmung erlangt. Schon EHRENBERG, FOCKE sprachen von einer solchen, besonders aber vertheidigte COHN¹⁾ das Dasein derselben, welches er durch anhängende Tuschtheilchen nachwies. STEIN²⁾ dagegen wendet sich sehr entschieden gegen FOCKE, COHN und bestreitet die Existenz der Hülle. Es ist keinem Zweifel unterworfen, dass COHN und nicht STEIN Recht hat. Jede *Gonium*-Kolonie hat ihre besondere Gallertscheide wie *Pandorina*, *Eudorina*. Allerdings ist sie ohne weiteres nicht zu sehen, sondern erst nach Färbung, und bezüglich derselben zeichnet sich die Gallerte vor den meisten Gallerten anderer Algen durch sehr geringe Färbefähigkeit aus, so dass selbst Methylviolett, Methylenblau namentlich bei *Gonium pectorale*, weniger häufig bei *Tetras* versagen. Das beste Färbungsmittel ist gerb-

1) COHN, Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte der mikroskopischen Algen und Pilze. Nova Acta Leop. XXIV, 4. 1854. p. 172; vergl. ferner COHN, Bemerkungen über die Organisation einiger Schwärmzellen. Beiträge zur Biologie. II. 1877. p. 103.

2) STEIN, l. c. p. 82, 112. Taf. XVI. Fig. 4—7.

saures Vesuvin, weil die Gallerte Tannin fixiren kann, so dass es damit gelingt, sie nachzuweisen in Form einer ringsum laufenden, durch den Farbstoff etwas contrahirten, regelmäßig an der Peripherie undulirten Hülle (II. Fig. 19 a, 20). Hierbei tritt bei beiden *Gonium*-Arten eine Stäbchenstruktur der Gallerte hervor, welche auch bisweilen bei der schnell vorübergehenden Färbung mit Methylenblau deutlich wird (IV. Fig. 19 b). So viel sich beobachten lässt, ist die Gallerte nur an der Peripherie vorhanden, nicht in den Interzellularräumen zwischen den Zellen im Innern der Kolonie.

Eine weitere Eigenthümlichkeit der Gallerte von *Gonium* ist die Unfähigkeit, in Glykose-Pepton sich zu verdicken; höchst selten gelang es nach mehrtägigem Aufenthalte mit Jod eine schwach gelbliche Färbung der Scheide nachzuweisen.

Die eigenartigste Stellung nimmt unter den Volvocineen die Gattung *Volvox* ein, und das macht sich auch bezüglich ihrer Gallerte bemerkbar. Nach den bekannten Untersuchungen von WILLIAMSON¹⁾, BUSK¹⁾, STEIN, COHN²⁾ besteht jede Kolonie aus sehr zahlreichen, in der Peripherie einer Kugel zusammensitzenden Einzelzellen, von welchen jede von einer Schalenhülle umgeben ist, welche in ihrem peripherischen Theil mit dem der anderen Zellen zu einer der ganzen Kolonie gemeinsamen Haut verklebt ist. STEIN und BÜTSCHLI³⁾ bezeichnen die Schalenhülle der Einzelzelle als hautartig, von dem Zellkörper weit abgehend, während COHN dieselbe als eine dünne gallertartige Hülle ansieht, welche nach innen zu in die weiche, fast flüssige Inhaltsmasse der ganzen Kugel übergeht. Den Raum der Hohlkugel nimmt nach STEIN eine indifferente Flüssigkeit ein, während WILLIAMSON das Vorhandensein eines gummiartigen Schleimes darin vermuthete⁴⁾. Meine Bemühungen, die besonderen Schalenhüllen der Einzelzellen genauer nachzuweisen, haben ein negatives Resultat gehabt; ich habe sie an fertigen reifen Kolonien nie gesehen. Vielmehr möchte ich die Anschauung von COHN dahin erweitern, dass in den reifen Kolonien überhaupt keine bestimmten Hüllen um jedes Individuum ausgebildet, dass alle von einer gemeinsamen Gallerte umgeben sind, welche nach außen von einer hautartigen Schicht abgegrenzt wird und nach innen mit der die ganze Kugel erfüllenden Gallertmasse zusammenhängt. Die letztere lässt sich nachweisen beim Zerdrücken der Kolonie und dem Zusatz von Methylenblau. Dabei zeigt sich, dass die Gallerte nicht homogen ist, sondern dass in ihr ein grobes Netzwerk von dickeren und dünneren Bal-

1) Vergl. die ausführliche Behandlung des Gegenstandes bei STEIN, l. c. p. 116—124.

2) COHN, Die Entwicklungsgeschichte der Gattung *Volvox*; Festschrift 1873.

3) BÜTSCHLI, Protozoen p. 691.

4) Auch LEVICK, *Volvox globator*, is it a hollow sphere? nach JUST, Jahresbericht. X, 4. 1882. p. 323 ist auf die Vermuthung gekommen, dass das Innere der *Volvox*-Kugel nicht von Flüssigkeit, sondern von einer Gallerte erfüllt ist.

ken vorhanden ist, welche etwa im Zentrum sich zu einer dichteren Masse vereinigt haben, die in ihrem Aussehen an einen Ganglienknoten erinnert. Die Gallerte zwischen den Strängen erscheint selbst aus äußerst zarten Fäden zusammengesetzt. Jod, Chlorzinkjod lassen die Gallertsubstanz ungefärbt, in Jod und Schwefelsäure quillt sie anfangs, zieht sich dann zusammen und lässt das Balkennetzwerk tief braun gefärbt scharf hervortreten. Am klarsten tritt aber die Struktur bei Aufenthalt in Glykose-Pepton hervor. Nach 2 Tagen sieht man an den unzerdrückten Kolonien in der Mitte den Netzknoten, von welchem nach der Peripherie die sehr ungleichmäßig dicken Stränge ausstrahlen. Jetzt färbt Jod die Gallerte intensiv gelb, Chlorzinkjod ruft aber keine besondere Quellung hervor. Die Membran der Kolonie erscheint nach außen wie nach innen scharf begrenzt, zeigt nach Einwirkung von Glykose-Pepton und Jodfärbung eine deutliche körnige Struktur.

Nach meiner Auffassung also sind die Einzelzellen reifer *Volvox*-Kolonien nicht mehr von besonderen Zellhäuten umgeben, sondern sie liegen eingebettet in der Gallerte, welche die ganze Kugel ausfüllt. Die plasmatischen Verbindungsstränge zwischen den Nachbarzellen gehen ununterbrochen von einer Zelle zur andern. Zur Stütze der ganzen Kugel dient ein dichteres Balkengerüst, welches die Gallertmasse durchsetzt. Nach außen ist die Kolonie von einer gemeinsamen Haut abgegrenzt. Dieselbe zeigt, wie schon vielfach beobachtet worden ist, eine hexagonale Felderung, entsprechend der Zahl der Einzelzellen, und diese Beobachtung ist wohl die Veranlassung gewesen, für jedes Feld eine zugehörige Seitenwand anzunehmen. Sehr wahrscheinlich nach der von WILLIAMSON, COUX, STEIN gelieferten Entwicklungsgeschichte ist in den jüngsten Stadien jede Einzelzelle von einer Zellhaut umkleidet, deren peripherische Theile zu einer gemeinsamen Haut verkleben, deren Seitenwände aber später verschwinden und durch die Gallerte ersetzt werden, welche die Zellen in großer Quantität während des Wachstums der Kolonie ausscheiden. Danach würde also nur die peripherische Haut der *Volvox*-Kolonie von den ursprünglichen Zellhäuten das einzig Übrigbleibende sein.

Die Familie der Peridineen, welche wohl manche Berührungspunkte ebenso wie die Volvocineen mit den echten Flagellaten haben, andererseits doch wesentlich von diesen unterschieden sind und eine eigenartige Stellung einnehmen, bietet sehr wenig Bemerkenswerthes bezüglich der Gallertbildung dar. Die häufigsten Süßwasserformen und, wie es scheint, auch die Meeresbewohner erzeugen höchstens bei der Theilung innerhalb der alten Zellhaut Gallertsubstanz, wie z. B. die *Peridinium*-Arten. Nur sehr wenige sind bisher bekannt geworden, welche Gallerte in größerer Menge bilden, vor allem das *Gymnodinium fuscum*. In einer frühern Arbeit¹⁾

1) G. KLEBS, Über die Organisation einiger Flagellatengruppen; Tübinger Untersuchungen. I. 1883. p. 118.

habe ich schon mitgetheilt, dass die braunen nackten, frei umherschwärmenden Zellen, sowie man sie mit Farbstoffen oder Reagentien behandelt, von einer dicken Gallerthülle umgeben sind. Nach neueren Erfahrungen, besonders auch an einigen Flagellaten und Infusorien, ist es mir sehr wahrscheinlich, dass während der Bewegung die Zellen frei von Gallerte sind, dass aber auf bestimmte äußere Reize hin, wie bei dem Herausquellen der Trichocysten von *Paramecium Aurelia* u. a. diese Gallerthülle sehr leicht und schnell ausgeschieden wird. Dieselbe zeigte nach früheren Beobachtungen bisweilen Stäbchenstruktur, welche indessen nicht in dem Grade, wie z. B. bei *Zygnema*, *Pandorina* charakteristisch für die Gallerte ist, da sie bei Farbstoffen wie Methylviolett, Methylenblau nicht scharf genug hervortritt, allerdings wohl vielfach deshalb, weil die Gallerte sich dabei stark kontrahirt. In Glykose-Pepton verdickt sich die Substanz und quillt dann in Chorzinkjod auf, jedoch nur in begrenzter Weise zu einer etwas faltigen Haut.

Interessant bei diesem *Gymnodinium fuscum*, und deshalb hebe ich es an dieser Stelle noch einmal hervor, ist die Thatsache der lebhaften Gallertbildung bei Abwesenheit einer Zellhaut, infolge dessen überhaupt eine Entstehung durch Metamorphose derselben ausgeschlossen ist. Die direkte Ausscheidung aus dem Cytoplasma lässt sich auch durch die außerordentliche Schnelligkeit, mit der die Bildung geschieht, allein gut erklären. Um so bemerkenswerther ist hier diese Gallertentstehung, als sonst die Peridineen den typischen Bau von Pflanzenzellen aufweisen und sich durch den Besitz einer echten Cellulosehaut auszeichnen. Die letztere scheint in hohem Grade frei von gewissen Einlagerungen zu sein, welche bei den anderen Algen, z. B. *Zygnema*, in charakteristischer Weise auftreten. So fehlt der Zellhaut von *Peridinium tabulatum* die Fähigkeit, mit Methylenblau, Methylviolett lebhaft sich zu färben und in Glykose-Pepton Stoffe einzulagern, infolge deren sie sich mit Jod gelb färbt. Die Cellulosereaktionen gelingen sehr leicht an ihr, die Färbung mit Kongoroth ist an noch lebend bleibenden Individuen nachzuweisen. Andreerseits allerdings müssen in der Zellhaut besondere Bestandtheile vorhanden sein, denen sie ihre Sprödigkeit verdankt.

Peridinium tabulatum mit seiner mannigfach verzierten getäfelten Zellhaut zeigt noch eine besondere Eigenthümlichkeit. In verdünnten Farbstofflösungen, in welchen durch schnellen Tod der Cilien die Zellen zur Ruhe kommen, beobachtet man nicht selten an einigen Exemplaren die allmähliche Ausscheidung einer sehr zarten, farb- und strukturlosen zusammenhängenden Haut um die anscheinend unveränderte Zellhaut, an welcher sich vorher keine besondere strukturlose Außenschicht nachweisen lässt. Gerade bei dem charakteristischen Bau der Zellhaut kann diese Hülle nur durch eine Ausscheidung von Seiten des Cytoplasmas durch die Zellmembran entstanden sein. Eine analoge Erscheinung habe ich auch

bei *Ceratium cornutum* gemacht. Bei beweglichen und dann mit Osmiumsäure fixirten Individuen lässt sich durch Methylenblau keine besondere Hülle um die ungefärbt bleibende Zellhaut nachweisen, ebenso wenig, wenn man lebende Zellen sofort in die Farbstofflösung bringt. Lässt man dagegen dieselben einige Minuten in einem Tropfen auf dem Objektträger sich bewegen, setzt dann verdünntes Methylenblau hinzu, so tritt allmählich um jedes Individuum ein sehr zartes, sehr lockeres Netz von höchst feinen Fäden hervor, welche hier und da kleine Körnchen enthalten. Genaueres über die Natur dieses Netzes habe ich wegen Mangels an genügendem Material nicht feststellen können, jedoch ist es sehr wahrscheinlich, dass wir es hier mit einer Ausscheidung infolge eines äußeren Reizes — der Veränderung des Mediums — zu thun haben.

VI. Die Gallertbildungen bei einigen Flagellaten.

In der großen sehr formenreichen Klasse der Flagellaten entfaltet sich wie bei den Thallophyten eine überraschende Mannigfaltigkeit in den Gallertbildungen, welche einerseits vielfach an diejenigen der Algen erinnern, andererseits durchaus eigenartig sind. Von vornherein ist auf ein Moment ein großes Gewicht zu legen, welches die Thallophyten und Flagellaten unterscheidet und von besonderer Bedeutung für die Frage nach der Entstehungsweise der Gallerte ist. In allen Fällen bei den Thallophyten, mit einziger Ausnahme vielleicht der reifen Kolonien von *Volvox*, finden wir den Zellkörper zunächst umgeben von einer Zellhaut, welche, wie sich leicht nachweisen lässt, aus Cellulose besteht, und auf diese folgt, im Falle des Vorhandenseins, eine Gallerthülle, welche nicht aus Cellulose oder einem direkten Abkömmling derselben gebildet ist und überhaupt in wesentlichen Punkten von der Zellhaut abweicht. Bei den Flagellaten, in der Umgrenzung, wie ich sie annehme, mit Ausschluss von Volvocineen und Peridineen, ist der Zellkörper zunächst auch umkleidet von einem hautähnlichen Organ, welches aber durchaus verschieden ist von der pflanzlichen Zellhaut und welches man zum Unterschiede als Plasmamembran bezeichnen kann. Die Zellhaut zeigt im wesentlichen dieselben Eigenschaften an lebenden wie an toten Zellen; sie lässt sich leicht von dem lebenden Plasmakörper durch Plasmolyse trennen, sie wird sehr häufig während der Entwicklung entfernt und neu gebildet, vor allem nach jeder Theilung, auch in dem Falle, wo die Zellen, wie bei den Zygneimen u. a., im Verbande bleiben. Die Plasmamembran der Flagellaten ist dagegen ein lebender Theil des Zellkörpers selbst, welcher sich ohne Tödtung des letzteren nicht von ihm trennen lässt und thatsächlich in der Entwicklung nie getrennt wird, welcher stets mitgetheilt wird, wie der Kern. Dieser prinzipielle Unterschied der Plasmamembran, oder wie sie bei Zoologen leider noch immer

genannt wird, der Cuticula¹⁾ und der vegetabilischen Zellhaut tritt am klarsten bei dem Verhalten beider gegenüber Kongoroth hervor. Die Zellhaut färbt sich roth, gleichgültig ob die Zellen todt oder lebendig sind, und ihre Färbung hat keinen tödtlichen Einfluss auf das Plasma; die Plasmamembran nimmt ebenfalls lebhaft Kongoroth auf, aber nur, wie das Zellplasma, wenn sie mit diesem getödtet wird. Wochenlang leben Euglenen in 0,05% Kongorothlösung ohne Spur von Färbung, die sofort beim Tode eintritt²⁾. Schon früher habe ich auf diesen höchst wesentlichen Unterschied von Zellhaut und der Plasmamembran speziell bei den Euglenen aufmerksam gemacht und auch ihren verschiedenen chemischen Bau nachgewiesen. Ich habe deshalb hier noch einmal darauf zurückkommen müssen, weil BÜTSCHLI auf diesen Unterschied kein Gewicht legt und diese Plasmamembran, resp. Cuticula mit den Hüllenbildungen, zu denen auch die Zellhaut zu rechnen ist, in eine Reihe zusammenstellt. Ich kenne kein Beispiel, in dem man im Zweifel sein kann, ob eine Plasmamembran oder eine Zellhaut vorhanden ist. Dagegen giebt es bei den Flagellaten zahlreiche Übergangsformen von Arten mit wohl ausgebildeter Plasmamembran zu solchen, bei welchen man nur von einer dichteren, peripherischen Lage des Plasmas, einer Hautschicht, sprechen kann. Die Plasmamembran ist eben eine besondere Differenzirung der Hautschicht.

Infolge der eigenartigen Organisation des Flagellatenkörpers, des Besitzes dieser während des Lebens unverändert an ihrer Stelle bleibenden Plasmamembran, ist hier von vorn herein die Frage nach der Entstehung der Hüllenbildungen viel klarer und einfacher und kann kaum anders beantwortet werden, als durch die bisher auch hier schon geltende Ansicht, dass die Gallerte bei den Flagellaten stets ein Ausscheidungsprodukt und nicht ein Umwandlungsprodukt der peripherischen Haut ist. Außerdem liegen aber wesentliche Stützen dieser Ansicht vor, einmal in den Beobachtungen

1) Der Ausdruck Cuticula, welcher bekanntlich für die Haut der Infusorien zuerst von COHN angewandt wurde (Zeitschr. für wissensch. Zoologie. V. 1854. p. 424), hatte damals seine Berechtigung, jetzt aber nicht mehr, da der in pflanzlicher Anatomie gebrauchte Begriff Cuticula — ein verkorktes Umwandlungsprodukt der Zellhaut — in keiner Weise auf das lebende Organ der Plasmamembran bei Flagellaten und Infusorien passt. Derselbe Ausdruck mit zwei heterogenen, dabei aber doch leicht zu verwechselnden Bedeutungen ist bei dem Zusammenhang von Botanik und Zoologie sehr störend, weshalb es gut wäre, einen besonderen Namen für diese Plasmamembran zu bilden.

2) In meiner früheren Arbeit (Untersuchungen aus dem Tübinger Institut. I. p. 243 Anmerkung) habe ich angegeben, dass es gelingt, lebende *Euglena spirogyra* mit Hämatoxilin zu färben. Diese Färbung beruht in diesem Falle auf einer Verbindung des Farbstoffes mit dem in der Plasmamembran der betreffenden *Euglena* vorhandenen Eisenoxydhydrat. Andere Euglenen mit eisenfreier Plasmamembran zeigten niemals diese Färbung.

KENT'S¹⁾ bezüglich der Bildung der Stiele von *Anthophysa* und den meinigen über Gallertausscheidung bei Euglenen. Da die letztere für die vorliegende Untersuchung von Bedeutung ist, möchte ich etwas ausführlicher, als in meiner früheren Arbeit, darauf zurückkommen.

Hauptsächlich untersucht wurde die rothe Form der *Euglena sanguinea*, deren Körper während des Schwimmens umgekehrt eiförmig, und von einer derben, spiralig gestreiften Plasmamembran umgeben ist. Fügt man zu den schwärmenden rothen Zellen sehr verdünnte Methylenblaulösung hinzu, so tritt in dem Moment der Berührung des Farbstoffes mit der *Euglena* ein lebhaftes Hin- und Herzucken, Zusammenziehen und Wiederausdehnen statt, und von dem Körper strahlen nach allen Seiten sofort tief blau sich färbende Gallertfäden, welche sich zu einer Hülle in Form eines Netzwerkes vereinigen. Die Gestalt dieser Gallertausscheidung ist in den einzelnen Fällen außerordentlich verschieden, hängt von der Individualität der *Euglena*, von der Natur, der Konzentration des Farbstoffes ab; auch Methylgrün, Methylviolett (IV. Fig. 25 b), Vesuvin, Fuchsin rufen die Gallertausscheidung hervor. In sehr verdünntem Methylgrün erscheint die Gallerte fast wie ein homogener, diluirter Schleim mit nur wenig deutlichen, dichteren Partien, dessen netzförmige Struktur dann erst nach Alkoholbehandlung hervortritt. In Vesuvin bildet die Gallerte eine nur selten geschlossene, meist stark zusammengezogene, tief braun gefärbte Masse, die aus kurzen, dichten Stäbchen zusammengesetzt erscheint. Bei rascher Wirkung des verdünnten Methylenblaus — nach Zusatz desselben im offenen Tropfen — nimmt die Gallerte die Form eines sehr zierlichen, durchbrochenen Netzwerkes an (IV. Fig. 25 a); bei ganz allmählichem Eindringen des Farbstoffes unter dem Deckglas erfolgt eine unregelmäßige und langsame Ausscheidung von dichteren und weniger dichten, geraden und mannigfaltig gekrümmten Stäbchen, während dessen die *Euglena* weiterkriecht, so dass oft eine große Strecke mit den blauen Gallertstücken wie besät wird (IV. Fig. 25 c, b).

Die Gallertausscheidung gehört in die Reihe der Reizerscheinungen, da nur lebendige Individuen der *Euglena* dieselben zeigen. Die Rolle des auslösenden Reizes können sehr verschiedene Momente spielen, außer Farbstoffen auch Salzlösungen, schwache Alkalien, Säuren, mechanischer Druck u. s. w. Diese Mittel müssen eine gewisse schädigende Einwirkung ausüben; denn solche Farbstoffe, wie z. B. Kongoroth, Indigkarmin, Nigrosin, in welchen die Euglenen lange Zeit ungestört leben können, vermögen nicht, die Gallertausscheidung herbeizuführen. Die reizauslösenden Farbstoffe müssen hierfür auch eine gewisse Konzentration besitzen, unter welche der Gehalt der Lösung nicht sinken darf, um eine Wirkung noch auszuüben. Eine Lösung des Methylenblaus von 1 : 100 000 wirkt noch deutlich

1) S. KENT, A Manual of Infusoria. I. 1880—81. p. 268—269.

ausscheidend, eine solche von 4:200 000 nicht mehr. Ist eine Reizursache vorhanden, so tritt meistens der Erfolg sehr schnell ein, was besonders daraus ersichtlich wird, dass selbst schnell tödtende Mittel, wie Jodlösung, Alkohol, noch eine Ausscheidung bewirken. Dagegen tödtet 4 % Osmiumsäure so momentan, dass keine Gallerte mehr gebildet werden kann.

Neben der lebhaften Farbstoffeinlagerung besitzt die Gallertsubstanz von *Euglena sanguinea* auch das Vermögen, in Glykose-Pepton sich zu einer sehr stark lichtbrechenden, mit Jod tief gelb sich färbenden Masse zu verdicken, welche in Chlorzinkjod wohl etwas, aber nur begrenzt verquillt und sich in dieser Beziehung wie die Gallerte von *Gymnodinium* verhält.

Jedenfalls geht aus den vorliegenden Beobachtungen die Entstehung der Gallerte durch Ausscheidung klar hervor. Das Cytoplasma presst die Substanz durch die Plasmamembran, welche gegenüber der vegetabilischen Zellhaut sich durch ein sehr viel dichteres Gefüge auszeichnen muss und sich in dieser Beziehung wie die Hautschicht des vegetabilischen Plasmas verhält, welche die osmotische Aufnahme und Ausgabe von Stoffen regulirt. In manchen Fällen bei sehr gleichmäßiger Ausscheidung findet man die Gallertstäbchen sehr regelmäßig in Spiralfolgen auf der Plasmamembran sitzen, entsprechend ihrer Spiralfolge, so dass wahrscheinlich an den schmalen Furchen zwischen den eigentlichen Spirallinien die Ausscheidung erfolgt. Bei *Euglena velata*, welche ebenfalls durch Farbstoffe gereizt wird, Gallerte zu bilden, ließ sich, wie ich früher bemerkt habe¹⁾, ein Zusammenhang der Gallertstäbchen mit dem Cytoplasma der *Euglena* nachweisen. Bei *Euglena sanguinea* gelang bisher dieser Nachweis nicht, jedoch lässt sich mit Hilfe von Methylgrün (nicht Methylenblau) feststellen, dass an der noch lebenden *Euglena* innerhalb der Plasmamembran im peripherischen Protoplasma sich kugelige Körper blau färben, welche vielleicht das Bildungsmaterial für die Ausscheidung darstellen.

Von anderen Euglenen zeigt noch eine Art, welche wahrscheinlich identisch ist mit der von SCHMITZ²⁾ als *Euglena geniculata* beschriebenen, eine Gallertbildung infolge äußerer Reize, welche besonders sichtbar bei Zusatz von Fuchsin und Methylviolett ist. Die sich dabei kontrahirende *Euglena* erscheint sofort umgeben von einer zart gefärbten, anscheinend sehr lockeren Schleimmasse, dann plötzlich von zahlreichen, dichteren Körnchen in der Nähe des Körpers, während andere Individuen gekrümmte, roth, resp. blau gefärbte Stäbchen besonders am Schwanzende ausscheiden.

Die größere Anzahl der Euglenaceen hat nicht die Fähigkeit, auf äußere Reize hin sofort Gallerte auszuschleiden; die Bildung derselben bei Theilungen, Ruhezuständen geht langsam vor sich, so dass sie nicht direkt sicht-

1) KLEBS, l. c. p. 275.

2) SCHMITZ, Beiträge zur Kenntnis der Chromatophoren; PRINGSHEIM'S Jahrbücher. XV. p. 44.

bar wird. Die Gallerthüllen treten in mannigfacher Weise auf, sehr häufig in Form von scharf begrenzten Häuten, den vegetabilischen Zellhäuten sehr ähnlich, wie z. B. bei *Euglena viridis*, bei welcher Art aber andererseits statt dessen auch die ausgeschiedene Gallerte unter Umständen fast schleimartig werden kann. Äußere Verhältnisse, bei *Euglena viridis* z. B. trockener oder feuchterer Standort, üben auf die Gestaltung der Hülle gewissen Einfluss aus, hauptsächlich in der Weise, dass sie die Art der Ausscheidung durch den Organismus bedingen, so dass der letztere also je nach den Umständen bald dichtere, bald weniger dichte Substanz aussondert. Wir müssen andererseits der Gallerte selbst eine gewisse Veränderungsfähigkeit zuschreiben, insofern sie gleich nach der Ausscheidung in Berührung mit dem Außenmedium in begrenztem Maße Wasser aufnehmen und infolge dieser Quellung zu homogenen Hüllen verschmelzen kann. Die durch Farbstoffe hervorgehobenen Gallertstäbchen quellen allerdings nicht, was aber leicht verständlich ist, da sie den Farbstoff aufgenommen haben und infolge dessen meist sogar etwas kontrahirt erscheinen. Bei manchen Euglenaceen hat die Gallerthülle die Fähigkeit, anorganische Körper, speziell Eisenoxydhydrat, einzulagern. An und für sich hat die Gallerte jeder Euglenacee dieses Vermögen, wenn man sie in eisenoxydhaltiges Wasser, z. B. 0,1 % essigsäures Eisen, bringt, und diese Eigenschaft ist von dem Leben der *Euglena* selbst unabhängig. Thatsächlich sind es in unsern Gewässern aber nur wenige Formen, bei welchen in die Gallerthülle sehr viel Eisenoxydhydrat eingelagert wird, so dass dieselbe zu einem spröden, harten Panzer sich gestaltet, so bei den *Trachelomonas*-Arten, in viel geringerem Grade bei *Ascoglena*. Für diese Fälle müsste man eine ganz besonders ausgebildete Anziehungskraft der anfangs eisenfreien, zarten Gallerthülle zuschreiben, infolge deren sie aus der höchst verdünnten Eisensalzlösung (in Form des kohlen-sauren Salzes), wie sie das Wasser unserer Sümpfe darstellt, das Eisenoxydhydrat herausziehen kann. Man wird aber auch an die Möglichkeit denken, dass bei diesen Arten der lebendige Organismus bei der Eiseneinlagerung wirksam ist, um so mehr, als die bei *Trachelomonas hispida*, *armata* anfangs weiche, zarte, homogene Hülle sich später mit mannigfachen Stachelbildungen auf ihrer Oberfläche bedeckt, und es sehr schwer erklärlich ist, dieselben anders als durch nachträgliche Einwirkung der Zelle selbst hervorgerufen anzunehmen. Allerdings ist es auffallend, dass gleich nach der ersten Ausscheidung die *Euglena* selbst in keinem so innigen Zusammenhange mit der Hülle steht, wie etwa die Zellhaut mit dem Cytoplasma bei Pflanzenzellen, sondern vollständig frei und gesondert sich in der Hüllhaut bewegt.

Unter zahlreichen anderen Flagellaten, welche ich untersucht habe, ist noch ein Organismus von mir beobachtet worden, welcher wie *Euglena sanguinea*, *velata* fähig ist, plötzlich Gallerte auf äußere Reize hin auszu-

scheiden, nämlich die von CIENKOWSKY¹⁾ zuerst beschriebene *Vacuolaria virescens*, welche nach meiner Meinung identisch ist mit der von STEIN²⁾ als *Coelomonas grandis*³⁾ bezeichneten Form. Dieser Organismus nimmt nach manchen Beziehungen eine interessante Stellung ein und ist bisher sehr wenig bekannt. Er tritt in Form von eiförmigen bis fast rundlichen, dunkelgrünen Zoosporen auf, welche am vorderen Ende an einer Ausrandung zwei Cilien tragen, von denen die eine sehr häufig nicht lang ausgestreckt ist, sondern nahe dem Körper bleibt und hier wellenförmig hin und her schwingt⁴⁾. Ausgezeichnet ist der Körper durch den Mangel einer besonderen Plasmamembran, statt deren nur eine dichtere, stark lichtbrechende Schicht des Cytoplasmas sich vorfindet. In demselben liegen, wie CIENKOWSKI und STEIN schon beobachtet haben, zahlreiche elliptische Chlorophyllkörper ohne Stärke, welche überhaupt fehlt und vielleicht vertreten wird durch die zahlreichen, ölartig aussehenden, stark lichtbrechenden Körner, die in Alkohol löslich sind. Im mittleren Theil des Körpers befindet sich ein grosser feinkörniger Kern mit 1—2 Nucleoli; im vorderen ein großer zellsaftähnlicher Hohlraum, zwischen welchem und der Peripherie ein bis zwei kontraktile Vakuolen vorhanden sind.

Der Körper der *Vacuolaria* verhält sich wie eine weiche, plastische Masse, welche man bis zu einem hohen Grade platt drücken kann und welche auch während des Lebens bei Eintritt ungünstiger Umstände amöboider Bewegungen fähig ist. Besonders treten dieselben hervor bei Berührung mit verdünnten Farbstofflösungen. Hierbei zuckt der Körper zusammen, wellenförmig wogt seine Peripherie einen kurzen Moment auf und nieder, indem sehr schnell Fortsätze ausgestossen und wieder eingezogen werden, bis dann sehr bald eine Kontraktion zu einer kugelförmigen Masse erfolgt. Bei diesen Bewegungen wird wie bei *Euglena sanguinea* eine breite Gallerthülle ausgeschieden. Diese Aussonderung geschieht so schnell und bei den geringsten Veränderungen, dass es sehr schwer gelingt die Zellen zu tödten, ohne zugleich die Bildung der Gallerte zu ver-

1) CIENKOWSKI, Über Palmellaceen und einige Flagellaten. Archiv f. mikrosk. Anat. VI. p. 426. Fig. 19—22.

2) STEIN, Der Organismus etc. III, 4. Taf. XII. Fig. 4—5; vergl. auch BÜTSCHLI, Protozoen. p. 849.

3) Der Hauptunterschied, welcher zwischen *Vacuolaria* Cnk. und *Coelomonas* Stein besteht, bezieht sich auf die Zahl der Cilien; die erstere hat zwei, die letztere nur eine. Ich glaube nicht zu weit zu gehen, wenn ich behaupte, dass hier ein Irrthum von Seiten STEIN's vorliegt, der hier gerade so erklärlich ist, wie der Irrthum desselben Autors in der Beobachtung der Cilien von *Dinopyxis* (*Exuviaella* Cnk.). An den lebenden Schwärmern erkennt man fast stets nur eine Cilie, die andere liegt zu nahe dem Körper, um gesehen zu werden, und der Nachweis derselben gelingt nur gut mit Fixierungsmitteln, besonders Jod. Die Arbeit von CIENKOWSKI hat Stein, obwohl sie älteren Datums ist, in seinem Flagellatenwerk nicht berücksichtigt.

4) Jedoch ist diese Lage der zweiten Cilie nicht so regelmässig und charakteristisch, wie etwa bei *Exuviaella*.

anlassen. Osmiumsäure versagt hier, weil der Körper infolge ihrer Wirkung zerfließt. Die Hülle erscheint in Form einer dicken, hautartigen Schicht, welche stets gerunzelt ist; in ihren Eigenschaften verhält sie sich wie die Gallerte von *Euglena sanguinea*, nimmt dieselben Farbstoffe auf, bleibt ungefärbt in Jod, Chlorzinkjod, verdickt sich in Glykose-Pepton und quillt dann in Chlorzinkjod etwas, aber nur in begrenztem Grade auf, so dass sie erhalten bleibt und dabei eine körnige Struktur annimmt.

Außer dieser Ausscheidung infolge äußerer Reize wird die Gallerte in grosser Menge gebildet, wenn die Flagellate sich zur Ruhe setzt und sich theilt, in welchem Falle große palmellaähnliche Gallertmassen gebildet werden¹⁾.

In den bisher besprochenen Fällen der Flagellaten waren es einzelne frei für sich lebende Organismen, welche die Gallerte ausschieden. Sehr häufig spielt aber Gallertsubstanz eine wichtige Rolle bei der Bildung von bestimmt geformten Kolonien, seien es festsitzende, auf verzweigten Stielen sich erhebende, wie bei *Cladomonas*, *Dendromonas*, seien es frei schwimmende, aber so gut wie unbewegliche, wie bei *Spongomonas*, seien es lebhaft umherschwärmende, wie bei *Uroglena*. STEIN, KENT²⁾, BÜTSCHLI haben schon darauf hingewiesen, dass die Gallerte bei manchen dieser genannten mannigfaltigen Formen eine Struktur in der Weise zeigt, dass in einer homogenen Grundsubstanz sich feine, runde Körnchen vorfinden. KENT²⁾ betrachtet dieselben als unverdaute und ausgeschiedene Nahrungsreste des Organismus, während BÜTSCHLI³⁾ die Unwahrscheinlichkeit dieser Ansicht hervorhebt. In der That liegt für dieselbe kein thatsächlicher Grund vor; vielmehr sind die Körner ein nothwendiges Strukturelement der Gallertsubstanz.

Als Beispiel für die Untersuchung wählte ich *Phalansterium digitatum* STEIN⁴⁾, welches in festsitzenden, dichotom verzweigten Gallertstöcken auftritt. In jedem Zweige (IV. Fig. 26) letzten Grades sitzt eine farblose Flagellate von eiförmigem Körper, welcher nach vorne zu in eine schnabelartige Verlängerung ausgeht, in welcher die Basis der einzigen Cilie sitzt. In dem farblosen Cytoplasma finden sich eine häufig ihren Platz verändernde

1) Vergl. CIENKOWSKY, l. c. Taf. XXIII. Fig. 21, 22.

2) KENT, A Manual of Infusoria. I. p. 288.

3) BÜTSCHLI, Protozoen p. 686.

4) STEIN, l. c. Taf. VII. Fig. 3—11. St. gibt Quertheilung für diesen Organismus an; ich habe unzweifelhaft Zustände der Längstheilung beobachtet; sehr häufig sind die Zustände, wo zwei Schnäbel mit je einer Cilie an dem sonst noch ungetheilten Organismus vorhanden sind. Nach der Theilung rückt die eine Tochterzelle unter die andere; ich möchte fast vermuthen, dass durch solche übereinander stehende Tochterzellen STEIN auf die Vermuthung gekommen ist, dass Quertheilung erfolgt. Ich habe solche scheinbare Theilungszustände, wie er sie abbildet, ebenfalls gesehen, aber mich überzeugt, dass der vordere Theil des einen Organismus durch den anderen nur verdeckt war.

kontraktile Blase, ein bläschenartiger Kern, nicht pulsirende Vakuolen und kleine Körnchen unbekannter Natur. Die Gallerthüllen erscheinen als weiche, nach außen scharf begrenzte Massen und sind nicht offen, wie STEIN meint, sondern auch am vorderen Ende geschlossen bis auf eine Öffnung für die Cilie. Man erkennt es, sobald man die Kolonien in 0,4 % essigsäurem Eisen kultivirt, aus welchem die Gallerte Eisenoxydhydrat an sich zieht, infolge dessen sie sich gelb färbt und sehr scharfe Kontouren annimmt. In der Gallerte liegen zahlreiche, scheibenförmige kleine Körner, welche selbst wieder eine äußerst zarte, körnige Struktur zu haben scheinen, und welche nie in der peripherischen Schicht, sondern stets innerhalb derselben, am gehäuftesten dicht um den Organismus selbst sich befinden. In den älteren, keine Zellen mehr enthaltenden Theilen der Kolonie sind diese Gallertkörner in geringer Anzahl vorhanden.

Die Körner wie die Grundsubstanz der Gallerte nehmen lebhaft Farbstoffe auf, wie Methylenblau, Methylviolett, Vesuvin; jedoch färben sich die Körner intensiver. In Glykose-Pepton findet Einlagerung statt, so dass nach Jodzusatz sowohl die Körner wie die Grundsubstanz sich lebhaft gelb färben. Chlorzinkjod ruft aber auch an den verdickten Gallertkolonien keine nennenswerthe Verquellung hervor.

Es gelang ferner, in die Gallerte der Kolonien Chromgelb einzulagern, wobei die Hülle ebenfalls am vorderen Ende sich als geschlossen erwies, und sowohl Körner wie Grundsubstanz den Niederschlag enthielten. Doch fand keine Abstoßung desselben, resp. keine Verquellung der Gallerte statt, obwohl die Flagellaten während mehrerer Tage trotz der Einlagerung lebend blieben.

Infolge des Mangels einer Mundöffnung, jedweder Bestandtheile, die als aufgenommene feste Nahrungsstoffe zu deuten gewesen wären, des Geschlossenseins der Hülle, ist man zu der Ansicht genöthigt, dass *Phalansterium digitatum* wie so viele andere farblose Flagellaten saprophytisch lebt, und schon deswegen die Anschauung von KENT bezüglich der Natur der Gallertkörner unhaltbar ist. Das Verhalten gegenüber Farbstoffen, Reagentien zeigt deutlich, dass die Körner dichtere Theile der Grundsubstanz darstellen. Dass beide durch Ausscheidung der Flagellate entstehen, ist nach den sonstigen Erfahrungen höchst wahrscheinlich; genaueres gelang bisher nicht nachzuweisen, namentlich nicht die Frage zu lösen, ob vielleicht nur die Gallertkörner ausgesondert werden und ein Theil derselben nachher sich zu der Grundsubstanz umbilde ¹⁾.

1) Beiläufig möchte ich hier bemerken, dass ich nicht mit KENT und BÜSCHLI einverstanden bin, das *Phalansterium* von den Spongomonaden so weit zu trennen. B. stellt diese Form zu seinen Choanoflagellaten, welche er als eigene große Unterabtheilung von den echten Flagellaten trennt, welche Monaden, Euglenen, Volvocineen u. s. w. umfassen. Die schnabelartige Verlängerung des Körpers, in welcher die Basis der Cilie sitzt, ist doch keine solche Besonderheit, entspricht vollständig dem Mem-

Dieselbe Struktur, dieselben Eigenschaften bezüglich des Verhaltens gegen Farbstoffe, Glykose-Pepton, eingelagertes Chromgelb, bietet auch die Gallertmasse einer *Spongomonas*, welche in großen, vielfach gefalteten schwärzlichen Gallertschläuchen frei schwimmend gefunden wurde und wahrscheinlich mit *Sp. intestinum* Cnk.¹⁾ identisch war. Hier liegen zahllose kleine farblose Monaden in der Peripherie der Gallerte, deren bräunliche bis schwärzliche Färbung, wie KENT²⁾ schon betont, besonders in den Gallertkörnern auftritt. Diese Färbung beruht wie in so vielen anderen Fällen bei Flagellaten auf der Einlagerung von Eisenoxydhydrat.

Zusammenfassung.

Die wesentlichsten Resultate der vorliegenden Abhandlung sind kurz folgende:

Die Gallertscheide der Zygmenen stellt ein von der Zellhaut nach vielen Beziehungen scharf unterschiedenes eigenartiges Organ vor. Sie besteht in den ausgesprochenen Fällen aus einer gegenüber Farbstoffen, Reagentien sich sehr indifferent verhaltenden, äußerst schwach lichtbrechenden Grundsubstanz und einem in Form von Stäbchen eingelagerten dichteren Bestandtheil, welcher lebhaft gewisse Farbstoffe, wie Methylviolett, Methylblau, Vesuvin, anzieht und sich dabei stark kontrahirt, welcher eine besondere Oberflächenanziehung zu Eisenoxyd-, Thonerde-, Chromoxyd-Verbindungen zeigt und in Glykose-Pepton lebhaft eine stickstoffhaltige Substanz einlagert. Die Trennung beider Bestandtheile geschieht durch kochendes Wasser, Chlorzinkjod, wobei die Grundsubstanz ungelöst zurückbleibt, während der färbbare Stoff herausgelöst wird. Bei lebenden Zygmenen kann die Trennung, wenn auch nicht so vollständig, durch Kultur in 0,4 % Eisenweinstein oder saurem chromsaurem Kali herbeigeführt werden.

Die ganze Gallertscheide wird gelöst durch Salzsäure, während die Zellhaut zurückbleibt.

Die Gallertscheide der Zygmenen besitzt die merkwürdige Eigenschaft, bei Einlagerung von Niederschlägen in Quellung überzugehen und dadurch von den Zellen sich zu trennen, gleichsam abgestoßen zu werden. Die Scheide quillt in Form von zahlreichen Blasen oder einer vielfach ge-

brantrichter bei den Euglenaceen, in welchen ebenfalls die Basis der Cilie sitzt. Im Übrigen steht *Phalansterium* so nahe bei den Spongomonadinen, dass eine Vereinigung mit denselben mir berechtigter erscheint.

1) CIENKOWSKI, Über Palmellaceen und einige Flagellaten p. 430. Fig. 37, 38. Ein Unterschied der von mir beobachteten Form von der eigentlichen Art zeigte sich darin, dass die schlauchartige Gallertkolonie nie in die Länge gestreckt, sondern rundlich war, mehr wie eine große vielfach gestaltete Hohlkugel aussah. Vielleicht lag auch eine neue Spezies vor; doch bin ich nicht näher darauf eingegangen.

2) KENT, A Manual etc. p. 288.

falteten Haut oder eines Schlauches hervor. Der Niederschlag wirkt bei dieser Abstoßung nicht durch seinen chemischen Charakter; denn die allermannigfachsten anorganischen wie organischen Stoffe führen die Verquellung herbei. Vielmehr übt er die Wirkung vermöge seiner physikalischen Beschaffenheit aus; vor allem kommt die Größe, vielleicht auch die Form der Niederschlagstheilchen in Betracht. Grobkörnige und deutlich krystallinische Niederschläge werden nicht abgestoßen. Eine scheinbare Ausnahme von der Regel machen die meisten Verbindungen der Elemente der Eisengruppe, speziell Eisen, Chrom, Aluminium, insofern dieselben entweder gar nicht oder in beschränktem Maße abgestoßen werden. Hier tritt die besondere Anziehungskraft der Gallertsubstanz zu diesen Verbindungen hindernd dem Prozess der Abstoßung entgegen.

Die Abstoßung des Niederschlages infolge Verquellung der Gallerte ist keine Reizerscheinung, da sie auch unter gewissen Umständen bei todtten Zynnemem zu Stande kommt, so dass der bestimmten Organisation der Gallerte selbst die Hauptrolle bei dem Prozess zuzuschreiben ist. Andererseits ist hervorzuheben, dass die meisten Tödtungsmittel lebender Zellen sofort, alle bei länger andauernder Wirkung die Organisation der Gallerte so verändern, dass sie nicht mehr mit den Niederschlägen verquellen kann.

Die Abstoßung des Niederschlages geht im allgemeinen in der Weise vor sich, dass der anfangs meist gleichmäßig in der Gallerte vertheilte Niederschlag, von Gallerte umhüllt, aus der Scheide herausgleitet, an der Peripherie sich ansammelt und dann durch Verquellung der Gallerte in den mannigfach geformten Blasen oder Häuten hervortritt. Wesentlich dabei ist, dass bei dieser Verquellung nur der färbbare, in Form der Stäbchen auftretende Bestandtheil der Gallerte betheiligt ist. Je nach der Menge des eingelagerten Niederschlages wird eine kleinere oder größere Menge dieses Gallertbestandtheiles aus der Scheide entfernt; aber auch bei vollständigster Abstoßung bleibt die Grundsubstanz übrig, welche selbst nicht derselben fähig ist.

Der Prozess der Abstoßung ist vollständig gleich dem Quellungsprozess, welchen die Gallerte bei Einwirkung eines quellenden Mittels und gleichzeitiger Gegenwart eines festen Niederschlages zeigt, welcher z. B. bei der Wirkung von Chlorzinkjod auf die in Glykose-Pepton verdickte Gallerte eintritt, ebenso bei Wirkung von Salzsäure auf die Gallerte, welche Eisenoxydhydrat eingelagert enthält. Jedoch ist hierfür stets nothwendig, dass das quellend wirkende Mittel den Niederschlag in der Gallerte entweder löst oder so chemisch verändert, dass der um die Gallerttheilchen befindliche Niederschlagsmantel gesprengt wird. Diejenige Ursache, welche bei Einlagerung von Niederschlägen in die Scheide lebender Zynnemem eine Trennung des Niederschlagsmantels und zugleich eine Verquellung der Gallerte herbeiführt, ist vollständig unbekannt.

Die Gallertscheide ist nicht durch Metamorphose der äußeren Zellwandschicht, sondern durch Ausscheidung seitens des Cytoplasmas entstanden. Die Gallertsubstanz ist von der Zellhaut wie von den bekannten Umwandlungsprodukten derselben, Schleimen, Gummiarten ganz wesentlich verschieden. Allerdings enthält auch die Zellhaut neben Cellulose noch einen andern Körper, welchem sie ihre Färbefähigkeit mit Methylenblau und die Einlagerung eines stickstoffhaltigen Stoffes aus Glykose-Pepton verdankt. Aber diese Beimengung ist, abgesehen davon, dass sie nur in sehr geringer Menge in der Zellhaut vorkommt, von dem Hauptbestandtheil der Gallerte dadurch verschieden, dass er in kochendem Wasser unlöslich ist und durch Chlorzinkjod nicht aus der Zellhaut herausquillt. Ferner zeigen die Wachsthumerscheinungen, dass die Gallerte nicht aus der Zellhaut hervorgeht. Die Zellhaut wächst durch Apposition neuer Zellhautlamellen, während die älteren zu der äußersten, die Zellen verbindenden Schicht sich vereinigen, welche überhaupt der Vergallertung durchaus widersteht und nach einer Reihe von Theilungen und Streckungen der Zellen, unter manchen Umständen — Einlagerung von Niederschlägen in die Gallerte und Nichtabstoßung derselben — bei jedem Wachsthum der Zellen gesprengt wird und deren Reste sich oft noch lange Zeit nachher nachweisen lassen.

Wesentlich dieselben Eigenschaften der Gallerte von *Zygnema* bezüglich des Verhaltens gegenüber Farbstoffen, Glykose-Pepton, Reagentien, Einlagerung von Niederschlägen kehren wieder bei der Gallerte anderer Conjugaten, namentlich der Desmidiaceen, von denen eine Anzahl ebenfalls stets von einer Gallertscheide umschlossen ist, welche bei *Hyalotheca*, *Desmidium*, einigen *Cosmarium*-, *Staurastrum*-, *Xanthidium*-Spezies deutliche Stäbchenstruktur zeigt, oder aus einzelnen Gallertkörnern sich zusammensetzt, wie bei *Pleurotaenium*. Sehr viel Gallerte wird von den Desmidiaceen besonders bei ihren Bewegungen erzeugt, hauptsächlich in Form längerer oder kürzerer Gallertfäden.

Die Gallerte der Desmidiaceen muss, wie die der Zygnemen, ein Ausscheidungsprodukt sein. Am klarsten tritt dies hervor bei den Closterien, welche Eisenoxydhydrat in ihrer Membran enthalten, die infolge dessen ohne Lösung des Niederschlages, resp. ohne dass letzterer selbst in die Gallerte übergeht, nicht vergallerten könnte. Thatsächlich bleibt an den ausscheidenden Stellen die Zellhaut stets eisenhaltig und lässt, obwohl unter den Augen des Beobachters Gallertbildung erfolgt, nicht die geringste Veränderung bemerken; die ausgeschiedene Gallerte ist eisenfrei. Vielfach sind besondere Stellen der Zellhaut ausgezeichnet, an denen die Gallertausscheidung vor sich geht. So besitzen die Endkappen der eisenhaltigen Closterien deutliche Tüpfel, welche an der übrigen Membran nicht vorhanden sind. Bei *Pleurotaenium*-, *Tetmemorus*-, *Cosmarium*-, *Staurastrum*-Arten, bei *Hyalotheca*, *Desmidium*, *Bambusina* sind es als besondere Körnchen her-

vortretende Stellen der Zellhaut, auf welchen die Stäbchen oder die Gallertkörner sitzen.

Bei anderen Algengruppen finden sich ebenfalls mannigfache Gallertbildungen, welche in ihrer Erscheinung, ihren Eigenschaften entweder der Conjugatengallerte sehr ähnlich oder verschieden davon sich verhalten. Das erstere trifft z. B. zu für *Chaetophora endiviaefolia*, deren Gallerte sowohl an den langen Haarfäden wie an den kurzen, die Hauptmasse der Gallerte bildenden kurzen Wirtelästen Stäbchenstruktur zeigt, sich stark in Glykose-Pepton verdickt, der Abstoßung von Niederschlägen fähig und stark quellungsfähig ist. Ebenso verhält es sich mit der Gallertscheide einer Schizophyte, der neuen *Sphaerozyga mucosa*.

Andererseits gibt es unter den Chlorophyceen wie Schizophyten abweichende Gallertformen. *Chroococcus helveticus* besitzt eine stark lichtbrechende Gallerte, die zwar sehr quellungsfähig, aber nicht verdickungs- und abstoßungsfähig ist, auch keine Struktur erkennen lässt. Die Tetrasporee *Gloeocystis ampla* verdankt den bekannten Aufbau einer Wechselagerung von Zellhaut und Gallertschicht, welche letztere sich stark verdickt, aber nur sehr begrenzt quellungsfähig ist und eingelagerte Niederschläge nicht entfernt.

Von den stark gallertbildenden Diatomeen sind nur die Stiele von *Gomphonema constrictum* untersucht, welche aus einer sehr dichten Gallerte bestehen, die in der Mitte des fadenförmigen Gebildes weniger dicht erscheint. Die Substanz färbt sich intensiv, verdickt sich in Glykose-Pepton, ist sehr wenig quellungsfähig, stößt keine Niederschläge ab. Die Gallerte der Stiele geht nicht allmählich in eine schleimige Schicht der Zellhaut über, sondern ist scharf getrennt, wächst durch Auflagerung neuer Gallertmasse, welche höchst wahrscheinlich ausgeschieden wird. Die Gallerte ist frei von Kieselsäure.

Sehr verschiedene Abstufungen in den Eigenschaften der Gallerte finden sich in der Reihe der Volvocineen. Die neue Chlamydomonade *Gloeomonas ovalis*, ferner die koloniebildenden Formen von *Pandorina*, *Eudorina*, *Gonium* besitzen stets außer der Zellhaut noch eine besondere Gallertscheide. Die Substanz derselben ist sehr quellungsfähig bei *Gloeomonas*, kaum geringer bei *Pandorina*, weniger bei *Eudorina*, *Gonium*; dieselbe Reihenfolge zeigt sich in dem Verhalten gegenüber Farbstoffen, Glykose-Pepton. Hierbei zeigt keine Struktur *Gloeomonas*, eine undeutliche *Eudorina*, eine scharfe Stäbchenstruktur *Pandorina*, *Gonium*; die Gallerte der letzteren Form färbt sich übrigens sehr schwer und verdickt sich kaum. Am eigenartigsten ist *Volvox* gebaut, bei dessen reifen Kolonien die einzelnen Zellindividuen nicht mehr eine besondere Zellhaut erkennen lassen, sondern in einer gemeinsamen Gallerte liegen, welche auch das Innere der ganzen Kugel ausfüllt und hier von einem Netzwerk gröberer und feinerer Balken von dichter, festerer Substanz durchsetzt ist. An der Peripherie der Kugel findet sich

eine scharf abgegrenzte, polygonal gefelderte Membran, welche von den ursprünglichen Zellhäuten der Einzelzellen herrührt. Die Gallertsubstanz quillt wenig, verdickt sich stark. Eine die ganze Kolonie umgebende Gallertscheide ist nicht vorhanden.

Von den Flagellaten zeichnen sich einige Formen aus durch Gallertbildung auf äußere Reize hin, z. B. bei Einwirkung von verdünnten Farbstoffen. Hier ist keinem Zweifel unterworfen, dass eine Ausscheidung erfolgt, und zwar bei *Euglena sanguinea* durch die sehr dichte Plasmamembran, welche als lebendiges Glied der Zelle nie, so lange dieselbe lebt, sich davon trennt, daher, sowie wegen der anderen chemischen und physikalischen Eigenschaften, ganz wesentlich von der vegetabilischen Zellhaut unterschieden ist, wie auch von den verschiedenen Hüllenbildungen der Flagellaten selbst. Die Frage nach der Vergallertung der Zellhaut kommt hier nicht in Betracht. Die Ausscheidung auf äußere Reize erfolgt in mannigfach geformten geraden oder gekrümmten, kurzen, fadenartigen Elementen, welche sich zu einer mehr oder minder dichten, geschlossenen Hülle vereinigen.

Dieselbe momentane Ausscheidung einer Gallerthülle zeigt auch *Vacuolaria virescens*; nur geht hier der Prozess blos durch eine dichtere Schicht des Plasmas vor sich, die Hülle ist auch stets sofort zu einer etwas gerunzelten geschlossenen Haut gestaltet. Die Gallertsubstanz selbst von *Euglena*, *Vacuolaria*, zieht lebhaft die oft genannten Farbstoffe an, verdickt sich stark in Glykose-Pepton, zeigt ein begrenztes Quellungsvermögen.

Die kolonibildenden Flagellaten, z. B. *Phalansterium*, *Spongomonas*, zeichnen sich durch eine Gallerte aus, welche aus einer Grundsubstanz und darin eingelagerten dichteren Elementen, den Gallertkörnern, besteht. Beide Bestandtheile, lebhaft sich färbend und verdickend, gerathen bei Einlagerung von Niederschlägen nicht in Quellung, sind überhaupt wenig quellungsfähig.

Die braune bis schwarze Färbung solcher Flagellatenkolonien rührt von der Einlagerung von Eisenoxydhydrat her.

Figurenerklärung.

Die Vergrößerung der Figuren ist durch die eingeklammerten Zahlen angegeben. In den meisten Figuren ist die Gallerte durch einen dunkleren Ton von dem meist weiß gelassenen Zellinhalt oder der schmalen, scharf begrenzten Zellhaut ausgezeichnet.

Nur in einzelnen Fällen ist sie noch durch den Buchstaben *s*, die Zellhaut durch *z* bezeichnet.

Tafel III.

- Fig. 4 a. (630) *Zygnema B.* nach Färbung mit Methylenblau.
- 4 b. (630) - - - - -
- 2 a b. (580) *Zygnema A.* 2 Tage in Glykose-Pepton, d (1280).
- 2 c (580) - - in absolutem Alkohol.
- 3, 4 a b - - mit schmaler Gallertscheide, 3 a Seitenansicht (580),
4 a id. (580), 3 b Aufsicht (1280), 4 b id. (580).
- 5 a b. *Zygnema A.* a. Seitenansicht, b. Aufsicht (1280) mit verdünntem Methylenblau gefärbt.
- 6 a b. *Zygnema A.* a b wie bei 5 (1280) mit konzentriertem Methylenblau gefärbt.
- 7, 9, 10, 11. (245) *Zygnema C.*, Verquellung der Gallerte nach Einlagerung von Chromgelb.
- 8. (580) *Zygnema C.* nach Einlagerung von Katechueisenoxyd.
- 12. (245) - - - - - Berliner Blau.
- 13. (580) *Zygnema vaginatum*, Zygosporien.
- 14. (580) *Zygnema laete-virens*, Zygosporien.
- 15, 16. (580) *Zygnema B.*, 4 Wochen nach der Einlagerung von Katechubleioxyd in die Gallertscheide, mit Methylenblau gefärbt.
- 17. (290) *Zygnema C.*, 5 Wochen nach der Einlagerung von phosphorsaurem Eisenoxydul; r die schwarzen Ausscheidungsprodukte.
- 18. (500) *Zygnema C.*, 26 Tage nach der Einlagerung von vanadinsaurem Eisenoxydul; r wie bei Fig. 17.
- 19. (1280) *Zygnema C.*, 2 Tage in 0,4% Eisenweinstein; r wie bei Fig. 17.
- 20. (580) *Zygnema B.*, 5 Wochen nach der Einlagerung von Katechubleioxyd.
- 21. (580) *Zygnema A.*, nach Färbung mit Kongoroth; Querwand mit zahlreichen Zellhautlamellen.
- 22. (500) *Zygnema C.*, 26 Tage nach der Einlagerung von vanadinsaurem Eisenoxydul; r wie bei Fig. 17.
- 23. (830) *Zygnema spec.*, nach Behandlung mit 10% Rohrzuckerlösung, in der etwas Methylviolett aufgelöst war.
- 24. (680) *Zygnema spec.*, nach Färbung mit verdünntem Methylviolett.
- 25. (1280) *Mesocarpus spec.*, die Querwand a frisch, b 2 Tage in Glykose-Pepton, c wie b und dann mit Chlorzinkjod behandelt.
- 26. (580) *Zygnema A.*, 5 Wochen nach Einlagerung von Katechubleioxyd; r wie bei Fig. 17.
- 27. (245) *Zygnema C.*, nach Einlagerung von Chromgelb.

Tafel IV.

- Fig. 1 a—g. Gallertscheide von *Hyalotheca dissiliens*, 1 a. (270) Seitenansicht, 1 b. (1200) Aufsicht, 1 e f. (546) Seitenansicht, 1 g. (1130) nach Färbung mit Methylenblau, Zellhaut ohne Scheide, 1 c. (585) Seitenansicht, 1 d. (1280) Aufsicht, 2 Tage in Glykose-Pepton.
- 2 a. *Desmidiium Schwartzii*, (585) nach Färbung mit Methylenblau, b (1280) 2 Tage in Glykose-Pepton.
 - 3. (585) *Bambusina Brebissonii*, nach Färbung mit Vesuvin.
 - 4 a b. (300) *Closterium didymotocum*, ein Ende mit je einem Gallertfaden nach Fixirung mit Sublimat und Färbung mit Methylenblau.
 - 5 a—d. (300) *Closterium didymotocum*, die Endkappen a b Längsansicht, c d Aufsicht, nach Isolirung durch konzentrirte Schwefelsäure.
 - 6 a—c. *Tetmemorus granulatus*, a (150), c (300) nach Färbung mit Methylviolett, b isolirte Endkappen (480):
 - 7. (580) *Staurastrum polymorphum*, nach Färbung mit Methylenblau.
 - 8. (200) *Pleurotaenium Ehrenbergii*, Abstoßung der Gallerte nach Einlagerung von Berliner Blau.
 - 9. (160) *Closterium didymotocum*, mit langem Gallertfaden, nach Färbung mit Methylviolett.
 - 10. (580) *Pleurotaenium truncatum*, nach Färbung mit Methylviolett, das Endstück einer Zelle.
 - 11. (1280) *Pleurotaenium Trabecula*, Gallertscheide, 2 Tage in Glykose-Pepton, a Seitenansicht, c Aufsicht, b nach Zusatz von Chlorzinkjod.
 - 12. (150) *Euastrum verrucosum*, mit langem Gallertfaden; Färbung mit Methylviolett; a schmaler Theil, b breiter Theil des Gallertfadens.
 - 13. (150) *Cosmarium pyramidatum*, mit breitem Gallertfaden, der in eine Zelhülle übergeht; Färbung mit Methylviolett.
 - 14. (76) *Tetmemorus granulatus*, mit langem Gallertfaden; Färbung wie bei Fig. 13.
 - 15. (400) *Cosmarium Palangula*, eben getheilt, die Zellhäute der jungen Zelhälften abgestoßen.
 - 16. (585) *Staurastrum dejectum*, Färbung mit Methylenblau.
 - 17 a—c. *Chaetophora endiviaefolia*, a (1280) Haarfädenzelle, c (580) Wirteläste; Färbung mit Methylenblau; b (580) Wirtelast; 2 Tage in Glykose-Pepton.
 - 18 a b. *Gloeocystis ampla*, a (240) nach Färbung mit Methylenblau, b (290) 2 Tage in Glykose-Pepton.
 - 19 a b. *Gonium pectorale*, a (580) halbe Kolonie nach Färbung mit gerbsaurem Vesuvin, b (1280) einzelne Zelle, gefärbt mit Methylenblau.
 - 20. (580) *Gonium tetras*, gefärbt mit gerbsaurem Vesuvin.
 - 21 a b. (1280) *Gomphonema constrictum*, a nach Färbung der Zellmembran mit Kongoroth, Gallertstiel ungefärbt; b 5 Tage nach der Einlagerung von Berliner Blau, n das neu aufgelagerte Stück farbloser Gallertsubstanz.
 - 22. (1280) *Pandorina morum*, 2 Zellen der Kolonie, 1 Tag in Glykose-Pepton, Gallertscheide mit Stäbchenstruktur.
 - 23 a b. *Gloeomonas ovalis*, a (580) b (1280) ein Stück der Peripherie mit Zellhaut z und Gallertscheide s.
 - 24 a b c. *Sphaerozyga mucosa*, a (500) direkt nach Einlagerung von Berliner Blau in die Gallertscheide, b (500) 24 Stunden darauf mit Verquellung der Gallerte, c (560) nach Färbung mit Methylenblau.
 - 25 a—c. *Euglena sanguinea*, Gallertsubstanz, ausgeschieden bei Einwirkung von Methylenblau, a (500), b (1000), c (250).
 - 26. *Phalasterium digitatum*, nach Einlagerung von Chromgelb.

Inhaltsübersicht.

	Seite
Einleitung	333
I. Die Gallertscheiden der Zygnemen	334
1. Die Struktur der Gallertscheide	336
2. Die Eigenschaften der Gallertscheide	339
A. Die Methode der Einlagerung	339
B. Die Verfärbung und Verquellung	340
C. Die Einlagerung verschiedenartiger Niederschläge	344
D. Die Art und Weise der Abstoßung	348
E. Die Beziehung des todtten und lebenden Zustandes von <i>Zygnema</i> zu dem Prozess der Abstoßung	353
F. Das Verhalten der Gallertscheide gegenüber Farbstoffen und Reagentien	355
G. Über den Prozess der Abstoßung und Quellung	364
3. Über das Verhältnis der Gallertscheide zu der Zellmembran und das Wachsthum beider	368
a. Die Eigenschaften von Zellhaut und Gallertscheide	369
b. Das Wachsthum von Zellhaut und Gallertscheide	374
II. Die Gallertbildungen bei anderen Conjugaten	377
III. Die Gallertbildungen bei einigen Diatomeen und Schizophyten	388
IV. Die Gallertbildungen bei einigen Chlorophyceen	393
V. Die Gallertbildungen bei Volvocineen und Peridineen	397
VI. Die Gallertbildungen bei einigen Flagellaten	403
Zusammenfassung	444

Berichtigung.

An folgenden Stellen ist Prollius statt Trollius zu lesen:

S. 388 al. 20 von oben, Anmerkung 2.

S. 389 al. 43 - - -

S. 390 al. 44, 47, 22 von oben.

VI.

Über den Einfluss hoher Sauerstoffpressungen auf das Wachstum der Pflanzen.

Von

Stefan Jentys.

I. Geschichtliches.

Nachdem die Thatsache bekannt geworden war, dass die in phylogenetischer Entwicklung weit fortgeschrittenen, so genannten höheren Pflanzen das Sauerstoffgas nicht entbehren können, haben sich manche Gelehrte bemüht, zu erforschen, wie die Pflanzenorganismen in Gasmischen gedeihen, welche sauerstoffreicher als die sie in normalen Verhältnissen umgebende, atmosphärische Luft sind. Mit dieser Frage hat sich schon der Entdecker des Sauerstoffs, SCHEELE¹⁾ beschäftigt und kam zur Überzeugung, dass reiner Sauerstoff ein ungünstiges Medium für die Pflanzen ist, da die zum Versuch gebrauchten Erbsen unter diesen Bedingungen zwar Wurzeln bekamen, aber sich nicht weiter entwickelten.

Gegen das Ende des vorigen Jahrhunderts hin haben noch zwei Forscher versucht, diese Frage zu lösen. HUMBOLDT²⁾ hat gefunden, dass die Samen in reinem Sauerstoffgase schneller als in gewöhnlicher Luft keimen, und ROLLO³⁾ hat diese Angabe bestätigt, indem er eine beschleunigte Keimung sowohl in reinem Sauerstoff als auch in einer 54 und 46 % Sauerstoff enthaltenden Atmosphäre beobachtete. Die Differenz zu Gunsten des reinen Sauerstoffgases betrug einen bis zwei Tage.

In den späteren, wenn nicht immer Versuchsergebnissen, so doch

1) SCHEELE, Chemische Abhandlungen von Luft und Feuer; ausg. von BERGMANN. II. Aufl. 1782. §. 92. S. 132.

2) HUMBOLDT, Aphorismen; übers. von FISCHER. Leipzig 1794. S. 68.

3) ROLLO, Annales de Chimie. 1798. Bd. 25.

wenigstens Ansichten der Forscher, fanden die Angaben von HUMBOLDT und ROLLO keine Bestätigung.

HUBER und SENEBIER¹⁾ beobachteten, dass die Lattichsamen in der durch assimilirende, grüne Pflanzenorgane mit Sauerstoff bereicherten Luft (präcise Angaben über den wirklichen Procentgehalt an Sauerstoff sind nicht zu finden) schneller als in gewöhnlicher Luft keimen. Die weitere Entwicklung der Keimlinge soll zuerst immer rascher bei der höheren Sauerstofftension vor sich gehen, nach einiger Zeit aber scheinen diese Bedingungen auf junge Keimpflanzen schädlich zu wirken, was durch das Braunwerden der Würzelchen zum Vorschein kommt. Es wurde auch die Wirkung des auf chemischem Wege dargestellten Sauerstoffgases geprüft. Es zeigte sich nun, dass die Keimung der Lattichsamen in dem aus Braunstein entwickelten und mit Kalkwasser gewaschenen Sauerstoff verlangsamt und weniger ausgiebig, als in dem von Pflanzen producirten, war. Erst nachdem der schon einmal zu dem Versuch gebrauchte Sauerstoff zum zweiten Mal mit Kalkwasser gewaschen worden war und einige Pflanzen darin gekeimt hatten, erfolgte die Keimung neuer Samen eben so schnell, wie in dem von Pflanzen stammenden Gase.

Diese Resultate scheinen für die günstige Wirkung der höheren Sauerstofftension auf die Keimung zu sprechen. HUBER und SENEBIER haben jedoch eine ganz entgegengesetzte Schlussfolgerung gezogen, indem sie die Beobachtung von HUBER berücksichtigten, dass die Samen im Gemische aus 3 Theilen Stickgas und 1 Theil Sauerstoff besser keimten als in solchem, welches 1 Theil Stickstoff und 3 Theile Sauerstoffgas enthielt. Dementsprechend äußern HUBER und SENEBIER folgende Ansicht: »Il paraît donc que les rapports de la graine pour sa germination et le développement de la plantule sont calculés pour les proportions des gaz azote et oxygène, qui composent l'air atmosphérique et en particulier pour la quantité de carbone que les graines germantes doivent perdre.²⁾

Da die Abhandlung von HUBER und SENEBIER nichts Näheres über die Versuchsmethode enthält, ist jede Kritik und jeder Versuch, die sich widersprechenden Ergebnisse zu erklären, ganz unmöglich. Man darf nur wohl vermuthen, dass der auf chemischem Wege dargestellte Sauerstoff nicht rein war. Ich habe mich bei der Besprechung dieser Untersuchungen etwas länger aufgehalten, nur um zu zeigen, dass die Angabe, welcher man am häufigsten in der Litteratur begegnet, HUBER und SENEBIER hätten ausschließlich einen ungünstigen Einfluss der sauerstoffreicheren Medien auf die Keimung wahrgenommen, nicht vollkommen richtig ist.

1) HUBER et SENEBIER, Mémoires sur l'influence de l'air et de diverses substances gazeuses dans la germination de différentes graines. Genève. 1804. S. 48 u. f.

2) HUBER et SENEBIER, l. c. S. 38.

SAUSSURE¹⁾ behauptet, dass die Pflanzen im reinen Sauerstoff schlechter als in dem mit Wasserstoff und Stickgas gemischten gedeihen. Zu den entsprechenden Versuchen wurden Keimlinge von *Pisum sativum* gebraucht. In reinem Sauerstoff im Dunkeln erzogene Keimpflanzen wogen nur die Hälfte dessen, was die in gewöhnlicher, in Recipienten abgesperrter Luft wachsenden erreichten.²⁾ Im reinen Sauerstoffgase producirten die Erbsenkeimpflanzen viel mehr Kohlensäure, woraus SAUSSURE schließt, dass die ungünstige Wirkung des reinen Sauerstoffgases durch übermäßige Kohlenstoffentziehung erklärt werden kann. Wenn das direkte Sonnenlicht nicht ausgeschlossen wurde, zeigte sich im Gewicht der in Luft und in Sauerstoff erzogenen Pflanzen fast kein Unterschied; nur die Stengel schienen bei den letzteren kürzer und dicker zu sein. Die verkürzte Form will aber SAUSSURE nicht der Sauerstoffwirkung zuschreiben, weil dieselbe Veränderung in der äußeren Gestalt der Keimlinge im Gasmisch eintrat, welches aus künstlich dargestelltem Stickgas und Sauerstoff bestand und dieselbe Zusammensetzung wie die atmosphärische Luft hatte. Was die Keimung selbst anbelangt, so konnte SAUSSURE keinen günstigen Einfluss wahrnehmen, wenn die Samen sich in reinem Sauerstoffgas befanden; nur die Kohlensäureausscheidung war viel größer als in atmosphärischer Luft.³⁾

DÖBEREINER⁴⁾ ließ eine Portion Gerstensamen in auf die Hälfte des normalen Druckes verdünnter und eine andere in auf 2 Atmosphären comprimierter Luft keimen. In beiden Recipienten fand die Keimung ungefähr gleichzeitig statt; nach 44 Tagen aber waren die Keimpflanzen in comprimierter Luft 3—4 Zoll länger und stärker. Aus diesem Versuch darf man jedoch nur schließen, dass eine allzu starke Luftverdünnung für Gerstenkeime ungünstiger als ein mäßig erhöhter Luftdruck ist. Wo aber ungefähr das Optimum liegt, darüber können wir gar nicht unterrichtet werden.

Den Einfluss der eine Atmosphäre nicht überschreitenden Sauerstoffpressung hat BÖHM⁵⁾ untersucht. Die Keimung von *Phaseolus multiflorus*, *Zea Mays*, *Ervum Lens* und *Pisum sativum* kam in reinem Sauerstoff über die ersten Stadien der Wurzel- und Stengelbildung nicht hinaus. Bei *Lepidium sativum*, *Linum usitatissimum* und *Helianthus annuus* erreichten einzelne Individuen eine nicht unbedeutende Größe. Endlich bei den Getreidearten schien der reine Sauerstoff keine ungünstige Wirkung auszuüben. In rei-

1) SAUSSURE, Recherches chimiques sur la végétation. Paris 1804. S. 92.

2) Dieselbe Beobachtung hat GODLEWSKI für *Raphanus sativus* gemacht. S. Sep. Abd. aus PRINGHEIM'S Jahrb. 1882. Bd. XIII. H. 3. S. 31.

3) SAUSSURE, l. c. S. 41 und 42.

4) DÖBEREINER, Expériences sur la germination dans l'air condensé ou rarefié. Bibl. univ. de Genève. Bd. XXII. 1823. S. 121. — Phyto-electro-chemische Versuche. GILBERT'S Annalen. Bd. LXXII. 1822. S. 242.

5) BÖHM, Über das Keimen von Samen in reinem Sauerstoffgase. Sep. Abd. aus d. Sitzb. d. k. Akad. d. Wiss. zu Wien. 4. Abth. Bd. LXVIII. 1873. Juli-Heft.

nem bis zu 450 mm Quecksilber verdünntem Sauerstoffgase wuchsen Keimlinge von *Phaseolus*, *Pisum*, *Ervum* und *Zea* eben so gut wie in atmosphärischer Luft, dagegen entwickelten sich *Helianthus*, *Lepidium* und *Linum* nur unvollständig. Die Weidenzweige kamen in auf 3—6 Atmosphären comprimierter, atmosphärischer Luft über die ersten Anfänge der Wurzelbildung nicht hinaus. Die Hemmung in der Entwicklung schreibt BÖHM der hohen Sauerstofftension zu.

Eine ungünstige Wirkung der hohen Sauerstoffpressung hat auch BERT wahrgenommen. Nach BERT¹⁾ ist in der auf 4—5 Atmosphären comprimierten Luft kein Unterschied in der Entwicklung der Keimpflanzen zu beobachten, vielleicht sind die Keimlinge bei 2—3 Atmosphären schöner und grüner als in der Luft von gewöhnlichem Druck. Von 5 Atmosphären an beginnt die comprimierte Luft ungünstig zu wirken, was besonders die Keimung der Gerstensamen anbetrifft, während die Kressesamen unter diesen Bedingungen weniger zu leiden scheinen. Bei 8 Atmosphären Luftdruck entwickeln sich die Stengeltheile gar nicht, und nur die Wurzeln brechen hervor. Endlich bei 10 Atmosphären keimen die Kressesamen nicht, und die Entwicklung der Gerste beschränkt sich auf die Bildung kurzer Würzelchen.

Die Wirkung der comprimierten Luft ist nach BERT ausschließlich durch die verstärkte Sauerstofftension bedingt, da die keimenden Gersten- und Kressesamen sich in sauerstoffreicheren Gasmischungen von normalem Druck ganz so wie in comprimierter Luft mit gleicher partiärer Sauerstoffpressung verhalten, und zwar: bei 60 % Sauerstoff ist kein evidenter Unterschied zu beobachten, manchmal aber scheinen die Keimpflanzen besser als in atmosphärischer Luft von gewöhnlichem Druck zu gedeihen. Bei 80—90 % Sauerstoff ist die Entwicklung der Gerstensamen sehr stark verzögert und die Kresse leidet viel weniger.²⁾

In dem später erschienenen Werke BERT's über die Wirkung des Luftdruckes sind die Schlussfolgerungen etwas verschieden.³⁾ Es soll nämlich eine sehr geringe Erhöhung der Sauerstofftension für die Keimung ungünstig sein. In der auf 2 Atmosphären comprimierten Luft oder im Gasgemische mit 40 % Sauerstoff wird die Keimung augenscheinlich verzögert. Bei 5 Atmosphären Luftdruck, was dem reinen Sauerstoff von gewöhnlicher Dichte entspricht, ist die Beeinträchtigung des Keimungsprocesses sehr stark. Beim Luftdruck von 7 Atmosphären brechen nur die Würzelchen hervor, und unter einem Drucke von 10 Atmosphären findet keine Keimung

1) BERT, Recherches sur l'influence que les changements dans la pression barométrique exercent sur les phénomènes de la vie. Comptes rendus 1873. Bd. LXXVI. S. 1495.

2) Nach der oben citirten Angabe sollte bei 4—5 Atmosphären Luftdruck keine ungünstige Wirkung hervortreten.

3) BERT, La pression barométrique. Paris 1878. S. 863.

mehr statt. Die Gerstensamen, welche einige Zeit unter dem letzteren Druck verweilten, keimen nicht in der Luft von gewöhnlicher Pressung, die Kresse-samen keimen dagegen, obgleich mit einiger Verzögerung. ¹⁾ Was die ausgewachsenen Phanerogamen anbetrifft, so wuchsen die Gerstenkeimlinge mit 10—12 cm langen Blättern in einem auf 3 Atmosphären comprimierten sauerstoffüberreichen Gasmengenge gar nicht, und nachdem sie nach 9 Tagen in gewöhnliche Luft gebracht worden waren, vergelbten sie und gingen zu Grunde; kleine Pflanzen von *Mimosa pudica* waren nicht beschädigt und verloren ihre Reizbarkeit nicht in auf 3 Atmosphären comprimierter Luft, starben dagegen schon bei 6 Atmosphären. ²⁾

Wie aus der kurzen Zusammenfassung ersichtlich, deuten die meisten Versuche auf eine ungünstige Wirkung jeder Sauerstoffpressung, welche höher als die in atmosphärischer Luft herrschende ist, und BöHM hat einen äußerst schädlichen, sogar tödtenden Einfluss des reinen Sauerstoffgases beobachtet. Die schädliche Wirkung des Sauerstoffs von gewöhnlicher Dichte haben noch DEHÉRAIN und LANDRIN ³⁾ in den Untersuchungen über die Athmung wahrgenommen. Die Keimpflanzen von Kresse und Lein befanden sich, wie es DEHÉRAIN und LANDRIN angeben, nach etwa 400 Tagen in einem Zustande, welcher zeigte, dass die Wirkung des Sauerstoffs äußerst energisch war, da aus den lebendigen Keimlingen nur ein schwarzer, ulminartiger Rückstand in den Recipienten geblieben ist. Den BöHM'schen theilweise widersprechende Resultate hat RISCHAVI ⁴⁾ bekommen. Die Entwicklung der Pflanzen in reinem Sauerstoffgase ist nach RISCHAVI zwar ein wenig beeinträchtigt, bei weitem aber nicht so minimal, wie es BöHM angiebt. Hauptsächlich ist eine Hemmung im Wachstum der Wurzeln zu beobachten, welche nicht selten 3—4 Mal kürzer als bei den in atmosphärischer Luft gezogenen Keimlingen sind.

Den Einfluss der vergrößerten, partiären Sauerstoffpressung hat neuerlich WIELER ⁵⁾ untersucht. Die entsprechenden Versuche wurden mit *Helianthus annuus* und *Vicia faba* ausgeführt. Aus den Resultaten zog WIELER

1) Ich habe die sich theilweise widersprechenden Angaben citirt, weil aus den veröffentlichten Versuchen sich nicht entscheiden lässt, welche richtiger sind. So z. B. war im Versuch CCCLXII die Keimung in der auf $1\frac{3}{4}$ Atmosphären comprimierten Luft verzögert und die Keimlinge erreichten eine geringere Länge, während im Versuch CCCLXVII die auf $2\frac{1}{2}$ —3 Atmosphären comprimirte Luft keinen bedeutenden Einfluss hatte. Im Versuch CCCLXXVII waren die in einer Gasmischung mit 65 % Sauerstoff bei normalem Druck erzeugten Keimlinge länger als die aus der gewöhnlichen Luft u. s. w.

2) BERT, La pression barométrique. S. 865.

3) DEHÉRAIN et LANDRIN, Recherches sur la germination. Ann. d. sc. nat. Sér 5. 1874. Bd. XIX. S. 383.

4) RISCHAVI, КЪ вопросу о дыханіи растеній. (Russ.) Sep. Abd. a. d. V. Bd. d. Abl. d. Neuruss. Naturforscher-Gesellschaft. Odessa 1877. S. 29.

5) WIELER, Die Beeinflussung des Wachsens durch verminderte Partiärpressung des Sauerstoffs. Unters. a. d. bot. Institut zu Tübingen. Bd. I. 1883. H. 2. S. 189.

den Schluss, dass bei einer Sauerstoffpartiärpressung, die einer Luftcompression von 2—2½ Atmosphären entspricht, eine Verlangsamung des Wachstums stattfindet, in reinem Sauerstoffgase aber von gewöhnlicher Dichte oder in der auf 5 Atmosphären comprimierten Luft die Keimlinge besser als in atmosphärischer Luft von gewöhnlichem Druck wachsen. Da WIELER fand, dass sowohl *Helianthus annuus* als auch *Vicia faba* besser bei einer Sauerstoffpressung wachsen, welche viel schwächer als die in atmosphärischer Luft herrschende ist, äußert er sich, dass es sowohl bei der entsprechend verminderten als auch bei der genügend vergrößerten partiären Sauerstoffpressung ein Maximum im Wachstum geben kann.

Die Übersicht der Ansichten verschiedener Forscher über die Wirkung der vergrößerten Partiärpressung des Sauerstoffs führt unfehlbar zu der Überzeugung, dass diese Frage gar nicht für erledigt betrachtet werden kann. Deshalb schien es mir nicht überflüssig neue Untersuchungen anzustellen.

Die entsprechenden Versuche waren im Sommer 1886 in dem pflanzenphysiologischen Institut zu Tübingen ausgeführt. Es sei mir erlaubt, an dieser Stelle dem Herrn Professor Dr. PFEFFER sowohl für die Erlaubnis, die Mittel des reich ausgestatteten Tübinger Laboratoriums zu benutzen, als auch für werthvolle Rathschläge meinen innigsten Dank auszusprechen.

II. Versuchsmethode.

1. Apparate. In den Versuchen über den Einfluss comprimierten Sauerstoffgases oder comprimierter Luft auf das Wachstum der Stengeltheile habe ich den Apparat gebraucht, dessen schon JOHANNSEN sich in den Untersuchungen über die Wirkung hoher Sauerstoffpressungen auf die Athmung bedient hat (s. die Abbildung und die Beschreibung in Tüb. Unters. 1881—1885. Bd. I. S. 687). Selbstverständlich wurde die ganze Vorrichtung zur Bestimmung der Kohlensäure weggelassen und zweckentsprechende Modifikationen in der Zusammenstellung eingeführt. Die Gascompression geschah durch Hineinleiten des Leitungswasser in den Windkessel. Da der Druck in der Tübinger Wasserleitung über 7,5 Atmosphären nicht hinauskommt, konnte in diesem Apparat eine höhere Compression nicht erreicht werden. In den Versuchen mit comprimiertem Sauerstoffgas wurde der Recipient und der Windkessel zuerst in der Regel zweimal evacuirt und nach jedem Auspenden mit reinem Sauerstoff gefüllt.

Zu den Versuchen mit Wurzeln und Pilzen, in welchen der Zuwachs mit horizontalem Mikroskop gemessen werden sollte, habe ich einen ähnlichen Apparat, von zweckmäßig modificirter Construction gebraucht¹⁾. Der cylindrische Recipient dieses Apparates hat einen viel kleineren Durch-

1) Dieser Apparat diente gleichfalls zu den Versuchen JOHANNSEN'S.

messer, etwa 22 mm, ist aber ungefähr zweimal höher. Das Abschließen des inneren Raumes geschieht mittelst einer starken Mutterschraube, mit welcher die ringförmige Fassung des Cylinders an den gefetteten Kautschukring fest angepresst werden kann. Der Behälter communicirt durch zwei Kanäle und Bleiröhren mit dem Manometer und der Compressionspumpe. Bei der letzteren befand sich ein Doppelweghahn mit Schlauchaufsatz, welcher die Verbindung des Recipienten mit der Evacuationsluftpumpe gestattete.

Die Befestigung der Wurzel in dem Behälter geschah auf folgende Weise. Die Cotyledonen der Keimpflanze wurden mit einer Stecknadel durchstoßen, die Stecknadelspitze auf dem mit einer Spirale aus Zinkblech fest zusammengebundenen Stab befestigt, und die ganze Vorrichtung zweckmäßig hoch in den Cylinder eingeschoben. Das Substrat mit Pilzen wurde in den ersten Versuchen gleichfalls mit der Blechspirale im Behälter festgehalten. Später diente zu diesem Zwecke eine besondere Vorrichtung, welche aus einer runden Messingplatte mit 3 nach unten zugekehrten Stäbchen und 3 verticalen, mit einem Ende auf der Platte genietet und mit dem anderen sich auf den Stäbchen stemmenden Messingfedern bestand. Dass sowohl die Spirale, als auch die oben beschriebene Vorrichtung festhielt, davon habe ich mich überzeugt, indem ich anstatt des Versuchsobjectes eine Stecknadel befestigte: weder bei der Compression, noch beim Auspumpen, noch beim heftigen Klopfen auf die Wände des Cylinders war auch nicht die geringste verticale Verschiebung der Nadelspitze im Gesichtsfelde des horizontalen Mikroskops merklich.

In dem Recipienten befand sich ein kleiner in ganze Grade getheiltes Thermometer, ein zweites hing außerhalb des Apparates. Die Temperatur wurde bei jeder Ablesung notirt. Der Cylinder der Compressionspumpe stand in einem Blechkasten, in welchen während der Compression kaltes Wasser strömte. Trotzdem war eine geringe Erhöhung der Temperatur im Behälter unvermeidlich. Durch Benetzen der Wände mit Wasser konnte jedoch der frühere Temperaturstand in kurzer Zeit erreicht werden.

Im dem zuletzt beschriebenen Apparat wurden auch Versuche mit Sprosstheilen ausgeführt, bei welchen die Compression 7,5 Atmosphären überschreiten sollte. Die Keimpflanzen befanden sich dann in kleinen mit Wasser gefüllten Probirgläschen, welche auf einem langen Draht unter einander befestigt und mit dem letzteren in den Recipienten hineingeschoben wurden.

Zu den Versuchen mit partiärer Sauerstoffpressung unter 4 Atmosphäre wurden andere Apparate zusammengestellt. Als Behälter für Keimpflanzen dienten tubulirte Glocken¹⁾ mit fein geschliffenem Rande, unten mit

1) Dieselbe Glocken in etwas verschiedener Zusammenstellung hat WIELER zu seinen Versuchen gebraucht. S. Tüb. Unters. Bd. I. S. 195.

geschliffener Glasplatte, oben mit zweifach durchbohrtem Korkstopfen geschlossen. In der einen Öffnung der Pfropfe steckte die mit zwei Glashähnen versehene T-förmige Glasröhre, in der anderen der kürzere Schenkel des zweimal rechtwinklig gebogenen Rohrs, dessen längerer, mit Papierscala versehener Schenkel in Quecksilber tauchte und ein Gefäßmonometer bildete. Das eine Ende der T-Röhre wurde mittelst Kautschukschlauchs und Bleirohrs mit der Wasserluftpumpe, das andere mit dem Gasbehälter in Verbindung gesetzt. Bei dieser Einrichtung ist es sehr leicht, die Glocke mit Gasen von beliebiger Zusammensetzung aufzufüllen. Wenn z. B. die betreffende Glocke reinen Sauerstoff enthalten sollte, ward sie zuerst luftleer ausgepumpt, und alsdann Sauerstoff aus dem Gasbehälter eingelassen. Wenn es darauf ankam, die Glocke mit einem sauerstoffreichen Gasmische aufzufüllen, wurde nach der Evacuation zuerst Luft, bis zum durch Berechnung angezeigten Manometerstand, und alsdann Sauerstoff eingeführt. Die vollständige Evacuation geschah in dem letzten Falle, damit alle zu demselben Versuch gebrauchten Pflanzengruppen denselben Versuchsbedingungen unterworfen waren. Das Auspumpen scheint zwar keinen dauernden Einfluss auf das Wachsthum der Pflanzen zu haben, wohl aber einen vorübergehenden, wie ich mich bei Versuchen mit Wurzeln und Pilzen überzeugen konnte. Außerdem wird beim Auspumpen das Sägemehl, worin die Keimlinge eingesetzt sind, theilweise des Wassers beraubt und mehr oder weniger aufgelockert, wodurch vortheilhafte, resp. nachtheilige Bedingungen für das Gedeihen der Keimlinge geschaffen werden können. Aus diesen Gründen schien es mir zweckmäßig, sowohl alle Versuchsobjekte als auch Vergleichsobjekte dem Auspumpen zu unterwerfen, obgleich dasselbe nicht bei allen nothwendig war. Um die Diffusion zu beschränken, wurden die Platten mit den Glocken in geräumige, mit Wasser gefüllte Thonschalen gestellt, und über die Stopfen im Tubus eine Schicht Klebwachs gegossen. Der Rand der Glocke wurde mit einer Mischung von Schweinefett und Wachs bestrichen.

Bei den Versuchen mit Wurzeln und Pilzen in reinem Sauerstoffgase oder in sauerstoffreicheren Gasmischen wurde ein ähnlicher Apparat, nur von kleineren Dimensionen, gebraucht. Um das Abtrocknen der Pilzfruchtträger beim Auspumpen möglichst zu beschränken, wurde für genügende Feuchtigkeit Sorge getragen. Das Substrat mit Pilzcultur stand in einem mit Wasser gefüllten Glasschälchen auf dem Becherglas, das mit feuchtem Fließpapier umwickelt und in eine mit Wasser gefüllte Krystallisirschale hineingestellt wurde. Die Wurzeln waren auf folgende Weise in zweckmäßiger Stellung gehalten. Die Spitze der durch die Cotyledonen durchgeführten Stecknadel wurde mit einem Ende des rechtwinklig gebogenen, starken Messingdrahts zusammengebunden, dessen anderer Schenkel in einem schweren Fundament steckte. Die Luft in der Glocke war durch nasse Fließpapierstreifen feucht gehalten. Um die das Messen störenden

heliotropischen Krümmungen zu verhindern, wurde die Glocke mit vielfach zusammengelegtem, schwarzem Tuch umwickelt, welches nur bei der Ablesung auf kurze Zeit beseitigt wurde.

2. Versuchsmaterial. Die Beeinflussung des Wachstums durch vergrößerte, partiäre Sauerstoffpressung wurde an Stengeltheilen, Wurzeln und Pilzen untersucht. In den Versuchen mit verhältnismäßig langsam wachsenden Stengeltheilen wurde mit Vergleichsobjekten gearbeitet. Es wäre zwar in mancher Hinsicht vortheilhafter, dieselben Objecte wechselweise unter den normalen und den zu prüfenden Verhältnissen wachsen zu lassen; da es aber unmöglich ist den Einfluss individueller Wachstumschwankungen, welche bei längeren Expositionszeiten sehr bedeutend sein können, auszuschließen, habe ich von dieser Methode Abstand genommen.

Die Samen wurden meistens vor der Aussaat eingequellt und in Sägespäne in größerer Menge ausgesät. Von den in großen Töpfen gezogenen Keimlingen wurden zu den Versuchen nur solche gebraucht, an welchen keine Beschädigung merklich war. Wenn mehrere parallele Versuche gleichzeitig ausgeführt werden sollten, war es natürlich fast unmöglich zu erreichen, dass innerhalb jeder Keimpflanzenpartie nur gleiche Keimlinge sich befanden. Um vergleichbare Gruppen mit durchschnittlich möglichst gleichen individuellen Eigenschaften zu erreichen, wurde folgendermaßen verfahren. Wenn z. B. drei Gruppen nöthig waren, wurden je drei gleich lange, dicke und entwickelte Keimlinge ausgesucht und von diesen je einer zu jeder von den drei Gruppen bestimmt. In den auf diese Weise zusammengestellten Gruppen befanden sich Pflanzen, welche mehr oder weniger differirten, die Gruppen aber waren im Ganzen einander ähnlich, weil einzelne Glieder verschiedener Gruppen sich wenig unter einander unterschieden. Nach der Zusammenstellung der Gruppen wurden die Pflänzchen markirt, numerirt und in kleine Bechergläser in Sägespäne eingesetzt. Beim Einsetzen wurden die Wurzeln in das leere Becherglas herabgelassen, mit Sägemehl rasch beschüttet und sofort mit Wasser aufgegossen. Die Keimpflanzen mit stark entwickeltem Wurzelsystem, wie Saubohnen und Erbsen, wurden nur in Wasser gesetzt.

Die Wurzeln wurden auch aus vorher eingeweichten Samen im Sägemehl erzogen und sorgfältig aus großer Anzahl gewählt. Von Pilzen wurde *Phycomyces nitens* gebraucht.

Da bei allen Versuchen entweder die Compression oder das Auspumpen vorgenommen werden sollte, durfte der Pilz auf einem Form und Volumen verändernden Substrat nicht cultivirt werden. Mit Rücksicht darauf musste das gewöhnlich zu diesem Zweck benutzte Brod ausgeschlossen werden. In Vorversuchen habe ich gefunden, dass *Phycomyces nitens* auf den mit Pflaumendekokt getränkten Plättchen aus ungebranntem Thon (abgesägte Boden von kleinen Thonzellen) oder auf Würfeln von Bimsstein gut gedeiht, und dieser letzteren habe ich mich zu Culturen bedient. Da das Pflaumen-

dekokt sehr stark sauer reagirte, habe ich zweckmäßig gefunden, die freien Säuren mit Alkali abzustumpfen.

3. Markiren und Messen. In den Versuchen mit Stengeltheilen wurden die Zuwachse direkt mit einem in Halbmillimeter getheilten Maßstab, meistens auf 10 mm langen Strecken gemessen. Bei Rettig, Sonnenrose, Raps, Buchweizen und weißem Senf wurde das Wachsthum der Hypocotylen untersucht, bei Saubohnen und Erbsen das der jungen Internodien. Zum Markiren wurde verdünnter Maskenlack gebraucht. Die Tusche hat sich zu diesem Zweck weniger geeignet erwiesen, da sie auf den mit Wachsüberzug versehenen Pflanzenorganen schlecht haftet. Beim Markiren wurde viel darauf geachtet, dass die markirte Strecke bei allen Versuchspflanzen möglichst gleiche Stellung hatte. Als feste Punkte dienten: bei Sonnenrose die Insertionsstelle der Cotyledonen, bei Rettig und Buchweizen die Krümmung der Sprossspitze, bei Saubohne und Erbse der Ansatzpunkt der Nebenblätter, — unter welchen die obere Marke unmittelbar aufgetragen wurde.

Das Wachsthum der Wurzeln und Pilzfruchtträger wurde mittelst horizontaler Mikroskope¹⁾ gemessen, von welchen bei einem ein Scalenthail den Werth von 0,03 mm und bei dem anderen von 0,022 mm hatte.

4. Darstellung der Gase. Es wurde sehr streng darauf geachtet, nur reine d. h. von schädlichen Beimengungen freie Gase zu gebrauchen. Der Sauerstoff wurde aus einer Mischung von chloresurem Kali mit Mangan-superoxyd entwickelt und vom Chlorgehalt in Waschflasche mit Natron- oder Kalilösung und in zwei Cylindern, welche mit Kalilauge getränkte Bimssteinstücke enthielten, vollkommen befreit. Die Reinheit des im Gasbehälter aufgesammelten Sauerstoffgases wurde jedesmal mit Jodkaliumstärkekleisterpapier geprüft. Der Wasserstoff wurde in einem nach DÖBEREINER'schem Prinzip construirten Apparat aus Zinkblech und verdünnter Schwefelsäure dargestellt und durch Kalilauge, Kaliumpermanganat- und Sublimatlösung durchgeleitet. Dass das Gas arsenfrei war, davon habe ich mich durch die einigemal ausgeführte MARSH'sche Probe überzeugt. Das Stickgas wurde nach der Methode BÖTTGER's²⁾ aus einer Mischung von 4 Theil salpetersaurem Kali, 4 Theil Chlorammonium, 4 Theil saurem chromsaurem Kali und 3 Theilen Wasser entwickelt und mit Kalilauge und Wasser gewaschen.

5. Fehlerquellen. In den Versuchen mit Stengeltheilen rührt der größte Fehler von der Individualität der Objekte her. Dieser Fehler konnte jedoch durch sorgfältige Auswahl der Versuchsobjekte bis zu gewissen Grenzen beseitigt werden. Ich erwähne nur hier, dass ich in Vorversuchen Keimpflanzengruppen zusammenzustellen vermochte, bei welchen die mitt-

1) Das Mikroskop ist abgebildet in PFEFFER, Physiologie. Bd. II. S. 85.

2) BÖTTGER, Jahresbericht des phys. Vereins zu Frankfurt a. M. 1876/77. S. 24.

leren Zuwachse kaum um 0,1 mm differirten. Bei grober Messung mit Maßstab entsteht auch ein Fehler, welcher jedoch über 0,2 mm nicht hinauskommt und in den Mittelzahlen verschwindet, besonders bei großen Zuwachsen und Zuwachsdifferenzen. Mit Rücksicht jedoch auf diese Fehlerquellen habe ich mich enthalten, wenn kleine Unterschiede vorlagen, entscheidende Schlüsse zu ziehen.

In den Versuchen mit Wurzeln und Pilzfruchtträgern konnte das Wachstum vermittelt horizontaler Mikroskope mit genügender Genauigkeit gemessen werden. Nur Krümmungen konnten störend wirken. Es war aber leicht zu erkennen, wenn sie vorkamen, und ebenso entsprechende Ablesungen, resp. Versuche aus der Berücksichtigung auszuschließen.

Da die Gase in geräumigen Gasbehältern aufbewahrt wurden, kamen sie niemals vollkommen rein in Anwendung. Da das Wasser, mit welchem die Gase in Berührung standen, gelöste Luft enthielt, war der Sauerstoff mit Stickstoff, das Stickgas mit Sauerstoff und der Wasserstoff mit Sauerstoff und Stickstoff verunreinigt. (Der Kohlensäuregehalt kommt nicht in Betracht, weil die Gase beim Einlassen in den Apparat Kalilauge und nachher Wasser passirten.) Bei Sauerstoffcompressionen konnte die Verunreinigung mit fremdem, indifferentem Gas ganz vernachlässigt werden, da bei starkem Sauerstoffdruck einige Millimeter mehr oder weniger sehr wenig ausmachen. Wenn jedoch das Gas etwas länger im Gasbehälter verweilte, wurde seine Reinheit geprüft und, wenn der Gehalt an fremdem Gas etwas ansehnlicher war, derselbe bei der Berechnung des partiären Sauerstoffdruckes berücksichtigt. Der Wasserstoff und das Stickgas wurden frisch dargestellt gebraucht, und demzufolge konnte bei den mit diesen Gasen ausgeführten Compressionsversuchen nur eine zu vernachlässigende Erhöhung der Sauerstofftension stattfinden.

III. Experimentelle Belege.

In den Tabellen zu den Versuchen mit Stengeltheilen ist der Gesamtwuchs aller der betreffenden Gruppe zugehörigen Keimlinge und der mittlere Zuwachs angegeben, außerdem der relative Zuwachs, gewöhnlich auf das Wachstum unter geprüften Verhältnissen = 1 bezogen. In den Tabellen zu Wurzeln und Pilzen ist der Zuwachs in Scalentheilen und in Millimetern ausgedrückt; ein * bedeutet, dass die Zahlen aus einer Ablesung durch Interpolation berechnet worden sind. Die Sauerstoffpression ist in Millimetern Quecksilber und in Atmosphären ausgedrückt. Bei der Berechnung des Druckes in Atmosphären wurde als Einheit der herrschende barometrische Druck angenommen. Außerdem enthalten die Tabellen Zahlen, welche zeigen, wie viel höher die Sauerstoffpression bei den Versuchsobjekten als bei den Vergleichsobjekten war, und zugleich, — auf wie viel Atmosphären man die Luft zusammenpressen muss, um eben so starke Sauerstoffpartiärpression zu erzielen. Die Versuchsdauer — in Stunden.

A. Stengeltheile.

I. Stärkere Sauerstoffpressung.

1. *Helianthus annuus.*

Keimpflanzen ungefähr 12 Tage alt. In den ersten 22 $\frac{1}{2}$ Stunden fünf Pflanzen (A) in comprimiertem Sauerstoff und fünf (B) in der Luft von gewöhnlichem Druck; nachher beide Pflanzengruppen in atmosphärischer Luft. Temperatur 21—23° C.

Zeichen.	Versuchsdauer.	Partiäre Sauerstoffpressung			Gesamttzuwachs.	Mittlerer Zuwachs.	Zuwachs in compr. Sauerstoff = 1 gesetzt.
		in Atmo-sphären.	in Milli-metern.	in Luft = 1 gesetzt.			
A	22 $\frac{1}{2}$	3,23	2380	15,4	5,7	1,44	1,00
B	»	0,21	154,6	1,0	21,0	4,20	3,68
A	23 $\frac{1}{2}$	0,21	154,6	1,0	15,6	3,12	1,00
B	»	»	»	»	20,2	4,04	1,29
A	22	0,21	154,6	1,0	19,2	3,84	1,00
B	»	»	»	»	20,4	4,08	1,06

2. *Helianthus annuus.*

Zehntägige Keimlinge. Sauerstoff 3,2 und 6,8 Atm. mit Luft verglichen. Drei Gruppen zusammengestellt; in jeder 6 Keimpflanzen. Zwei Gruppen wechselweise in comprimiertem Sauerstoffgase und in atmosphärischer Luft: die dritte ununterbrochen in der Luft. Temperatur 19—21,4° C.

Zeichen.	Versuchsdauer.	Partiäre Sauerstoffpressung			Gesamttzuwachs.	Mittlerer Zuwachs	Zuwachs in compr. Sauerstoff = 1 gesetzt.
		in Atmo-sphären.	in Milli-metern.	in Luft = 1 gesetzt.			
A	22	3,26	2407	15,5	34,0	5,67	1,00
B	»	0,21	154,8	1,0	65,7	10,95	1,93
C	»	0,21	154,8	1,0	61,0	10,17	1,79
A	18	0,21	154,8	1,0	59,9	9,98	1,72
B	»	3,25	2400	15,5	34,9	5,82	1,00
C	»	0,21	155	1,0	97,7	16,28	2,80
A	25	6,76	4996	32,2	4,1	0,68	1,00
B	»	0,21	155	1,0	53,1	8,85	12,95
C	»	0,21	155	1,0	97,9	16,32	23,88

Die Keimpflanzen von der Gruppe A sind zu Grunde gegangen; am folgenden Tage war nur eine einzige turgescent, doch in offenbar krankhaftem Zustande.

3. *Helianthus annuus.*

Keimpflanzen ungefähr 10 Tage alt. Sieben in comprimiertem Sauerstoff mit 5,5 % Stickgas und eben so viel in der Luft von gewöhnlichem Druck. Temperatur 23,5—24,0° C.

Zeichen.	Versuchsdauer.	Partiäre Sauerstoffpressung			Gesamttzuwachs.	Mittlerer Zuwachs.	Zuwachs in compr. Sauerstoff = 1 gesetzt.
		in Atmosphären.	in Millimetern.	in Luft = 1 gesetzt.			
A	20	5,39	3970	25,7	7,8	1,26	1,00
B	»	0,21	155	1,0	53,5	7,64	6,86
A	20	0,21	155	1,0	13,7	1,96	1,27
B	»	5,92	4364	28,2	10,8	1,54	1,00
A	23	0,21	154	1,0	26,2	3,74	4,37
B	»	0,21	154	1,0	6,0	0,86	1,00

Von den Keimlingen A haben sich nur drei vollkommen wieder erholt; andere wuchsen zwar noch ein wenig in den nächsten Tagen, nach einiger Zeit aber verwelkten und vertrockneten sie. Von den Pflanzen B zeigten noch einige am folgenden Tage einen minimalen Zuwachs; bald aber waren alle zu Grunde gegangen.

4. *Helianthus annuus.*

Keimlinge 5 Tage alt. Sauerstoff 7 Atm. und Sauerstoff von gewöhnlicher Dichte mit Luft verglichen. In jeder Gruppe 6 Pflanzen. Temperatur 19,8—21,0° C.

Zeichen.	Versuchsdauer.	Partiäre Sauerstoffpressung			Gesamttzuwachs.	Mittlerer Zuwachs.	Zuwachs in compr. Sauerstoff = 1 gesetzt.
		in Atmosphären.	in Millimetern.	in Luft = 1 gesetzt.			
A	2	6,93	5101	33,0	3,3	0,55	1,00
B	2	0,21	155	1,0	3,4	0,57	1,03
A	24	0,21	154	1,0	50,9	8,48	1,00
B	24	0,21	154	1,0	55,2	9,20	1,08
A	24	1,00	153	1,0	82,5	13,75	1,08
B	24	1,00 ¹⁾	730	4,8	76,3	12,72	1,00

1) Zuerst auf 6,5 Atmosphären comprimiert; das Manometer war aber undicht eingekittet und der Druck in 5 Minuten bis auf 1 Atmosphäre gesunken.

5. *Helianthus annuus.*

Keimpflanzen 6 Tage alt; in jeder Gruppe sechs Keimlinge. Sauerstoff 7,7 Atm. mit Luft verglichen. Temperatur 23,4—24,8° C.

Zeichen.	Versuchsdauer.	Partiäre Sauerstoffpressung			Gesamttzuwachs.	Mittlerer Zuwachs.	Zuwachs in compr. Sauerstoff = 1 gesetzt.
		in Atmosphären.	in Millimetern.	in Luft = 1 gesetzt.			
A	6	7,7	5549	36,7	7,2	4,20	4,00
B	6	0,24	450	4,0	44,4	4,85	4,54
A	43 $\frac{1}{2}$	0,24	449	4,0	6,2	4,03	4,00
B	43 $\frac{1}{2}$	0,24	449	4,0	6,5	4,08	4,05

In den nächsten 24 Stunden wuchsen die Pflanzen B etwas besser als A; später war keine Differenz mehr zu finden.

6. *Vicia faba.*

Keimlinge 9 Tage alt. Zuwachs auf den dritten Internodien gemessen. Auf jedem Internodium, unmittelbar unter einander zwei 40 mm lange Strecken markirt. 4 Pflanzen in comprimiertem Sauerstoff und 4 in der Luft. Temperatur ungefähr 25° C.

Zeichen.	Versuchsdauer.	Partiäre Sauerstoffpressung			Gesamttzuwachs.	Mittlerer Zuwachs.	Zuwachs in compr. Sauerstoff = 1 gesetzt.
		in Atmosphären.	in Millimetern.	in Luft = 1 gesetzt.			
A	23 $\frac{1}{2}$	3,89	2874	48,5	22,2	3,47	4,00
B	„	0,24	456	4,0	73,2	40,47	3,30

	A	B
Mittelzuwachs am oberen Theil des Internodiums:	3,55	44,43
Zuwachs in comprimiertem Sauerstoff 1 gesetzt	4,00	3,22
Mittelzuwachs am unteren Theil des Internodiums:	2,67	9,47
Zuwachs in comprimiertem Sauerstoff 1 gesetzt	4,00	3,43

Die nächstjüngsten Internodien hatten:

	abs. Länge	Mittellänge	relat. Länge
bei A . . .	8,0 und 42,5	40,25	4,00
bei B . . .	43,0 und 29,0	24,00	2,05

Die Keimpflanzen A entwickelten sich in der Luft weiter nicht, sie verwelkten und vertrockneten.

7. *Vicia faba*.

Keimpflanzen 8 Tage alt. Vier Keimlinge in comprimirtem Sauerstoff und vier in der Luft von gewöhnlichem Druck. Zuwachs auf den zweiten Internodien gemessen. Temperatur 22,0—24,2° C.

Zeichen.	Versuchsdauer.	Partiäre Sauerstoffpressung			Gesamttzuwachs.	Mittlerer Zuwachs.	Zuwachs in compr. Sauerstoff = 1 gesetzt.
		in Atmo-sphären.	in Milli-metern.	in d. Luft = 1 gesetzt.			
A	44	7,27	5356	34,6	9,4	2,35	4,00
B	»	0,21	155	4,0	28,8	7,20	3,06

Bei den Keimlingen A haben sich die nächstjüngsten Internodien gar nicht entwickelt, und die jungen Blätter sind unentfaltet geblieben. In den folgenden 4 Tagen war nur bei einer einzigen Pflanze ein größerer Zuwachs der älteren Theile und die Entwicklung des nächstjüngsten Internodiums merklich; drei andere Pflanzen zeigten minimale Zuwachse an den markirten Internodien. Die Wurzeln waren bei allen Keimpflanzen beschädigt. Nach einer Woche war bei keiner Pflanze ein Fortschritt in der Entwicklung merkbar. Die Stengel waren zwar noch turgescent, die Blätter aber meistens vertrocknet.

8. *Vicia faba*.

Zehntägige Keimlinge. Zuwachse auf den zweiten und dritten Internodien gemessen. Je 4 Pflanzen in comprimirtem Sauerstoff und in atmosphärischer Luft. Temperatur 25,0° C.

Zeichen.	Versuchsdauer.	Partiäre Sauerstoffpressung			Gesamttzuwachs.	Mittlerer Zuwachs.	Zuwachs in compr. Sauerstoff = 1 gesetzt.
		in Atmo-sphären.	in Milli-metern.	in d. Luft = 1 gesetzt.			
A	21	7,39	5434	35,2	12,9	4,61	4,00
B	21	0,24	154	4,0	86,5	40,84	6,71

Die Pflanzen A hatten geschwärtzte und gewelkte Blätter schon beim Herausnehmen aus dem Apparat. Die deutlich dünneren und weniger straffen (als bei Keimlingen B) Stengel waren am nächsten Tage welk.

9. *Pisum sativum*.

Keimpflanzen 6 Tage alt. Zuwachs auf den dritten Internodien gemessen. Je drei Keimlinge in comprimirtem Sauerstoff und in der Luft von gewöhnlichem Druck. Temperatur 22,5—23,8° C.

Zeichen.	Versuchsdauer.	Partiäre Sauerstoffpressung			Gesamttzuwachs.	Mittlerer Zuwachs.	Zuwachs in compr. Sauerstoff = 1 gesetzt.
		in Atmo-sphären.	in Milli-metern.	in d. Luft = 1 gesetzt.			
A	14	4,43	3243	21,4	5,3	4,77	1,00
B	»	0,21	154	4,0	13,0	4,33	2,45

Am Ende des Versuches zeigten die Pflanzen A keine Spur von Beschädigung. In den nächsten Tagen wuchsen bei den Keimlingen A in atmosphärischer Luft alle Internodien schwächer als bei B. Nach 2 Tagen waren die vierten Internodien

bei Keimpflanzen A . . . 20,5 45,6 44,5 mm
 » » B . . . 32,0 38,5 36,0 mm

lang. Nach den folgenden 2 Tagen:

bei Keimpflanzen A . . . 34,0 25,6 26,0 mm
 » » B . . . 47,0 45,5 50,0 mm.

Nach 10 Tagen war bei zwei Keimlingen von der Gruppe A kein Unterschied in Vergleich mit Pflanzen B zu beobachten; die dritte ist in der Entwicklung zurückgeblieben.

10. *Pisum sativum*.

Keimlinge 7 Tage alt. Zuwachs auf den vierten Internodien gemessen. 5 Pflanzen in comprimiertem Sauerstoffe und ebensoviel in atmosphärischer Luft. Temperatur 23,4—24,0° C.

Zeichen.	Versuchsdauer.	Partiäre Sauerstoffpressung			Gesamttzuwachs.	Mittlerer Zuwachs.	Zuwachs in compr. Sauerstoff = 1 gesetzt.
		in Atmo-sphären.	in Milli-metern.	in d. Luft = 1 gesetzt.			
A	15	7,02	5140	33,4	2,1	0,42	1,00
B	»	0,21	154	4,0	43,4	8,62	20,52

Bei den Pflanzen A haben sich die nächstjüngsten Internodien gar nicht entwickelt. Unmittelbar nach der Aufhebung der Compression waren die Keimlinge grün und straff; nur ein fauler Geruch verrieth den krankhaften Zustand. Nach 3½ Stunden fingen die Blätter an zu welken, und nach 6½ Stunden waren alle welk. Am nächsten Tage hingen die gewelkten jüngeren Internodien herab. Die Keimpflanzen haben sich in der Luft nicht wieder erholt.

11. *Sinapis alba.*

Fünftägige Keimpflanzen. Je acht in comprimiertem Sauerstoff und in atmosphärischer Luft. Temperatur 20,0—21,5° C.

Zeichen.	Versuchsdauer.	Partiäre Sauerstoffpressung			Gesamttzuwachs.	Mittlerer Zuwachs.	Zuwachs in compr. Sauerstoff = 1 gesetzt.
		in Atmosphären.	in Millimetern.	in d. Luft = 1 gesetzt.			
A	25	4,17	3049	19,9	4,1	0,51	1,00
B	„	0,21	153	1,0	58,4	7,30	14,24

Bei Aufhebung der Compression waren die Keimlinge A grün, aber schwach turgescens. Im Vergleich mit B hatten A schwächer entwickelte Cotyledonen und dünnere Sprosse. Nach 2 Stunden waren 2 Pflanzen welk, die dritte halbwelk. Am folgenden Tage waren zwei Keimlinge vertrocknet, alle anderen haben sich gelagert. Nachdem die Bechergläser mit den Pflanzen unter eine Glocke in feuchte Luft gebracht worden waren, hatten sich die Sprossspitzen nach einiger Zeit erhoben und zu wachsen begonnen. Nach einer Woche waren die unteren Stengeltheile noch nicht aufgerichtet, während die oberen senkrecht wuchsen. Das Wachstum war aber schwach.

12. *Sinapis alba.*

Keimlinge 9 Tage alt. Sauerstoff 5,5 Atm. mit Luft verglichen. In jeder von den drei Gruppen 6 Keimpflanzen. Temperatur 20,5—22,6° C.

Zeichen.	Versuchsdauer.	Partiäre Sauerstoffpressung			Gesamttzuwachs.	Mittlerer Zuwachs.	Zuwachs in compr. Sauerstoff = 1 gesetzt.
		in Atmosphären.	in Millimetern.	in Luft = 1 gesetzt.			
A	48	5,46	4035	26,0	0,2	—	—
B	„	0,21	155	1,0	13,6	2,27	—
C	„	0,21	155	1,0	14,6	2,43	—
B	17	5,63	4139	26,8	1,4	0,23	1,00
C	„	0,21	154	1,0	6,0	1,00	4,28

Die Keimpflanzen A sahen bei der Aufhebung der Compression ganz frisch aus. Kaum war aber die Messung zu Ende gebracht worden, als die Keimlinge plötzlich den Turgor verloren und zu Grunde gingen. Die Keimlinge B entwickelten sich in Luft nicht weiter.

II. Schwächere Sauerstoffpressung.

13. *Helianthus annuus.*

Keimpflanzen etwa 6 Tage alt. Auf 4,9 Atmosphären comprimirt Luft mit Luft von gewöhnlichem Druck verglichen. Temperatur 18,4—20,1° C.

Zeichen.	Versuchsdauer.	Gesamtdruck.	Partiäre Sauerstoffpressung			Gesamttzuwachs.	Mittlerer Zuwachs.	Zuwachs in compr. Luft = 1 gesetzt.
			in Atmosphären.	in Millimetern.	in Luft = 1 gesetzt.			
A	40	4,0	0,21	155	4,0	47,5	9,50	—
B	»	4,0	0,21	155	4,0	47,6	9,52	—
A	48	4,9	4,03	759	4,9	41,4	6,90	4,00
B	»	4,0	0,21	155	4,0	62,3	10,42	1,51

14. *Helianthus annuus.*

Keimlinge ungefähr 13 Tage alt. Je fünf in auf 4,7 Atmosphären comprimirt Luft, in reinem Sauerstoffgase von gewöhnlicher Dichte und in atmosphärischer Luft von gewöhnlichem Druck. Temperatur 20,7—22,3° C.

Zeichen.	Versuchsdauer.	Gesamtdruck.	Partiäre Sauerstoffpressung			Gesamttzuwachs.	Mittlerer Zuwachs.	Zuwachs in compr. Luft = 1 gesetzt.
			in Atmosphären.	in Millimetern.	in d. Luft = 1 gesetzt.			
A	22 $\frac{1}{2}$	4,74	0,99	729,4	4,7	23,6	4,72	1,00
B	»	4,00	0,99	734	4,7	32,7	6,54	4,39
C	»	4,00	0,21	156	4,0	37,3	7,46	4,58

15. *Helianthus annuus.*

Keimpflanzen 5 Tage alt. Sauerstoff von gewöhnlicher Dichte mit atmosphärischer Luft verglichen. In jeder Gruppe 6 Keimlinge. Temperatur 19,9—25,2° C.

Zeichen.	Versuchsdauer.		Gesamttzuwachs.	Mittlerer Zuwachs.	Zuwachs in Sauerstoff = 1 gesetzt.
A	24	Sauerstoff	61,5	10,25	4,00
B	»	Luft	67,8	11,30	4,10
A	22	Sauerstoff	102,9	17,15	4,00
B	»	Luft	115,8	19,30	4,12
A	26	Luft	40,4	6,73	1,00
B	»	Luft	54,8	9,13	4,36

16. *Helianthus annuus.*

Keimpflanzen 6 Tage alt. Sechs im Sauerstoffe von gewöhnlicher Dichte und sechs in der Luft. Temperatur 19,9—25,2° C.

Zeichen.	Versuchsdauer.		Gesamttzuwachs.	Mittlerer Zuwachs.	Zuwachs in Sauerstoff = 1 gesetzt.
A	24	Sauerstoff	58,7	9,78	1,00
B	»	Luft	62,5	10,42	1,06

17. *Helianthus annuus.*

Keimlinge 7 Tage alt. 80 % Sauerstoff, 60 % Sauerstoff und 40 % Sauerstoff mit Luft von gewöhnlichem Druck verglichen. In jeder Gruppe 5 Pflanzen. Temperatur ungefähr 20,5° C.

Zeichen.	Versuchsdauer.	Partiäre Sauerstoffpressung			Gesamttzuwachs.	Mittlerer Zuwachs.	Zuwachs in 80 % Sauerstoff = 1 gesetzt.
		in Atmosphären.	in Millimetern.	in Luft = 1 gesetzt.			
A	27	0,80	586	3,8	37,9	7,58	1,00
B	»	0,60	440	2,9	40,3	8,06	1,06
C	»	0,40	293	1,9	40,4	8,08	1,07
D	»	0,21	154	1,0	41,9	8,38	1,10

18. *Vicia faba.*

Keimpflanzen 10 Tage alt. Das Wachstum an den zweiten Internodien in reinem Sauerstoffgase, in 80 % Sauerstoff und in 61 % Sauerstoff, im Vergleich mit atmosphärischer Luft untersucht. Vier Keimlinge in jeder Gruppe. Temperatur 25° C.

Zeichen.	Versuchsdauer.	Partiäre Sauerstoffpressung			Gesamttzuwachs.	Mittlerer Zuwachs.	Zuwachs in Luft = 1 gesetzt.
		in Atmosphären.	in Millimetern.	in Luft = 1 gesetzt.			
A	24	1,00	738	4,8	59,1	14,78	1,07
B	»	0,80	593	3,8	56,4	14,10	1,02
C	»	0,61	447	2,9	52,7	13,48	0,95
D	»	0,21	155	1,00	53,2	13,80	1,00

19. *Pisum sativum.*

Keimlinge 9 Tage alt. Zuwachs an den zweiten Internodien gemessen. Reiner Sauerstoff, 80 % Sauerstoff und 60 % Sauerstoff mit Luft verglichen. In jeder Gruppe vier Pflanzen. Temperatur 24—25° C.

Zeichen.	Versuchsdauer.	Partiäre Sauerstoffpressung			Gesamttzuwachs.	Mittlerer Zuwachs.	Zuwachs in Sauerstoff = 1 gesetzt.
		in Atmo-sphären.	in Milli-metern.	in Luft = 1 gesetzt			
A	24	1,00	732	4,8	56,0	14,00	1,00
B	»	0,80	587	3,8	56,0	14,00	1,00
C	»	0,61	443	2,9	59,7	14,93	1,07
D	»	0,21	154	1,0	65,5	16,38	1,17

20. *Brassica Napus.*

Keimpflanzen mit 20—30 mm langen Hypocotylen. Je 6 in reinem Sauerstoffgase, in 80 % Sauerstoff und in atmosphärischer Luft. Temperatur ungefähr 20° C.

Zeichen.	Versuchsdauer.	Partiäre Sauerstoffpressung			Gesamttzuwachs.	Mittlerer Zuwachs.	Zuwachs in Luft = 1 gesetzt.
		in Atmo-sphären.	in Milli-metern.	in Luft = 1 gesetzt.			
A	42	1,00	723	4,8	45,4	7,52	1,17
B	»	0,80	580	3,8	48,3	8,05	1,25
C	»	0,21	152	1,0	38,7	6,45	1,00

21. *Sinapis alba.*

Sechstägige Keimlinge. Reines Sauerstoffgas, comprimirt Luft und 60 % Sauerstoff mit Luft von gewöhnlichem Druck verglichen. In jeder Gruppe 6 Pflanzen. Temperatur 23° C.

Zeichen.	Versuchsdauer.	Gesamtdruck.	Partiäre Sauerstoffpressung			Gesamttzuwachs.	Mittlerer Zuwachs.	Zuwachs in compr. Luft = 1 gesetzt.
			in Atmo-sphären.	in Milli-metern.	in Luft = 1 gesetzt.			
A	18	4,5	0,95	689	4,5	13,4	2,23	1,00
B	»	1,0	1,00	733	4,8	42,5	7,08	3,17
C	»	1,0	0,60	444	2,9	49,7	8,28	3,74
D	»	1,0	0,21	154	1,0	35,9	5,98	2,68

22. *Raphanus sativus*.

Keimlinge 8 Tage alt. Auf 5,00 Atmosphären comprimirte Luft mit Luft von gewöhnlichem Druck verglichen. In jeder Gruppe 6 Pflanzen. Temperatur 17,4—18° C.

Zeichen.	Versuchsdauer.	Gesamtdruck.	Partiäre Sauerstoffpressung			Gesamtzuwachs.	Mittlerer Zuwachs.	Zuwachs in compr. Luft = 1 gesetzt.
			in Atmosphären.	in Millimetern.	in Luft = 1 gesetzt.			
A	24 ¹ / ₂	5,0	1,05	765	5,0	7,2	4,20	4,00
B	„	1,0	0,21	153	1,0	15,2	2,53	2,11

23. *Raphanus sativus*.

Fünftägige Keimpflanzen. Luft 5 Atm. und Sauerstoff 1 Atm. mit Luft von atmosphärischem Druck verglichen. Acht Keimlinge in jeder Gruppe. Temperatur 21,4—22,2° C.

Zeichen.	Versuchsdauer.	Gesamtdruck.	Partiäre Sauerstoffpressung			Gesamtzuwachs.	Mittlerer Zuwachs.	Zuwachs in compr. Luft = 1 gesetzt.
			in Atmosphären.	in Millimetern.	in Luft = 1 gesetzt.			
A	17	4,8	0,99	732	4,8	43,4	4,68	4,00
B	„	4,0	1,00	732	4,8	61,7	7,71	4,60
C	„	1,0	0,21	154	1,0	35,0	4,38	2,61

Die Versuche 14, 21 und 23 weisen darauf hin, dass es für die Keimpflanzen nicht gleichgültig ist, ob sie sich in reinem Sauerstoff von normaler Dichte oder in comprimierter Luft mit eben so hoher Sauerstoffpressung befinden. Um diesen Einfluss festzustellen, wurden Versuche ausgeführt, in denen die Versuchspflanzen unter hohem Wasserstoffdruck bei normaler partiärer Sauerstoffpressung und die Vergleichsobjekte in atmosphärischer Luft unter sonst gleichen Bedingungen verweilten. Die Ergebnisse zweier solcher Versuche sind in den nächstfolgenden 2 Tabellen zusammengestellt.

24. *Polygonum fagopyrum*.

Keimpflanzen 5 Tage alt. Jede Gruppe besteht aus 9 Keimlingen. Temperatur 17,4—18,6° C.

Zeichen.	Versuchsdauer.	Gesamtdruck.	Wasserstoff- und Stickstoffpressung.	Sauerstoffpressung.	Gesamtzuwachs.	Mittlerer Zuwachs.	Zuwachs unter hohem Wasserstoffdruck = 1 gesetzt.
A	24	13,1	12,8	0,21	24,2	2,69	4,00
B	„	1,0	0,8	0,21	45,7	5,08	4,89

25. *Raphanus sativus*.

Fünftägige Keimlinge. Sechs in jeder Gruppe. Temperatur 20—21,4° C.

Zu- weilen.	Versuchs- dauer.	Gesamt- druck.	Wasserstoff und Stickstoff- pressung.	Sauerstoff- pressung.	Gesamt- zuwachs.	Mittlerer Zuwachs.	Zuwachs unter dem Wasserstoff- druck = 1 gesetzt.
A	4 1/2	14,0	13,8	0,21	31,8	3,30	1,00
B	„	1,0	0,8	0,21	85,2	14,20	2,68

B. Wurzeln.

26. *Pisum sativum*.Sauerstoff 9,42 Atmosphären mit Luft von gewöhnlichem Druck ver-
glichen. Zuwachs halbstündlich an derselben Wurzel gemessen.

Partiäre Sauerstoffpressung		Temperatur.	Zuwachs	
in Atmosphären.	in Millimetern.		in Scalentheilen.	in Millimetern.
0,21	155	14,7	12	0,36
„	„	14,8	11	0,33
„	„	14,9	8	0,24
9,42	6948	15,4	8	0,24
„	„	15,4	11	0,33
„	„	15,3	6	0,18
„	„	15,3	5	0,15
„	„	15,3	5	0,15
„	„	15,3	4	0,12
„	„	15,3	3	0,09
„	„	15,3	2	0,06
„	„	15,3	1	0,03
„	„	15,2	1	0,03
„	„	15,1	0	0
0,92	681	14,9	— 3	— 0,09
„	„	14,7	— 1	— 0,03
„	„	14,5	0	0

In den nächstfolgenden 14 Stunden kein Wachstum, es wurde sogar eine Verkürzung um 7 Theilstriche beobachtet. Die Wurzel ward in Sägemehl eingesetzt. Nach einiger Zeit begann der Keimling sich weiter zu entwickeln. Nach 10 Tagen hatte der Stengel die Länge von 6 cm und die Wurzel 8,5 cm; die ganze Pflanze war viel kleiner als gleichalterige, unter normalen Bedingungen erzeugte Erbsenkeimlinge, welche durchschnittlich

etwa 20 cm lange Stengel besaßen; das Wurzelsystem war auch viel spärlicher entwickelt. Nach den folgenden 40 Tagen aber war die Keimpflanze weit in der Entwicklung fortgeschritten und hatte die normale Größe erreicht.

27. *Pisum sativum.*

Sauerstoff 4 Atm. mit Luft 1 Atm. verglichen. Stündliche Ablesungen.

Partiäre Sauerstoffpressung		Temperatur.	Zuwachs	
in Atmosphären.	in Millimetern.		in Scalentheilen.	in Millimetern.
0,21	153	17,6	27	0,84
"	"	17,6	43	1,29
"	"	17,6	44	1,23
4,10	3003	17,5	28	0,84
"	"	17,2	13	0,39
0,84	614	16,4	12	0,36
"	614	16,4	28	0,84

Durchschnittlicher Zuwachs pro Stunde:

in der Luft 4,110 mm
in Sauerstoff 4 Atm. 0,615 mm.

28. *Pisum sativum.*

Sauerstoff 2,45 Atm. mit Luft 1 Atm. verglichen. Zuwachs stündlich abgelesen.

Partiäre Sauerstoffpressung		Temperatur.	Zuwachs	
in Atmosphären.	in Millimetern.		in Scalentheilen.	in Millimetern.
0,24	154	15,6	22	0,66
"	"	15,7	23	0,69
"	"	15,8	26	0,78
2,45	1796	15,9	18	0,54
"	"	"	20	0,60
"	"	"	33	0,99
"	"	"	23	0,69
0,76	555	15,1	23	0,69
"	"	14,9	24	0,72

Durchschnittszuwachs pro Stunde:

Luft 0,710 mm
Sauerstoff 2,5 Atm. 0,705 mm.

29. *Pisum sativum.*

Reiner Sauerstoff von gewöhnlicher Dichte mit Luft verglichen. Stündliche Ablesungen.

	Temperatur.	Zuwachs	
		in Scalentheilen.	in Millimetern.
Luft	18,0	26	0,78
»	17,8	27	0,81
Sauerstoff	17,5	20	0,60
»	17,3	18	0,54
»	17,1	28	0,84
»	17,2	26	0,78
Luft	17,0	20	0,60
»	16,9	20	0,60
»	16,9	24	0,72

Mittlerer Zuwachs pro Stunde:

Luft 0,702 mm

Sauerstoff . . . 0,690 mm.

30. *Pisum sativum.*

Sauerstoff 1 Atm. mit Luft von gewöhnlichem Druck verglichen. Zuwachs halbstündlich gemessen.

	Temperatur.	Zuwachs	
		in Scalentheilen.	in Millimetern.
Sauerstoff	23,1	44,0	0,420
»	23,2	43,0	0,390
»	22,9	41,0	0,330
»	23,0	45,0	0,450
»	—	43,0*	0,390
»	25,0	43,0*	0,390
»	24,2	42,0	0,360
Luft	25,0	41,5	0,345
»	24,8	43,0	0,390
»	24,8	44,0	0,420
»	24,9	46,5	0,445
Sauerstoff	24,8	41,3	0,339
»	24,8	42,2	0,366
»	24,5	42,5	0,375
»	24,5	44,7	0,444
»	25,0	46,3	0,489

Durchschnittlich pro Halbstunde:

im Sauerstoff 0,395 mm

in der Luft 0,412 mm.

31. *Pisum sativum*.

Einfluss der hohen Wasserstoffpression untersucht. Die Wurzel verweilte zuerst einige Stunden in Luft. Nachdem gleichmäßiges Wachstum constatirt, wurde der Wasserstoff eingepumpt. Nach 3½ Stunden wurde der Druck in 6 Minuten aufgehoben, die Gase im Recipient verdünnt und Sauerstoff eingelassen. Zuwachs viertelstündlich abgelesen.

	Gesamtdruck.	Partiäre Sauerstoff- pression.	Temperatur.	Zuwachs	
				in Scalentheilen.	in Millimetern.
Luft	1,0	0,21	23,6	10,0	0,300
„	„	„	23,6	10,3	0,309
„	„	„	23,5	9,5	0,285
„	„	„	23,6	8,7	0,261
Luft und Wasser- stoff	10,0	0,21	23,5	4,8	0,144
„	„	„	23,0	7,2	0,216
„	„	„	23,0	6,3	0,189
„	„	„	23,1	6,2	0,186
„	„	„	23,2	7,1	0,213
„	„	„	23,0	7,4	0,222
„	„	„	23,1	6,6	0,198
„	„	„	23,0	5,2	0,156
„	„	„	23,0	7,6*	0,228
„	„	„	23,0	7,6*	0,228
„	„	„	23,0	7,6*	0,228
„	„	„	24,0	7,7*	0,231
„	„	„	24,0	9,3	0,279
„	„	„	24,0	8,3	0,249
Luft, Wasserstoff und Sauerstoff	1,0	0,1—0,72	23,0	4,2	0,126
„	1,0	0,72	23,5	3,7	0,111
„	„	„	23,5	3,7	0,111
„	„	„	23,6	4,1	0,123
„	„	„	24,0	5,0	0,150
„	„	„	24,0	5,1	0,153

Nach der Aufhebung der Compression hat also die Wachsthumsschnelligkeit plötzlich stark abgenommen. In den nächstfolgenden 10 Viertelstunden waren die Zuwachse noch immer gering, durchschnittlich = 0,126 mm. Später aber begann die Wurzel wieder schneller zu wachsen; in den folgenden 11½ Stunden betrug der mittlere viertelstündige Zuwachs 0,239 mm,

woraus man wohl schließen darf, dass das Wachstum zuletzt die anfängliche Größe erreichte. Was die Wirkung des Wasserstoffdruckes betrifft, so hat sich derselbe ungünstig erwiesen. Der mittlere Zuwachs betrug pro Viertelstunde:

Luft 0,289 mm
Luft mit Wasserstoff . . . 0,212 mm.

Das Wachstum in der Luft = 100 gesetzt, ist der Zuwachs bei hohem Wasserstoffdruck = 73,4.

32. *Pisum sativum.*

Luft und Wasserstoff 10 Atm. mit Luft verglichen. Compression in 5 Min. ausgeführt. Viertelstündliche Ablesungen.

	Gesamtdruck.	Temperatur.	Zuwachs	
			in Scalentheilen.	in Millimetern.
Luft	4,0	24,8	9,0	0,270
»	»	24,5	10,0	0,300
»	»	24,0	10,5	0,315
Luft u. Wasserstoff	10,0	24,4	6,8	0,204
»	»	24,4	8,7	0,261
»	»	24,4	7,8	0,234
»	»	24,2	7,2	0,216

Versuch unterbrochen wegen der stattgefundenen Krümmung der Wurzelspitze. Durchschnitt pro Viertelstunde:

Luft 0,295 mm
Luft und Wasserstoff . . . 0,229 mm.

Die Zuwächse verhalten sich zu einander wie 100 : 77,6.

33. *Pisum sativum.*

Wirkung der schnell nach einander folgenden Compression und Druckaufhebung untersucht. In den Luft enthaltenden Recipient Wasserstoff bis zu 10 Atm. Druck eingepumpt und sofort (in 4 Minuten) der Druck aufgehoben, der Recipient losgeschraubt und durch Durchsaugen mit Luft gefüllt. Die drei ersten Ablesungen beziehen sich auf das Wachstum vor, die vier letzten nach der Compression. Zuwachs viertelstündlich gemessen.

Temperatur.	Zuwachs	
	in Scalentheilen.	in Millimetern.
22,9	7,0	0,210
22,8	7,8	0,234
22,6	9,7	0,291
23,1	9,0	0,270
23,3	8,8	0,264
23,2	8,4	0,252
23,2	9,2	0,276

Durchschnittlich pro Viertelstunde:

vor der Compression . . . 0,245 mm

nach - - - - - 0,265 mm.

34. *Pisum sativum.*

Wirkung der starken Stickstoffpressung geprüft. Nach 1³/₄ Stunde der Druck augenblicklich aufgehoben. Viertelstündliche Ablesungen.

	Gesamtdruck.	Partiäre Sauerstoff- pressung.	Temperatur	Zuwachs	
				in Scalentheilen.	in Millimetern.
Luft	4,0	0,21	20,9	5,7	0,171
»	»	»	20,8	6,6	0,198
»	»	»	20,8	6,9	0,207
Luft und Stickgas	10,4	0,21	21,8	6,5	0,195
»	»	»	21,7	— ¹⁾	—
»	»	»	21,2	5,5	0,165
»	»	»	21,0	5,5	0,165
»	»	»	21,1	4,7	0,141
»	»	»	21,1	5,2	0,156
Luft ²⁾	4,0	0,21	20,8	6,7	0,201
»	»	»	21,0	6,8	0,204
»	»	»	—	7,0 ⁺	0,210
»	»	»	—	7,0 ⁺	0,210
»	»	»	—	7,0 ⁺	0,210
»	»	»	21,0	7,1 ⁺	0,213
»	»	»	21,1	7,3	0,219
»	»	»	21,2	7,4	0,222

Durchschnittlich pro Viertelstunde:

Luft 0,206 mm

Luft und Stickstoff 10,4 Atm. . . . 0,164 mm.

Die Zuwächse verhalten sich zu einander wie 100 : 79,6.

1) Verunglückt.

2) Einstellung 3⁴/₄ Stunden.

C. Pilze.

35. *Phycomyces nitens*.

Auf 5 Atm. comprimirt Luft und auf 5 Atm. comprimirt Sauerstoff mit Luft von gewöhnlichem Druck verglichen. Halbstündliche Ablesungen.

	Gesamtdruck.	Partiäre Sauerstoffpressung.	Temperatur.	Zuwachs	
				in Scalentheilen.	in Millimetern.
Luft	4,0	0,21	23,3	46,5	0,369
„	„	„	23,6	24,0	0,462
„	„	„	24,0	25,5	0,561
„	„	„	24,2	26,5	0,583
Compr. Luft	5,0	4,05	24,4	30,0	0,660
„	„	„	23,9	29,5	0,649
„	„	„	23,9	33,0	0,726
„	„	„	23,8	40,0	0,880
„	„	„	23,9	43,0	0,946
„	„	„	23,5	44,0	0,968
„	„	„	22,5	37,0	0,814
„	„	„	22,5	42,0	0,924
Luft	4,0	0,21	22,5	27,0	0,594
„	„	„	22,0	37,0	0,814
„	„	„	22,0	25,5	0,561
„	„	„	22,0	30,0	0,660
„	„	„	22,4	38,0*	0,836
„	„	„	22,6	38,0*	0,836
Luft u. Sauerstoff	5,0	4,19	23,0	— ¹⁾	—
„	„	„	22,9	20,0	0,440
„	„	„	22,9	15,0	0,330
„	„	„	22,6	13,0	0,286
„	„	„	23,2	5,0	0,140
„	„	„	24,2	8,0	0,176
„	„	„	24,2	5,0	0,110
„	„	„	24,4	2,0	0,044
Sauerstoff u. Luft	4,0	0,84	23,6	4,0	0,022
„	„	„	23,9	9,5	0,209
„	„	„	23,4	7,5	0,165
„	„	„	22,9	4,0	0,088
„	„	„	22,6	4,0	0,088
„	„	„	22,5	3,0	0,110
„	„	„	22,4	3,0	0,110

1) Verunglückt.

36. *Phycomyces nitens*.

Sauerstoff 1 Atm. mit Luft von atmosphärischem Druck verglichen.
Zuwachs halbstündlich abgelesen.

	Temperatur.	Zuwachs	
		in Scalentheilen.	in Millimetern.
Luft	20,4	7,0	0,240
„	20,2	7,5	0,225
„	20,4	7,0	0,240
„	20,6	9,5	0,285
„	—	9,5*	0,285
„	20,7	9,5*	0,285
Sauerstoff	20,5	6,5	0,195
„	20,3	9,0	0,270
„	20,3	10,5	0,315
„	20,3	8,5	0,255
„	20,2	8,0	0,240
„	20,1	9,0	0,270
„	20,2	11,0	0,330
„	20,4	10,5	0,315
„	20,6	12,5	0,375
„	20,4	11,5	0,345
Luft	20,7	6,5	0,195
„	21,0	8,0	0,240
„	21,0	12,0	0,360

Durchschnittlich pro Halbstunde:

in Luft 0,255 mm

in Sauerstoff . . 0,291 mm.

Verhältnis = 100 : 114,1.

37. *Phycomyces nitens*.

Einfluss der Evacuation untersucht. Luft 1 Atm. mit Sauerstoff 1 Atm.
verglichen. Halbstündliche Ablesungen.

	Temperatur.	Zuwachs	
		in Scalentheilen.	in Millimetern.
Luft	15,8	9,5	0,285
„	13,8	8,0	0,240
Ausgepumpt und mit Luft gefüllt	15,8	2,0	0,060
„	16,0	10,6*	0,318
„	16,1	10,7*	0,321
„	16,1	10,7*	0,321
„	16,0	14,0	0,420
„	16,0	13,0	0,390

	Temperatur.	Zuwachs	
		in Scalentheilen.	in Millimetern.
Sauerstoff	16,2	9,0	0,270
„	16,1	6,5	0,195
„	15,9	9,0	0,270
„	15,8	12,5	0,375
„	15,7	12,5	0,375
Luft	15,7	40,5	0,315
„	15,6	42,0	0,360
„	15,6	43,5	0,405

Mittlerer Zuwachs pro Halbstunde :

Luft 0,312 mm

Sauerstoff . . . 0,297 mm.

Verhältnis = 100 : 95,2.

38. *Phycomyces nitens*.

Luft mit 60 % Sauerstoff verglichen. Zuwachs alle Viertelstunden gemessen.

	Partiäre Sauerstoff- stofi- pressung.	Temperatur.	Zuwachs	
			in Scalentheilen.	in Millimetern.
Luft	155	23,8	15,0	0,330
„	„	24,0	15,5	0,341
„	„	24,1	20,3	0,447
„	„	24,2	19,0	0,418
Luft und Sauerstoff	445	24,5	15,0	0,330
„	„	24,5	19,3	0,425
„	„	25,0	18,4	0,405
„	„	25,0	19,8	0,436
„	„	25,0	21,0	0,462
„	„	25,1	22,6	0,497
„	„	24,8	21,8	0,480
„	„	25,0	19,4	0,427
„	„	25,0	19,5	0,429

Durchschnittlich pro Viertelstunde :

Luft 0,384 mm

60 % Sauerstoff . . . 0,432 mm.

Verhältnis = 100 : 112,5.

39. *Phycomyces nitens*.

Wirkung der Wasserstoffpressung untersucht. Nach der Aufhebung der Compression verweilte das Versuchsobjekt $\frac{3}{4}$ Stunden in einer sauerstoffarmen Atmosphäre; nachher wurde Sauerstoff zugelassen. Viertelstündliche Ablesungen.

	Gesamtdruck.	Temperatur.	Zuwachs	
			in Scalentheilen.	in Millimetern.
Luft	4,0	23,9	15,5	0,465
„	„	24,0	15,5	0,465
„	„	24,2	18,6	0,588
„	„	24,5	18,2	0,546
„	„	24,5	20,2	0,606
„	„	24,7	20,4	0,612
„	„	24,8	22,7	0,681
Luft und Wasserstoff	13,5	26,5	21,2	0,636
„	„	26,0	17,2	0,516
„	„	26,0	11,0	0,330
„	„	26,0	16,5	0,495
„	„	26,0	15,7	0,471
„	„	25,9	16,8	0,504
„	„	26,1	21,3	0,639
„	„	26,0	20,0	0,600
Luft und Wasserstoff	4,0	25,5	0,4	0,012
„	„	25,0	2,6	0,078
„	„	25,0	2,0	0,060
Sauerstoff zugelassen.	4,0	25,0	0,5	0,015
„	„	25,3	1,8	0,054
„	„	—	5,2*	0,156
„	„	—	5,2*	0,156
„	„	26,0	5,3*	0,159
„	„	26,0	0,0	0

In den folgenden 42 Stunden hat kein Wachstum stattgefunden.

40. *Phycomyces nitens*.

Wirkung der starken Wasserstoffpressung geprüft. Ablesungen halbstündlich.

	Gesamtdruck.	Temperatur.	Zuwachs	
			in Scalentheilen.	in Millimetern.
Luft	4,0	24,5	19,5	0,429
„	„	24,2	12,5	0,273
„	„	24,1	70,5	1,551
„	„	24,0	84,0	1,848
„	„	23,9	81,0	1,782
„	„	23,8	84,0	1,848

	Gesamtdruck.	Temperatur .	Zuwachs	
			in Scalentheilen.	in Millimetern.
Luft und Wasserstoff	13,4	23,0	79,0	1,738
»	»	24,9	38,0	0,836
»	»	24,9	38,0	0,836
Luft	1,0	23,8	12,0	0,264
»	»	23,4	17,5	0,385
»	»	23,1	17,5	0,385
»	»	23,2	16,0	0,352
»	»	23,1	27,0	0,594
»	»	23,2	30,0	0,660
»	»	23,5	29,0	0,638
»	»	23,9	22,0	0,484

41. *Phycomyces nitens*.

Einfluss der schnell nach einander folgenden Compression mit Stickgas und Decompression geprüft. Ablesungen viertelstündlich

	Gesamtdruck.	Temperatur.	Zuwachs	
			in Scalentheilen.	in Millimetern.
Luft vor d. Compr.	1,0	23,1	8,8	0,264
»	»	23,1	8,5	0,255
»	»	23,2	8,9	0,267
Während d. Compr. und Decompression	10,0	—	7,7	0,231
Luft nach d. Auf- hebung d. Druckes	1,0	23,2	4,8	0,144
»	»	23,0	5,1	0,153
»	»	23,0	5,1	0,153
»	»	22,9	5,8	0,174
»	»	23,5	6,1	0,183
»	»	23,8	9,1	0,273
»	»	24,0	10,8	0,324
»	»	23,8	10,2	0,306

Die nachstehenden Tabellen enthalten relative Zuwachse der Versuchsobjecte bei vergrößerter Sauerstoffpressung auf das Wachstum unter normalen Bedingungen = 100 bezogen. Ein * bedeutet in diesen Tabellen, dass die betreffende Sauerstoffpressung durch Luftcompression erreicht ward.

Helianthus annuus.

Nummer des Versuchs.	Versuchsdauer.	Sauerstoff- pression in Atmosphären.	Sauerstoff- pression in der Luft = 1 gesetzt.	Relativer Zuwachs.
5	6	7,70	36,7	64,9
4 A	2	6,93	33,0	97,0
2 A	25	6,76	32,2	4,2
3	20	5,39	23,7	14,6
2 A	22	3,26	13,5	53,8
2 B	18	3,23	13,3	33,7
1	22 ¹ / ₂	3,23	13,4	27,2
13	24	1,03 ⁺	4,9 ⁺	66,2
15	24	1,00	4,8	90,8
16	24	1,00	4,8	94,3
4 B	24	1,00	4,8	92,6
14 B	22 ¹ / ₂	0,99	4,7	88,0
14 A	22 ¹ / ₂	0,99 [*]	4,7 ⁺	74,9
17 A	27	0,80	3,8	90,5
17 B	27	0,60	2,9	96,2
17 C	27	0,40	1,9	96,4

Vicia faba.

Nummer des Versuchs.	Versuchsdauer.	Sauerstoff- pression in Atmosphären.	Sauerstoff- pression in der Luft = 1 gesetzt.	Relativer Zuwachs.
8	21	7,39	33,2	14,9
7	14	7,27	34,6	32,7
6	23 ¹ / ₂	3,89	18,5	30,3
18 A	24	1,00	4,8	107,6
18 B	24	0,80	3,8	102,2
18 C	24	0,61	2,9	95,1

Pisum sativum.

Nummer des Versuchs.	Versuchsdauer.	Sauerstoff- pression in Atmosphären.	Sauerstoff- pression in der Luft = 1 gesetzt.	Relativer Zuwachs.
10	15	7,02	33,4	4,9
9	14	4,43	21,1	40,8
19 A	24	1,00	4,8	85,5
19 B	24	0,80	3,8	85,5
19 C	24	0,61	2,9	94,2

Sinapis alba.

Nummer des Versuchs.	Versuchsdauer.	Sauerstoff- pressung in Atmosphären.	Sauerstoff- pressung in der Luft = 1 gesetzt.	Relativer Zuwachs.
12 B	17	5,63	26,8	23,4
12 A	48	5,46	26,0	0
11	25	4,17	19,9	7,0
21 B	18	1,00	4,8	118,3
21 A	18	0,95 *	4,5 *	37,3
21 C	18	0,60	2,8	138,2

Raphanus sativus.

Nummer des Versuchs.	Versuchsdauer.	Sauerstoff- pressung in Atmosphären.	Sauerstoff- pressung in der Luft = 1 gesetzt.	Relativer Zuwachs.
22	21	1,05 *	5,0 *	47,4
23 A	17	1,00 *	4,8 *	38,3
23 B	17	1,00	4,8	176,2

Brassica Napus.

Nummer des Versuchs.	Versuchsdauer.	Sauerstoff- pressung in Atmosphären.	Sauerstoff- pressung in der Luft = 1 gesetzt.	Relativer Zuwachs.
20 A	42	1,00	4,8	117,8
20 B	42	0,80	3,8	124,8

IV. Zusammenfassung.

1. Stärkere Sauerstoffpressung. In keinem Versuch, den 12. ausgenommen, wurde ein vollkommener Stillstand des Wachstums beobachtet, wohl aber in allen eine mehr oder weniger starke Hemmung. Bei ungefähr gleichen Expositionszeiten war die Beeinträchtigung des Wachstums der Stengeltheile um so größer, je höher der Sauerstoffdruck war (2^A und B und 3; 6 und 8; 9 und 10). Bei *Phycomyces* fand eine starke Hemmung des Wachstums unter einem Druck von 5 Atm. statt (35). Die Erbsenwurzel ward bei vierstündigem Aufenthalt unter einem Sauerstoffdruck von 2,5 Atm. im Wachstum fast gar nicht gehemmt (28), dagegen bei 4 Atm. (27) und bei 9,4 Atm. Sauerstoffdruck (26) war schon nach einer Stunde eine erhebliche Reduction des Wachstums bemerkbar. Von größter Bedeutung aber ergab sich die Expositionszeit. Bei gleichen Sauerstoffpressungen waren

die Zuwachse desto kleiner, je länger der Versuch dauerte (2^A und 4^A—5; 7 und 8; 12^A und 12^B). Bei längerer Versuchsdauer wurde sogar das Wachstum durch verhältnismäßig schwächere Tension mehr herabgesetzt als durch stärkere bei kurzer Expositionszeit (1, 2, 3 und 4^A, 5 *Helianthus*; 6 und 7 *Vicia faba*; 11 und 12^B *Sinapis*). Diese Ergebnisse scheinen im Widerspruch mit der Angabe BERT's zu stehen, dass die Gerstenkeimpflanzen schon in einem sauerstoffreichen Gasmengenge, das unter einem Druck von 3 Atm. stand, nicht heranwuchsen. Dieser Widerspruch ist aber leicht erklärbar. Der Versuch BERT's hat 4 Tage gedauert, und es ist höchst wahrscheinlich, dass anfangs ein Wachstum der Keimlinge statthatte, und erst nachdem die Pflanzen durch hohe Sauerstoffpressung beschädigt worden waren, eine pathologische Verkürzung erfolgte. Mit einem Worte, in dem Versuche BERT's ist dieselbe Erscheinung vorgekommen, welche ich im Versuche 12^A mit weißem Senf beobachtet habe. In diesem Versuche war nur bei einer einzigen Pflanze ein Zuwachsbemerkbar. Dass jedoch die Keimlinge gewachsen sind und sich erst später beim Übergang in den pathologischen Zustand verkürzt haben, darf man wohl daraus schließen, dass in demselben Versuch die Keimpflanzen B unter höherer Sauerstoffpressung bei viel kürzerer Expositionszeit nicht unbedeutend gewachsen sind.

Von besonderem Interesse sind die Ergebnisse der Versuche 4 und 5 mit Stengeltheilen und 26 mit einer Wurzel. Im Versuch 4 wuchsen die Keimlinge von *Helianthus* bei einem Sauerstoffdruck von etwa 7 Atm. und zweistündiger Expositionszeit eben so gut wie in gewöhnlicher Luft. Im Versuch 5 bei sechsstündiger Expositionszeit kam schon die ungünstige Wirkung der etwas höheren Sauerstoffpressung zum Vorschein, die Reduction des Wachstumsprocesses war aber noch unbedeutend. Im Versuch 26 mit einer Erbsenwurzel war der Zuwachs in der ersten Stunde im auf 9,5 Atm. comprimierten Sauerstoff nicht kleiner als in der vorigen Stunde in der Luft. Daraus ist man wohl berechtigt den Schluss zu ziehen, dass eine starke Sauerstoffpressung, die innerhalb der geprüften Grenzen liegt, erst nach länger dauernder Einwirkung das Wachstum beeinträchtigt. Die allmähliche Reduction des Wachstums, welche dabei stattfindet, lässt sich deutlich im Versuch 26 mit der Wurzel sehen.

Wenn die Sauerstoffpressung nicht allzu hoch war und die Versuchsobjekte rechtzeitig wieder unter normale Bedingungen gebracht wurden, entwickelten sie sich ganz normal weiter; nur in den nächstfolgenden Stunden ging bisweilen das Wachstum langsamer vor sich (vergl. 1, 2, 4, 5 und 9). Bei 20stündigem Aufenthalt unter 5,4 Atm. Sauerstoffdruck (3) waren einige Keimlinge von *Helianthus* stärker als andere beschädigt; sie gingen zu Grunde, während andere in der Luft sich erholten. Verschiedene Individuen scheinen mithin mit ungleicher Widerstandsfähigkeit begabt zu sein. Die verschiedenen Keimpflanzen sind ebenfalls in ungleichem Grade gegen starke Sauerstoffpressungen resistent. Saubohnen haben sich empfind-

licher als Sonnenrosen gezeigt; noch empfindlicher waren Erbsenkeimlinge. Bei Wurzeln trat die Wachstumsreduction schneller als bei den Stengeltheilen ein. Das Alter der Objekte scheint auch einen Einfluss zu haben; im Versuch 6 waren die jüngeren Internodien im Wachstum weniger als die älteren beeinträchtigt. Der Sauerstoffdruck von etwa 6 Atmosphären tödtete die Versuchsobjekte meistens in weniger als 20 Stunden. Bei stärkerer Sauerstoffpressung können sogar während kurzer Expositionszeit weitgehende Störungen stattfinden, welche die weitere Entwicklung der Keimpflanzen in der Luft stark verzögern (vergl. 26).

2. Schwächere Sauerstoffpressung. Die Erhöhung der partiären Sauerstoffpressung bis zu 4 Atmosphäre hat sich entschieden günstig für das Wachstum der Keimpflanzen von *Raphanus sativus* (23), *Sinapis alba* (24) und *Brassica napus* (20) erwiesen. Fast ohne jeden Einfluss war die Verstärkung der Sauerstoffpartiärpressung auf das Wachstum von *Vicia faba* (18), *Helianthus annuus* (4, 14, 15, 16 und 17) und *Pisum sativum* (19). Bei der Saubohne waren die Zuwächse in 80 und 100 % Sauerstoff um ein wenig größer, bei der Sonnenrose und besonders bei der Erbse etwas kleiner als in gewöhnlicher Luft. Es ist aber wahrscheinlich, dass diese Differenzen von den individuellen Eigenschaften der Versuchsobjekte stammen. Die Wurzeln von *Pisum sativum* und Fruchträger von *Phycomyces nitens* wuchsen in reinem Sauerstoff eben so gut wie in der Luft (29, 30, 36, 37). Bei den Keimlingen, auf deren Wachstum die Erhöhung der Sauerstoffpartiärpressung positiv wirkt, hat sich der Sauerstoffdruck von 4 Atm. etwas ungünstiger erwiesen, als ein solcher von 0,80 oder 0,60 Atm. (20, 21). Bei den Pflanzen, welche bei höherer Sauerstoffpressung schwächer wuchsen, waren auch die beobachteten Differenzen bei verhältnismäßig stärkerer Tension etwas größer (17, 19).

Die von WIELER vermuthete Wachstumsreduction bei einem Sauerstoffdruck von ungefähr 0,4—0,6 Atmosphären und Wachstumsbeschleunigung bei höherer Pressung habe ich nicht wahrnehmen können. Ausnahmsweise im Versuch 18 mit Saubohnen war der Zuwachs bei 64 % Sauerstoff etwas kleiner als bei 80 und 100 %. Der kleine Unterschied rührt jedoch wahrscheinlich von der Individualität der Versuchsobjekte her. Meistens konnte ich das Entgegengesetzte beobachten, nämlich größere Zuwächse bei 60 % Sauerstoff als bei 80 und 100 %. Die Annahme WIELER's, dass es zwei Wachstumsmaxima geben kann, hat sich also nicht bestätigt. Es wäre denkbar, dass für jene Pflanzen, die bei vergrößerter Sauerstoffpressung besser wachsen, die Verminderung des partiären Sauerstoffdruckes nachtheilig ist, und im Gegentheil, für jene, auf welche die Verminderung günstig wirkt, die mäßige Verstärkung der Sauerstoffpressung entweder keinen Einfluss hat oder ungünstig ist, mit einem Worte, dass die von WIELER beobachtete Beschleunigung des Wachstums von Sonnenrose, Saubohne und Kürbis in 3—9 % Sauerstoff nicht für alle Pflanzen giltig ist.

Die Ergebnisse meiner Versuche unterscheiden sich auch von denen, welche Böhm und ältere Forscher erhalten haben. Einen äußerst schädlichen Einfluss, von welchem Böhm spricht, habe ich nicht wahrnehmen können. Ob der Unterschied durch die ungleiche Versuchsdauer zu erklären ist, wage ich nicht zu entscheiden, da ich keine entsprechenden Versuche ausgeführt habe. Ich will nur hier erwähnen, dass während 3 Tagen, der längsten Expositionszeit bei meinen Versuchen, kein schädlicher Einfluss des reinen Sauerstoffs hervorgetreten ist. In Vorversuchen dagegen habe ich schon bei einem 18stündigen Aufenthalt im Sauerstoff sowohl eine starke Hemmung im Wachstum, als auch äußere Beschädigungen der Keimlinge beobachtet. Diese Resultate ließen mich streng auf die Reinheit des Gases achten, und in den späteren Versuchen, bei welchen ich vollkommen sicher sein konnte, dass der Sauerstoff chlorfrei war, ist niemals eine schädigende Wirkung zum Vorschein gekommen.¹⁾

3. Wirkung des Druckes indifferenter Gase. Die Vergleichung der relativen Zuwachse der Keimpflanzen im Sauerstoff von 4 Atm. Druck und in comprimierter Luft mit gleicher partiärer Sauerstoffpressung weist darauf hin, dass in comprimierter Luft nicht allein die Sauerstofftension Einfluss ausübt, sondern auch der Druck des Stickstoffs wirkt. In auf etwa 5 Atm. comprimierter Luft wuchsen nämlich Sonnenrose, weißer Senf und Rettig immer langsamer als in reinem Sauerstoff von normaler Dichte (vergl. 13 und 14^A mit 4^B, 14^B, 15 und 16; 24^A mit 24^B; 22 und 23^A mit 23^B). Der Unterschied war besonders deutlich bei den beiden letztgenannten Pflanzen, die in reinem Sauerstoff bedeutend besser und in comprimierter Luft viel schlechter aufwuchsen.²⁾ Die ungünstige Wirkung des Druckes indifferenter Gase auf das Wachstum wurden in Versuchen (24, 25, 31, 32, 33, 40) festgestellt, in welchen die Versuchsobjekte unter hohem Wasserstoff- oder Stickstoffdruck und normaler partiärer Sauerstoffpressung verweilten. In dieser Versuchsreihe hat sich außerdem der Einfluss des Druckwechsels geäußert, und, was bemerkenswerth ist, hauptsächlich in Versuchen mit *Phycomyces*. Die Beeinträchtigung des Wachstums der Wurzel nach der Aufhebung des Druckes habe ich nur einmal (34) beobachtet. In den anderen Versuchen war die unmittelbar nach einander folgende Compression und Aufhebung des Druckes (33), oder die plötzliche Decompression (34)

1) Böhm erwähnt, dass bei seinen Versuchen die Apparate mit direkt aus chlorsaurem Kali entwickeltem Sauerstoff gefüllt wurden; über das Reinigungsverfahren ist kein Wort zu finden. Wenn die Reinigung wirklich unterlassen wurde, war der gebrauchte Sauerstoff sicher nicht chlorfrei, und in diesem Falle wurde die beobachtete schädigende Wirkung vielleicht durch den Chlorgehalt hervorgerufen.

2) Im Versuch 35 ist in auf 5 Atm. compr. Luft scheinbar keine Hemmung im Wachstum von *Phycomyces* eingetreten. Der Fruchträger befand sich aber in der Phase des beschleunigten Wachstums, und es ist nicht ausgeschlossen, dass unter normalem Druck die Zuwachse größer als die beobachteten wären.

ohne jeden Einfluss. Dagegen in allen Versuchen mit *Phycomyces* hat sich der Druckwechsel schädlich erwiesen, obgleich die Druckaufhebung immer in nicht weniger als 5 Minuten ausgeführt wurde. Ich habe diese Erscheinungen eingehender nicht studirt und kann deshalb keine befriedigende Erklärung geben. Es sei noch hier bemerkt, dass die Fruchträger von *Phycomyces* meistens auch beim Auspumpen gelitten haben. In einem Versuch z. B. fanden nach der Evacuation anfangs Verkürzungen statt und erst nach drei Stunden begann der betreffende Fruchträger wieder zu wachsen. Die nachtheilige Wirkung der Evacuation trat gewöhnlich desto deutlicher hervor, je länger das Auspumpen dauerte. Bei sehr raschem Auspumpen war jedoch die Gefahr der Beschädigung auch sehr groß. Ob die Folgen der Evacuation und der Aufhebung des Druckes nach der Compression analoge Ursachen haben, muss dahingestellt bleiben.

V. Einfluss der hohen Sauerstoffpressung auf das Wachsthum und die Athmung.

Die Athmungs- und Wachsthumscurven haben bekanntlich einen verschiedenen, nur bis zu gewissen Grenzen übereinstimmenden Verlauf. Der Zusammenhang beider Prozesse ist jedoch bei den phylogenetisch hoch entwickelten Pflanzen darin zu finden, dass, obgleich die normale Athmung unter den Bedingungen mehr oder weniger intensiv vor sich gehen kann, unter welchen die Pflanzen nicht mehr im Stande sind, zu wachsen, dem schnellen Wachsthum gewöhnlich eine energische Athmung entspricht¹⁾. Bei der Vergleichung des Einflusses hoher Sauerstoffpressungen auf die Athmung und das Wachsthum tritt die gegenseitige Abhängigkeit dieser Prozesse deutlich hervor.

BERT²⁾ hat beobachtet, dass die Sauerstoffaufnahme in comprimirtem Sauerstoffgase oder in comprimirter Luft stark reducirt wird. JOHANNSEN³⁾ dagegen fand, dass die Athmung in comprimirtem Sauerstoff eher ein wenig intensiver verläuft, als beeinträchtigt wird. Der scheinbare Widerspruch zwischen den Beobachtungen BERT's und JOHANNSEN's lässt sich jedoch leicht, wie es JOHANNSEN gethan, dadurch erklären, dass die BERT'schen Versuche tagelang dauerten, während JOHANNSEN den Einfluss comprimirtes Sauerstoffgases in kurzen Expositionszeiten untersuchte. Ganz analoge Wirkung

1) Nach den Versuchen WILSON's und JOHANNSEN's einerseits und WIELER's andererseits scheint bei *Helianthus annuus* die Wachsthumbschleunigung unter den Verhältnissen einzutreten, unter welchen die Athmungsenergie nicht steigt. Inwieweit diese Angabe begründet ist, muss ich zur Zeit dahin gestellt lassen.

2) BERT, La pression barométrique. S. 863. — Comptes rendus. Bd. LXXVI. 1873. S. 4493 und 4873. Bd. LXXVII. S. 534.

3) JOHANNSEN, Über den Einfluss hoher Sauerstoffspannung auf die Kohlensäureausscheidung einiger Keimpflanzen. Unters. aus d. botan. Inst. zu Tübingen. Bd. I. 1881—1885. S. 686.

des zusammengepressten Sauerstoffs auf das Wachstum habe ich wahrgenommen. Bei kurzen Expositionszeiten wuchsen die Keimlinge in hoch comprimirtem Sauerstoffgase nicht langsamer als unter normalen Bedingungen, und erst bei längerer Einwirkung kam der schädliche Einfluss der starken Sauerstofftension zum Vorschein¹⁾. Man darf wohl daraus schließen, dass in allen Fällen, wo die partiäre Sauerstoffpressung gewisse (noch unbekannt) Grenzen nicht überschreitet, anfänglich keine Hemmung des Wachstums stattfindet und erst nach gewisser Zeit eine allmähliche Verlangsamung erfolgt, die allmählich in absoluten Stillstand übergeht. Die Wachstumsbeeinträchtigung geht vermuthlich mit der Abnahme der Athmungsenergie Hand in Hand.

Die Wirkung schwächerer Sauerstoffspannungen äußert sich auch bei verschiedenen Pflanzen, bis zu gewissem Grade, im Wachstums- und Athmungsprozesse übereinstimmend. Die Vergrößerung des partiären Sauerstoffdruckes hat bekanntlich bei verschiedenen Objekten verschiedenen Einfluss auf die Athmungsintensität. DEHÉRAIN und MOISSAN²⁾ haben für die Blätter von *Nicotiana Tabacum* in reinem Sauerstoff theils eine größere als in der Luft, theils gleiche Kohlensäureproduction gefunden; die Blätter von *Pinus Pinaster* schieden dagegen in reinem Sauerstoff kleinere Kohlensäurequantitäten aus. BÖHM³⁾ giebt an, dass die Keimpflanzen in reinem Sauerstoffgase gleichviel Kohlensäure exhaliren. RISCHAVI⁴⁾ hat die Richtigkeit der Beobachtung BÖHM's für *Vicia faba* constatirt. GODLEWSKI⁵⁾ fand, dass bei Rettigkeimpflanzen in den ersten Entwicklungsstadien in reinem Sauerstoff sowohl die Kohlensäureausscheidung, als auch die Sauerstoffaufnahme ausgiebiger ist, und dass die unter Wasser eingequollenen Erbsensamen in reinem Sauerstoffgase intensiver athmen. BORODIN⁶⁾ constatirte eine intensivere Athmung junger Sprosse von *Amelanchior rotundifolia* im Sauerstoff. JOHANNSEN⁷⁾ fand im Sauerstoffe keine Zunahme der Kohlensäureexhalation bei älteren Keimlingen von *Pisum sativum* und *Helianthus annuus*, dagegen eine solche für *Zea Mays*. Nach VROLIK und

1) Ob die von JOHANNSEN beobachtete positive Nachwirkung des comprimirtten Sauerstoffs auf die Athmung auch im Wachsen stattfindet, habe ich nicht näher untersucht.

2) DEHÉRAIN et MOISSAN, Recherches sur l'absorption d'oxygène et l'émission d'acide carbonique par les plantes maintenues dans l'obscurité. Ann. d. sc. nat. Bot. 5. Sér. Bd. XIX. 1874. S. 333 und 348.

3) BÖHM, Sitzber. d. k. Wien. Akad. 18. Juli 1873. Bd. 68.

4) RISCHAVI, Einige Versuche über die Athmung der Pflanzen. Landw. Versuchstationen. Bd. XIX. 1876. S. 321. — КЪ вопросу о дыханіи растеній. Sep.-Abdr. aus d. V. Bd. d. Abh. d. Neuruss. Gesellschaft der Naturforscher. Odessa 1877. S. 25—29.

5) GODLEWSKI, Beiträge zur Kenntniss der Pflanzenathmung. Sep.-Abdr. aus PRINGSHEIM'S Jahrbüchern. Bd. XIII. 1882. S. 34 und 44.

6) BORODIN, Sitzber. der bot. Sekt. der St. Petersburger Naturforscher-Gesellschaft, 19. April 1879 und Botan. Ztg. 1884, S. 127.

7) JOHANNSEN, l. c. S. 704.

DE VRIESE¹⁾ ist die Temperatur der Kolben von *Colocasia odora* in reinem Sauerstoffgase bedeutend (2,8—4,6° C.) höher als in atmosphärischer Luft, woraus man schließen darf, dass die Athmung energischer vor sich geht.

Analoge Differenzen bestehen in dem Einflusse der eine Atmosphäre nicht überschreitenden Sauerstofftension auf das Wachstum. Erbse, Sonnenrose und Saubohne wachsen in Gasgemengen, die sauerstoffreicher als die atmosphärische Luft sind, in verhältnismäßig kurzen Expositionszeiten eben so gut, wie in gewöhnlicher Luft. Dasselbe trifft zu bei *Phycomyces nitens*. Dagegen findet eine bedeutende Beschleunigung des Wachstums von Rettig, Raps und weißem Senf statt. Bei verschiedenen Pflanzen wird mithin das Wachsen durch stärkere Sauerstoffspannung entweder günstig oder fast gar nicht beeinflusst, ganz so wie es bei der Athmung der Fall ist²⁾. Woher die Differenzen rühren, lässt sich bei den jetzigen Kenntnissen nicht hinlänglich erklären. Die bestehenden Unterschiede scheinen aber, sowohl im Wachstum als auch in der Athmung, nicht von der Mannigfaltigkeit der Reservestoffe abhängig zu sein. Ob die bei Erbse, Sonnenrose und Rettig constatirte Übereinstimmung in der Beeinflussung des Wachsens und der Athmung durch vergrößerte Sauerstoffpartiärpressung auch für andere Pflanzen gültig ist, bleibt durch specielle Versuche zu ermitteln.

VI. Ursachen der schädlichen Wirkung comprimirten Sauerstoffgases.

Die Angaben der Forscher, die den Einfluss des zusammengedrückten Sauerstoffs auf lebendige Organismen untersucht haben, stimmen darin überein, dass die partiäre Sauerstoffpressung von wenigen Atmosphären sehr ungünstig auf die Lebensfunctionen wirkt, und ein stärkerer Partiärdruck in kürzerer oder längerer Zeit den Tod herbeiführt. Über die Ursachen der schädlichen Wirkung sind aber die Ansichten verschiedener Verfasser nicht übereinstimmend.

BERT³⁾ beobachtete, dass in comprimirten, sauerstoffreichen Gasge-

1) VROLIK et DE VRIESE, Nouvelles expériences sur l'élévation de température du spadice d'une *Colocasia odora*. Ann. des Sc. Nat. Bot. Sér. 2. Bd. XI. 1839. S. 65.

2) GODLEWSKI hat zwar wahrgenommen, dass keimende Rettigsamen nur in den ersten Tagen in reinem Sauerstoff intensiver athmeten. Die später eingetretene Unterdrückung der Athmungsenergie konnte jedoch durch den Mangel an Reservestoffen verursacht worden sein. Die Samen enthalten ja nur eine beschränkte Quantität von Respirationsmaterial, und wenn dasselbe unter günstigen Bedingungen im Dunkeln schneller verarbeitet wird, kann es später mangeln, und die Athmungsenergie kann unterdrückt werden, obgleich die günstigen Bedingungen fortwährend bestehen.

3) BERT, La pression barométrique. S. 764 u. f. — Comptes rendus Bd. LXXIII. 1871. S. 503; Bd. LXXIV. 1872. S. 620; Bd. LXXV. 1872. S. 34 und 546; Bd. LXXVI. 1873. S. 443; Bd. LXXVII. 1873. S. 531.

mengen Thiere in verhältnismäßig kurzer Zeit Krämpfe bekommen und sterben. Ein hoher Sauerstoffdruck verursacht nach BERT die Abnahme der Athmungsenergie, womit das Sinken der Körpertemperatur und Reduction der Ernährungsprozesse Hand in Hand geht. Daraus folgert BERT, dass der Sauerstoff von hoher Spannung eine giftige Wirkung auf lebendige Zellen ausübt, und dass der krankhafte Zustand resp. der Tod die Folge der toxisch wirkenden Übersättigung der Gewebe mit Sauerstoff ist. Nach der Ähnlichkeit der Anfälle vergleicht BERT die toxische Wirkung zusammengedrückten Sauerstoffgases mit der von Strychnin oder von Phenol.

Nach PFLÜGER¹⁾ ist die Thätigkeit lebender Zellen bei der Athmung dem Vorgange ähnlich, der bei der Oxydation des Phosphors stattfindet. Activer Phosphor leuchtet und oxydirt sich bekanntlich nicht in reinem Sauerstoff von gewöhnlicher Dichte, wohl aber in verdünntem²⁾. Sich auf diese Thatsache und auf die Angabe BERT's, dass in comprimирtem Sauerstoffgase die Athmung einer Reduction unterliegt, stützend, nimmt PFLÜGER an, dass bei hoher Sauerstoffpressung die physiologische Verbrennung nicht vor sich gehen kann.

Der Ansicht PFLÜGER's schließt sich LEHMANN³⁾ an. Nach LEHMANN ist der Sauerstoff kein unmittelbares Gift, weil die Froschherzen in comprimирtem Sauerstoff stundenlang leben können, obgleich bei ihrer geringen Größe die Imprägnirung der Gewebe mit Sauerstoff sofort zu Stande kommen muss. Es scheint LEHMANN wahrscheinlich, dass comprimирter Sauerstoff vom Herzen nicht oder nur in sehr geringem Maße zur Restitution seiner spaltungsfähigen, spannkraftführenden Substanz verwendet werden kann. In der später erschienenen Abhandlung LEHMANN's⁴⁾ begegnen wir denselben Ansichten. Die Wirkung zusammengedrückten Sauerstoffs auf das Herz soll die eines indifferenten, nur wenig das Leben unterhaltenden Gases, nicht die eines Giftes sein. Der Sauerstoff von hoher Spannung ist inactiv, unfähig die Restitution zu bewirken, und die verminderte Sauerstoffassimilation ist die Hauptquelle der Erstickung in comprimирtem Sauerstoff.

Von den anderen, der Auffassung BERT's nicht beistimmenden Ansch-

1) PFLÜGER, Über die physiologische Verbrennung in den lebendigen Organismen. PFLÜGER's Archiv. Bd. X. 1875. S. 254.

2) Ausführlichere Litteratur-Angaben über das Verhalten des Phosphors sind bei LEHMANN — Über den Einfluss des comprimирten Sauerstoffes auf einige Oxydationsprozesse. II. Theil der Züricher Inaug.-Diss. Zürich 1883. S. 58 u. f. — zu finden.

3) LEHMANN, Die Wirkung hoher Sauerstoffdrücke auf thierische Gebilde. PFLÜGER's Archiv. Bd. XXVII. 1882. S. 424.

4) LEHMANN, Über den Einfluss des comprimирten Sauerstoffs auf die Lebensprozesse der Kaltblüter und auf einige Oxydationen. Züricher Inaug.-Diss. 1883.

ten seien noch hier die von OVERBEEK DE MEIJER¹⁾ und die von CYON²⁾ erwähnt. OVERBEEK DE MEIJER vermuthet, dass der comprimirte Sauerstoff eine unzersetzbare, für das Leben nutzlose Verbindung mit dem Protoplasma bildet. Nach CYON ist der comprimirte Sauerstoff kein specielles Gift für lebende Organismen, die bei hohem Sauerstoffdruck nur dadurch leiden resp. getödtet werden sollen, dass in Folge des Mangels an Kohlensäure, dem hauptsächlich Erreger der vasomotorischen und respiratorischen Nervencentren, die Circulation und die Athmung in Stillstand übergehen.

Alle erwähnten Ansichten, die BERT's ausgenommen, stimmen also darin überein, dass im Sauerstoff von gewisser Spannung die Oxydation, richtiger gesagt die physiologische Verbrennung unmöglich sei. Diese Auffassung ist jedoch nicht vollkommen berechtigt und steht mit bekannten Thatsachen im Widerspruche. Schon BERT³⁾ hat dargethan, dass die Wirkung des zusammengepressten Sauerstoffgases und die des Sauerstoffabschlusses verschieden sind. Es sei hier nur erwähnt, dass nach BERT keimende Samen im Vacuum zwar in der Entwicklung gehemmt, aber nicht getödtet werden, wenn der Luftabschluss nicht übermäßig lange dauert; dagegen gehen sie in comprimierter Luft mit hoher partiärer Sauerstoffpressung zu Grunde. Dasselbe betrifft die Thiere. Der ungünstige Einfluss der starken Sauerstofftension lässt sich mithin nicht ausschließlich auf die verhinderte Sauerstoffaufnahme reduciren. Dafür spricht auch die wichtige Beobachtung BERT's, dass durch hohe Sauerstoffpressung hervorgerufene Krämpfe noch stundenlang dauern, und das Sinken der Temperatur nicht sofort aufhört, nachdem die Thiere wieder unter normale Bedingungen gebracht worden waren. Diese Thatsache widerspricht auch entschieden der Annahme, dass der comprimirte Sauerstoff durch die Bildung einer unspaltbaren, den Sauerstoff nicht abtretenden Verbindung ungünstig wirkt, dagegen liefert sie einen unbestreitbaren Beweis, dass in comprimirtem Sauerstoff bei lange genug dauernder Einwirkung in den lebendigen Zellen weitgehende Veränderungen stattfinden.

LEHMANN nimmt die Oxydationsunfähigkeit des comprimierten Sauerstoffgases an, sich hauptsächlich auf die Thatsache stützend, dass die Abkühlung das Leben in comprimirtem Sauerstoff verlängert.⁴⁾ Es ist aber

1) OVERBEEK DE MEIJER, Over den invloed van zuurstoffgas onder hoogere drukking op lagere organismen en levende grondvormen. — Onderzoekingen gedaan in het laboratorium der Utrechtsche hoogeschool. Derde reeks VI. Utrecht 1884. cit. nach LEHMANN, PFLÜGER'S Archiv. Bd. XXVII. 1882. S. 434.

2) CYON, L'action des hautes pressions atmosphériques sur l'organisme animal. Comptes rendus. Bd. XCIV. 1882. S. 494.

3) BERT, La pression barométrique. S. 777 und 1137. — Comptes rendus. Bd. LXXVII. 1873. S. 534.

4) Mit Eis abgekühlte Froschherzen lebten in comprimirtem Sauerstoff etwa 12 Stunden, während bei gewöhnlicher Zimmertemperatur das Leben durchschnittlich 8—9

fraglich, ob dieser Schluss richtig gezogen ist. Erstens ist die beobachtete Zeitdifferenz sehr gering, und demzufolge kann man nicht mit voller Sicherheit behaupten, dass dieselbe von dem Einflusse der Kälte und nicht etwa von den individuellen Eigenschaften der Versuchsobjekte herrührt, um so weniger, als es in der Lebensdauer verschiedener Froschherzen unter normalen Bedingungen viel größere Schwankungen (22—56 Stunden) giebt. Zweitens, die günstige Wirkung der Abkühlung als festgestellt angenommen, kann man sie auch daraus herbeiführen, dass bei niedriger Temperatur die Oxydationsprozesse geschwächt wurden, die schon existirenden Sauerstoffaffinitäten auf eine längere Zeit ausreichen konnten und der Tod dadurch auf gewisse Zeitdauer verschoben wurde. Außerdem konnte überhaupt die Lebensthätigkeit bei niedriger Temperatur unterdrückt worden sein, und die Froschherzen dürften in diesem Zustande durch hohe Sauerstoffpressung weniger gelitten haben. Dass die letzte Vermuthung nicht ganz unwahrscheinlich, obgleich unerwiesen ist, glaube ich u. a. daraus schließen zu dürfen, dass z. B. die Bacteriensporen und die Bacterien selbst ungleiche Widerstandsfähigkeit gegen hohe Temperaturen und verschiedene Gifte besitzen, und nach der Angabe BERT's trockene Samen in comprimirtem Sauerstoffgase nicht beschädigt werden.¹⁾ Diese und andere Erscheinungen zeigen, dass die Organismen in latentem Zustande des Lebens viel resistenter gegen schädliche Einflüsse sein können. Ob auch mit der Abnahme der Energie der Lebensfunctionen die Widerstandsfähigkeit in gewissen Fällen sich vergrößert, kann man zwar nicht behaupten, aber wohl vermuthen.

Die Annahme der Oxydationsunfähigkeit comprimirten Sauerstoffs lässt sich noch durch andere Thatsachen als unbegründet erweisen. Der Umstand, dass die Pflanzen in den ersten Aufenthaltsstunden unter hohem Sauerstoffdruck weder schlechter athmen noch wachsen, beweist unfehlbar, dass die schädliche Wirkung des Sauerstoffs von hoher Pressung nicht auf seiner Inactivität beruht. Die Beobachtung JOHANNSEN's²⁾, dass die Keimpflanzen in hoch comprimirtem Sauerstoff eben so viel Kohlensäure wie in gewöhnlicher Luft ausscheiden können, beweist genügend das Zustandekommen der Oxydation unter Mitwirkung des Sauerstoffgases. Es wäre undenkbar, anzunehmen, dass die in comprimirtem Sauerstoff exhalirte Kohlensäure durch intramoleculare Athmung gebildet wurde, da der intramoleculare und normale Athmungsprozess nur ausnahmsweise, vielleicht ausschließlich bei *Vicia faba* und *Ricinus communis*, die gleichen Kohlensäurequantitäten liefern und bei den meisten Pflanzen (zu welchen auch die

Stunden (in der ersten Abhandlung ist die Lebensdauer auf 8—10 Stunden bestimmt) dauerte. Daraus folgert LEHMANN auch, dass comprimirtes Sauerstoff kein Gift ist, weil wahre Gifte in ihrer Wirkung durch Abkühlung befördert werden können.

1) BERT, La pression barométrique. S. 865.

2) JOHANNSEN, l. c.

Versuchsobjekte JOHANNSEN's gehören) die Kohlensäureproduction bei Sauerstoffmangel sofort reducirt wird.¹⁾ Noch besser beweist das Zustandekommen der normalen Athmung, mithin die Activität des Sauerstoffs von hoher Spannung, das ungestörte Wachsthum der Keimpflanzen, da es festgestellt ist, dass bei höher entwickelten Gewächsen der Wachstumsprozess mit dem Unterbleiben der normalen Athmung sofort stillsteht.

Das sind direkte Beweise der Activität des Sauerstoffgases von großer Dichte bei der physiologischen Verbrennung, es fehlt aber auch nicht an indirekten. FABRE²⁾ hat dargethan, dass *Agaricus olearius* in reinem Sauerstoff ebenso gut wie in atmosphärischer Luft leuchtet. Die Phosphorescenz dieses Pilzes ist aber unbestreitbar ein Oxydationsvorgang, da dieselbe bei Sauerstoffabschluss sofort unterbleibt. MÜLLER-PERLEBERG³⁾ fand, dass die Oxydation verschiedener Metalle in reinem Sauerstoff und in gewöhnlicher Luft bei gleicher Temperatur beginnt, dass also der Sauerstoff von normaler Dichte nicht träger als der mit indifferenten Gasen verdünnte ist. Nach LEHMANN⁴⁾ wird reduzirte Indigolösung in zusammengepresstem Sauerstoff rascher oder eben so schnell wie in der Luft gefärbt und die Ferrosulfatlösung, Cyanin und alkalische Pyrogallussäurelösung oxydiren sich entschieden rascher. Die Leuchtkörper RADZISZEWSKI's⁵⁾ leuchteten in Versuchen LEHMANN's stärker in comprimirtem Sauerstoff. Die phosphorescirenden Organismen leuchteten im Sauerstoffe von hohem Druck eben so gut wie in der Luft; das faule Fleisch leuchtete im Sauerstoffgase, das unter einem Drucke von 10 Atmosphären stand, etwa 14 Stunden; nachher hat das Leuchten aufgehört. Die Bacterien (vielleicht nur die Sporen) waren aber noch nicht getödtet, da nach 4 $\frac{1}{2}$ Stunden in der Luft das Fleisch wieder zu leuchten begann.

Diese Thatsachen beweisen hinlänglich, dass der Sauerstoff von normaler oder höherer Dichte im Stande ist, Oxydationen zu bewirken, und dass der schon im Sauerstoffgase von gewöhnlicher Dichte nicht oxydirbare Phosphor die einzige bis jetzt bekannte Ausnahme darstellt. Die Annahme des Zustandekommens der physiologischen Verbrennung in reinem Sauer-

1) PFEFFER und WILSON, Über intramolekulare Athmung. Tüb. Unters. Bd. I. 1881—1885. S. 645. — MÖLLER, Berichte der deutsch. botan. Gesellschaft. 1884. Bd. II. S. 317. — JENTYS, O sródrobinowem oddychaniu. (Über intramolekulare Athmung.) Poln. Kosmos. Bd. VIII. 1883.

2) FABRE, Recherches sur la cause de la phosphorescence de l'Agaric de l'Olivier. Ann. des se. natur. Bot. 4. Ser. Bd. IV. 1855. S. 191.

3) MÜLLER-PERLEBERG, Über das Leuchten des Phosphors. Ber. der deutschen Chem. Gesellschaft. Bd. III. S. 87.

4) LEHMANN, l. c. In.-Diss. S. 82—89.

5) RADZISZEWSKI, Ber. der deutschen Chem. Gesellschaft. 1877. — Comptes rendus. Bd. LXXXV. 1877. S. 699. — RADZISZEWSKI wies bekanntlich nach, dass das Leuchten seiner Körper ein wirklicher Oxydationsprozess ist, welcher bei Sauerstoffabschluss aufhört.

stoff von einer oder mehreren Atmosphären Druck kann mithin durch das eigenthümliche Verhalten des Phosphors nicht erschüttert werden. Wenn aber das Sauerstoffgas von hoher Dichte bei physiologischen Oxydationsprozessen sich activ verhält, können wir die Ursachen seiner ungünstigen Wirkung nur darin suchen, dass er die Organismen direkt schädigt und verhindert, normal zu functioniren. In diesem Sinne kann der Sauerstoff als ein wirkliches Gift betrachtet werden, wenn vielleicht nicht aus der Reihe solcher Gifte, welche in geringsten Quantitäten schnell das Leben vernichten, so doch solcher, die bei längerer Einwirkung ernstliche Störungen in den Lebensfunctionen verursachen. Es ist dabei nicht ausgeschlossen, dass die Giftigkeit des Sauerstoffs mit seiner Dichte steigt, und dass bei gewisser Spannung der Sauerstoff augenblicklich tödtet. Dass verschiedene Organismen ungleiche Widerstandsfähigkeit in dieser Beziehung besitzen, lässt sich schon aus den Versuchen mit den Thieren verschiedener Klassen¹⁾ einerseits und mit den Pflanzen andererseits schließen.

Den toxischen Eigenschaften ist der Haupttheil des ungünstigen Einflusses comprimirten Sauerstoffgases zuzuschreiben. Ich habe aber beobachtet, dass der Druck indifferenten Gase, wie Stickstoff und Wasserstoff, obgleich in viel geringerem Grade, doch auch ungünstig auf das Wachsen der Pflanzen wirkt. Daraus darf man nur schließen, dass die Schädlichkeit des Sauerstoffs von hoher Spannung vielleicht nicht allein von seiner Toxicität herrührt, sondern auch andere Gründe hat. In Betreff der Natur der letzteren lassen sich zwei Hypothesen aufstellen: 1. der Druck als solcher übt einen ungünstigen Einfluss auf lebendige Organismen aus; 2. die bei normaler Dichte indifferenten Gase werden bei hoher Spannung schädlich.

Welche von den beiden Hypothesen die richtige ist, muss ich dahingestellt sein lassen, da es zur Zeit Nichts giebt, was mehr für die eine als für die andere spricht. Ich will nur mit wenigen Worten beweisen, dass keine a priori für unannehmbar erklärt werden kann.

Was die erste Vermuthung anbelangt, kann man nur als sicher betrachten, dass ein starker Gasdruck nicht durch dauernde partielle Aufhebung der Turgorkraft das Wachsthum beeinträchtigt. Eine solche Aufhebung kann jedoch momentan existiren, so lange die Spannung der Gase im Innern der Zellen und in den Intercellularräumen nicht ins Gleichgewicht kommt. Insofern es aber in den Organismen Räume (Gefäße in den Pflanzen) giebt, die mit den für Gase von verhältnismäßig hoher Pressung impermeablen Membranen begrenzt sind, können comprimirt Gase dadurch schädlich wirken, dass sie solche Räume zusammenpressen. Einen ähnlichen Einfluss nimmt schon BERT²⁾ an, indem er sagt, dass die Verstärkung oder

1) Vergl. BERT, l. c.; HERMANN — bei LEHMANN, PFLÜGER'S ARCHIV. Bd. XXVII. 1882. S. 422; LEHMANN, l. c.; OVERBEEK DE MEIJER, l. c.

2) BERT, La pression barométrique. S. 4134.

Verminderung des Druckes physikalisch-mechanische Folgen haben kann, wenn z. B. die Thiere geschlossene Luftbehälter besitzen. Andererseits ist es a priori nicht unwahrscheinlich, dass der Druck als solcher auf chemische Prozesse, die in den lebendigen Zellen vor sich gehen, einen Einfluss hat. Es sei hier nur erwähnt, dass nach CAILLETET¹⁾ mannigfaltige chemische Reactionen, wie Wasserstoffentwicklung, Auflösung der Metalle in Säuren u. s. w. unter hohem Luftdruck stark reducirt werden oder sogar ganz aufhören.

Die zweite Vermuthung ist nicht weniger berechtigt. Ich weise hier nur auf die Schädlichkeit der unentbehrlichen Nährstoffe bei großer Concentration hin. Die Giftigkeit einer Atmosphäre, deren Kohlensäuregehalt gewisse Grenzen überschreitet, ist eine bekannte Thatsache, ebenso wie der ungünstige Einfluss allzu concentrirter Nährlösungen. Was speciell die Wirkung der Gase von hohem Druck betrifft, so ist beispielsweise festgestellt, dass die reducirenden Eigenschaften des Wasserstoffs von seiner Pressung abhängig sind.²⁾ So z. B. scheidet der Wasserstoff aus salpetersaurem Quecksilberoxydul oder Quecksilberchlorid erst bei einem Druck von mehr als 400 Atmosphären das Metall aus. Das ist ein prägnanter Beweis, dass bei gewöhnlicher Dichte inactive Gase bei gesteigerter activ werden können.

1) CAILLETET, De l'influence de la pression sur les phénomènes chimiques. Comptes rendus. Bd. LXVIII. 1869. S. 395. — Die Beobachtungen von CAILLETET stehen in vollkommenem Einklange mit denen von BERTHELOT, BABINET und GMELIN. Vergl. Comptes rendus. Bd. LXVIII. 1869. S. 536 und 784.

2) Vergl. GRAHAM OTTO, Lehrbuch der anorganischen Chemie, neu bearbeitet von MICHAELIS. I. Abth. 1878. S. 427.

VII.

Über das Verhältniß von Pflanzen zu Bicarbonaten und über Kalkincrustation.

Von

Dr. Carl Hassack.

Das Vorkommen von kohlen-saurem Kalk als Incrustation von Wasserpflanzen ist eine sehr häufig beobachtete Erscheinung, welcher in Bezug auf ihre Entstehung zur Zeit eine sehr einfache, wenngleich kaum durch exakte Versuche begründete Erklärung gegeben wird; diese besteht darin, dass die unter Wasser lebenden Pflanzen ihren zur Assimilation nöthigen Kohlensäurebedarf nicht nur aus dem im Wasser gelösten Gase schöpfen, sondern auch die mit Calciumcarbonat zu saurem Salz verbundene Kohlensäure aufzunehmen im Stande sein und in Folge der Zerlegung des Bicarbonates eine Abscheidung des einfachen Carbonates hervorrufen sollen.

Nach der früheren, von BISCHOFF¹⁾ und von PAYEN²⁾ geäußerten Ansicht ist die Kalkhülle bei *Chara*, welche Pflanze von unsern Süßwassergewächsen derartige Incrustationen am regelmäßigsten und schönsten zeigt, als das Produkt einer Secretion zu betrachten. Die Bildung von Kalkschüppchen auf der Blattoberfläche mancher Pflanzen, wie *Saxifraga*-Arten und einigen Plumbagineen³⁾, ist zweifellos auf eine Excretion der Oberhautzellen, respective eigener Kalkdrüsen (VOLKENS) zurückzuführen, bei welcher eine Lösung von Calciumbicarbonat auf die Oberfläche ausgeschieden wird und durch die Verdunstung des Lösungsmittels eine Zerlegung des Salzes unter

1) Kryptogam. Gewächse Deutschl. u. d. Schweiz. 4. Liefg. 1828. p. 24.

2) Mem. prés. p. div. Savants etc. T. IX. 1846. p. 78.

3) BRACONNET, Ann. de Chim. et Phys. T. 63. 1836. p. 374. — METTENIUS, Filic. hort. bot. Lip. 40. — VOLKENS, Bot. Garten Berlin. II. p. 466 und Ber. d. deutsch. botan. Ges. 1884. p. 334.

Abscheidung von kohlensaurem Kalk erzeugt. Bei den Wasserpflanzen hingegen ist eine derartige Annahme wohl kaum zu rechtfertigen, denn einer eventuellen Secretion von gelöstem doppeltkohlensaurem Kalk auf die Oberfläche der Pflanzen wird keine momentane Zerlegung der Verbindung in dem umgebenden Wasser folgen; es fehlt ja an der Ursache dazu, die bei den erwähnten Landpflanzen die Verdunstung der ausgeschiedenen Flüssigkeit ist; und eine spontane Dissociation beim Übertreten des Secrets aus den Zellen in das Wasser ist nicht anzunehmen.

Die zuerst erwähnte, heute allgemein verbreitete Anschauung über die in Rede stehende Bildung, von RASPAIL¹⁾ aufgestellt und später von manchen anderen Forschern, wie COHN²⁾, HANSTEIN³⁾, WIEBEL und ZACHARIAS⁴⁾ u. a., weiter ausgeführt und verallgemeinert, hat sehr viel Wahrscheinlichkeit für sich, denn die Abscheidung von Calciumcarbonat aus kalkhaltigen Wässern in Folge freiwilliger Dissociation von Bicarbonat ist eine unumstößliche Thatsache; dass in diesem Falle die bei der Zerlegung frei werdende Kohlensäure von den Wasserpflanzen assimilirt werde, ist mit Recht anzunehmen. Wenn dieser rein chemische Prozess aber die alleinige Ursache der Kalkincrustationen ist, so müssen alle in kalkreichen Gewässern lebenden submersen Gewächse Kalküberzüge besitzen. Dies ist aber nicht der Fall, denn viele Wasserpflanzen zeigen keinen Kalkbelag (oder nur in seltenen Ausnahmefällen einen solchen), namentlich Algen, wie *Spirogyra*-, manche *Zygnema*-Arten, etc., auch wenn sie in sehr harten Wässern wachsen. Die verschiedenen im Wasser lebenden Gewächse verhalten sich also verschieden und es muss eine innigere Beziehung zwischen Pflanze und Bicarbonat vorhanden sein, als wie nach obiger Anschauung zu folgern ist; es müssen gewisse Pflanzen selbst einen thätigen Antheil an der Zerlegung des doppeltkohlensauren Salzes nehmen, ja wohl eine solche direkt veranlassen, während andere sich in dieser Hinsicht völlig passiv verhalten. Man wird in diesem Schlusse bestärkt durch die Beobachtung, dass, im Gegensatz zu den früher erwähnten kalkfreien Pflanzen, manchen Süß- und Salzwassergewächsen eine Kalkincrustation eigenthümlich ist, z. B. *Chara*, *Corallina*, *Cladophora*, *Halymeda*, *Chaetophora*, *Lithophyllum* und anderen Algen, ebenso bei *Elodea*, *Ceratophyllum*, *Myriophyllum*, *Potamogeton* etc. sehr häufig⁵⁾. Von dieser Folgerung ausgehend, dass manche Pflanzen die Fähigkeit haben, eine Zerlegung des Calciumbicarbonates hervorzurufen und sich dadurch unter Abscheidung von kohlensaurem Kalk Kohlensäure für die Assimilation zu schaffen, muss man zur Frage gelangen, können die

1) Nouveau système de chimie organique. 1833. p. 324.

2) Abhdlg. d. Schles. Gesellschaft. Bd. II. 1862. p. 52.

3) Botan. Zeitg. 1873. p. 694.

4) Ber. d. Berl. chem. Gesellsch. 1873. p. 182.

5) MELNIKOFF, Unters. über d. Vorkommen von kohlens. Kalk in d. Pflanzen. Dissert. Bonn. 1877.

Gewächse auch einen Theil der Kohlensäure anderen Bicarbonaten, z. B. den Alkalibicarbonaten entziehen?

Die Beantwortung der Frage wurde bisher noch nicht mit Sicherheit gegeben; DRAPER¹⁾ beschäftigte sich zuerst damit und glaubte die Frage bejahen zu dürfen. Er brachte grüne Blätter in eine mit sehr verdünnter Natriumbicarbonat-Lösung gefüllte und mit dem offenen Ende in der gleichen Lösung stehende Eprouvette und setzte dieselben dem Lichte aus, wobei er die Entwicklung von Sauerstoff beobachtete. Welche Pflanzen DRAPER zu diesem Versuche verwendete und ob er den Versuch derartig anstellte, dass das Vorhandensein von freier Kohlensäure in der Lösung ausgeschlossen war, geht aus seiner Abhandlung nicht hervor; es kann auch die allmähliche Assimilation einer gewissen in den Intercellularen der Pflanzen vorhandenen Kohlensäuremenge eine immerhin beträchtliche Sauerstoffproduction (welche DRAPER als Indicator betrachtete) ermöglichen, ohne dass Kohlensäure aus dem Bicarbonat aufgenommen zu werden braucht; es sind diese Versuche daher nicht entscheidend. Kurz darauf hat in der That GRISCHOW²⁾ gegentheilige Beobachtungen gemacht, so dass die Frage noch völlig offen steht.

Auf Anregung des Herrn Professor DR. PFEFFER, welcher in seiner Pflanzenphysiologie³⁾ schon auf die erwähnten Verhältnisse hingewiesen hat, begann ich während eines mehrmonatlichen Aufenthaltes im Sommer 1886 in Tübingen in dem dortigen pflanzenphysiologischen Institute eine Reihe von Versuchen über den Gegenstand. Leider war es mir bisher nicht möglich und wird mir auch in nächster Zeit nicht möglich sein, die Experimente, die sich in mancher Hinsicht interessant gestalteten, zum Abschluss zu bringen. Ich sehe mich deshalb genöthigt, die bisherigen Ergebnisse der Untersuchung zu veröffentlichen und soweit als thunlich Schlüsse daraus zu ziehen, es ferneren Studien überlassend, die Frage weiter zu verfolgen und auszubauen.

Die Versuche wurden nach zwei Richtungen hin ausgeführt; es sollte einerseits die Zerlegung von Alkalibicarbonaten durch Pflanzen (unter theilweiser Entziehung der Kohlensäure der Salze) studirt, andererseits die Kalkincrustation mancher Wassergewächse nach ihren Ursachen und ihrem Verlaufe untersucht werden.

Zunächst wiederholte ich den Versuch DRAPER's in derartig modificirter Ausführung, dass die in der Einleitung diesbezüglich geltend gemachten Einwände wegfallen mussten. Zu demselben wurden Zweige von *Elodea canadensis* Rich. und *Ceratophyllum submersum* L. benutzt und in Gefäßen

1) Ann. d. chim. et phys. 1844. III. Ser. Bd. 11. p. 223.

2) Journ. f. prakt. Chemie. Bd. 34. 1845. p. 170.

3) p. 66. u. 200.

cultivirt, bei denen ein Zutritt von Kohlensäure aus der Luft hintangehalten wurde. Die Pflanzen wurden in Cylindergläsern mit breitem, mattgeschliffenem Rande gehalten, welche mit matten Glasplatten bedeckt wurden; in eine 2 cm weite, mittlere Durchbohrung jeder Platte war ein Kork eingepasst, durch welchen ein Glasrohr führte, das mit einem U-förmigen Rohr in Verbindung stand; das letztere wurde mit in Kalilauge getränkten Bimssteinstückchen gefüllt. Nachdem die Pflanzen in die mit etwa 300 ccm Versuchsflüssigkeit beschickten Gläser eingebracht waren, wurden die Deckplatten mittelst Fett völlig luftdicht aufgesetzt und die in dieselben eingepassten Korke des vollkommenen Verschlusses wegen mit Klebwachs gedichtet. Ein Luftzutritt in das Gefäß konnte mithin nur durch das U-Rohr geschehen, dessen Füllung eine vollkommene Absorption der Kohlensäure der Luft bewirkte. Als Versuchsflüssigkeit wurde theils reines Regenwasser, theils eine verdünnte Lösung von Natriumbicarbonat in Regenwasser verwendet; das benutzte Wasser wurde zuerst durch längeres Kochen von darin gelösten Gasen befreit, hierauf eine Zeit lang kohlenstofffreie Luft hindurchgeleitet, um wieder Sauerstoff in Lösung zu bringen.

Mit beiden Pflanzenarten wurden je drei Versuche gemacht; die Gefäße *A* enthielten 0,4%ige Lösung von doppelkohlenstoffsaurem Natrium, *B* eine Lösung von 0,05% Gehalt an diesem Salz, *C* nur von Kohlensäure befreites Regenwasser; darin wurden einerseits *Eloдея*-, andererseits *Ceratophyllum*-Zweige im Sonnenlichte cultivirt. Während der ersten drei Versuchstage zeigte sich kaum ein Unterschied zwischen den entsprechenden Pflanzen, indem alle drei einen ziemlich gleichmäßigen, raschen Strom von kleinen Sauerstoffbläschen entwickelten. Am 6. Tage war die Gasentwicklung in den Gefäßen *A* und *B* jeder Versuchsreihe andauernd lebhaft und continuirlich während der Besonnung, während die Pflanzen in den Cylindern *C* einen bedeutend langsameren Blasenstrom entließen. Am 8. Tage entwickelte ein *Eloдея*-Zweig im Gefäße *A* um 2^h Nm. durchschnittlich 400 Bläschen pro Minute, in *B* etwa 45, in *C* nur 40—42 Bläschen in derselben Zeit; am 9. Tage stiegen in *A* von einem Zweig der *Eloдея* 80, in *B* 35 Sauerstoffblasen in der Minute auf, während die Gasentwicklung in *C* beinahe ganz aufgehört hatte. Die gleichzeitig angestellten Versuche mit *Ceratophyllum* zeigten das verschiedene Verhalten von Pflanzen in Natriumbicarbonatlösung und in Regenwasser noch viel auffallender; denn während am 6. Tage in den Cylindern *A* und *B* eine lebhaft Gasentwicklung stattfand, war im Gefäß *C* vom 4. Tage an die Ausscheidung sistirt. Am 10. Tage wurden die benutzten Gewächse mikroskopisch untersucht, die Zellen derselben wurden durchwegs frisch und lebend mit continuirlicher Protoplasmaströmung angetroffen. Das Ergebnis dieses Versuches bestätigt die Angabe DRAPER'S über die Zerlegbarkeit des Natriumbicarbonates durch Pflanzen.

Eine weitere Bestätigung erfuhr das Versuchsergebnis aber noch durch die Untersuchung der Lösungen nach Beendigung des Experimentes; denn wenn die Pflanzen einen Theil der Kohlensäure aus dem Bicarbonat assimilirt hatten, so musste sich einfaches Carbonat gebildet haben und dieses sich durch die alkalische Reaction der Flüssigkeiten zu Ende des Versuches nachweisen lassen. Diese Vermuthung traf in der That ein; die Lösungen aus A und B beider Versuchsreihen gaben mit Phenolphthalein eine intensive Rothfärbung, empfindliche Lackmustinctur wurde rein blau gefärbt, und »Blau Poirier« (das nach neueren Angaben zur Unterscheidung von normalem und saurem Natriumcarbonat dienen soll) färbte sich in der Flüssigkeit schmutzig blau mit violettem Stich; die alkalische Reaction musste auf eine Kohlensäureentziehung unter Bildung von etwas gewöhnlicher Soda hinweisen. — Ein Parallelversuch mit 0,4%iger NaHCO_3 -Lösung, welche für sich unter Abschluss der atmosphärischen Kohlensäure sieben Tage im Sonnenlichte stand, ergab, dass eine freiwillige Dissociation des Salzes nicht stattgefunden hatte, denn es verursachte Phenolphthalein nur eine kaum erkennbare Rosafärbung, Lackmustinctur behielt die rein violette neutrale Farbe und Blau Poirier blieb unverändert blau.

Bei Gelegenheit der Prüfung der Reaction mit Phenolphthalein machte ich eine interessante Beobachtung, welche an diesem Platze von untergeordneter Bedeutung ist, auf welche ich aber im Folgenden zurückkommen müssen, weil sie für spätere Versuche große Wichtigkeit erlangte; es wurde nämlich auch das Regenwasser aus den Gefäßen C, in welchem vergleichsweise *Elodea*- und *Ceratophyllum*-Pflanzen im Lichte gehalten worden waren, auf seine Reaction geprüft und dabei eine deutlich alkalische Beschaffenheit des Wassers nachgewiesen. Es hatte also im Lichte wahrscheinlich eine Alkaliabscheidung von Seiten der Pflanzen stattgefunden, denn eine anderweitige Entwicklung von Alkali ist unter den gegebenen Verhältnissen völlig ausgeschlossen. — Auf diese Erscheinung hat auch KLEBS¹⁾ hingewiesen, auf dessen diesbezügliche Bemerkung ich im Folgenden zurückkommen werde.

Nachdem ich durch die eben beschriebenen Experimente die Zerlegung von Natriumbicarbonat durch die Wasserpflanzen qualitativ festgestellt hatte, versuchte ich, dieselbe auf quantitativem Wege zu bestimmen, um dadurch eine weitere Bestätigung für den Gegenstand zu bekommen. Auch dieser Versuch wurde mit *Elodea* und *Ceratophyllum* durchgeführt. Es wurde zunächst eine größere Quantität Natriumbicarbonatlösung in nach der vorerwähnten Weise präparirtem Regenwasser hergestellt, welche im Liter genau 4,5 g des sauren Salzes enthielt; mit je 2 l dieser Flüssigkeit wurden 3 große Cylindergläser gefüllt. In das I. Gefäß wurde eine Anzahl frischer *Elodea*-Pflanzen, in das II. *Ceratophyllum* gebracht, während

1) Tübinger Untersuchungen. Bd. II. p. 340.

die Lösung im III. Cylinder für sich stehen bleiben und zum Vergleich dienen sollte. Alle drei Gläser wurden derartig aufgestellt, dass nur völlig kohlenstofffreie Luft zur Flüssigkeit treten konnte; jeder Cylinder wurde auf eine matte Glastafel gesetzt und mit einer am Rande eingefetteten Glasglocke bedeckt, deren obere Tubulatur einen gut schließenden Kautschuckpfropf trug, durch dessen mittlere Bohrung ein $4\frac{1}{2}$ cm weites, doppelt U-förmig gebogenes Rohr eingesetzt war; das U-Rohr wurde mit in Kalilauge getränktem Bimsstein beschickt.

Die so arrangirten Gefäße wurden mit ihrem Inhalt 12 Tage im Lichte stehen gelassen, während welcher Zeit in den Gläsern I und II eine lebhaft Assimilation bemerkbar war; hierauf wurden die Glocken abgenommen, die Pflanzen herausgehoben und sorgfältig mit destillirtem Wasser abgespült; die Spülwässer wurden mit den zugehörigen Flüssigkeiten vereinigt, diese zur Wegschaffung von Unreinlichkeiten filtrirt und mit destillirtem Wasser auf 2,5 l verdünnt.

Eine directe Analyse dieser Flüssigkeitsmengen behufs Bestimmung der Kohlensäure durch Zerlegung der Carbonate mit Säure war bei dem großen Volumen der Flüssigkeiten nicht thunlich, ebenso konnten dieselben nicht vor der Zerlegung durch Eindampfen concentrirt werden, weil eine Dissociation und damit ein Verlust an Kohlensäure stattgefunden haben würde. Deshalb musste ich zu einem indirecten Verfahren greifen, bei welchem zunächst die vorhandene Kohlensäure an einen festen Körper gebunden werden sollte, dessen Analyse besser auszuführen war; wenn die eingeschlagene Methode auch nicht den Anspruch machen kann, völlig exakt zu sein, so lieferte sie, wie die Controllsbestimmung zeigte, doch immerhin genügend genaue Resultate. Die Hälfte einer jeden der 3 Flüssigkeiten, aus den Gefäßen I und II also 1,25 l, aus III 1 l (hier war natürlich ein Filtriren und Verdünnen überflüssig), wurde in einem großen Becherglase mit frischer Barythydratlösung versetzt, im Wasserbade eine Zeitlang erwärmt, damit sich der entstandene Niederschlag besser absetze, hierauf filtrirt und der auf dem Filter gesammelte Niederschlag mit ausgekochtem destillirtem Wasser sorgfältig ausgewaschen. Alle diese Operationen wurden im Freien ausgeführt und die Gefäße möglichst bedeckt gehalten, um die Absorption von atmosphärischer Kohlensäure durch das überschüssig zugesetzte Barytwasser auf ein Minimum zu reduciren. Der ausgewaschene Niederschlag wurde sammt dem Filter in ein weithalsiges Kölbchen gebracht und damit eine Kohlensäurebestimmung nach der gebräuchlichen Methode und unter den gewöhnlichen Vorsichtsmaßregeln, durch Zerlegung des Carbonates mittelst Salzsäure und Auffangen der frei werdenden Kohlensäure im LIEBIG'schen Kaliapparat durchgeführt.

Die Flüssigkeit aus dem Gefäße III, in welcher keine Pflanzen gehalten worden waren, ergab bei der Analyse, 0,7905 g CO_2 für die zur Prüfung verwendete Flüssigkeitsmenge (1 l), also für die ganze Menge von 2 l

4,5840 g; ursprünglich waren genau 3 g NaHCO_3 in 2 l Wasser aufgelöst worden, welche rechnungsgemäß 4,5740 g CO_2 enthalten mussten. Die Übereinstimmung zwischen der analytisch ermittelten und der berechneten Menge ist mithin eine ganz zufriedenstellende in Anbetracht der Fehler, welche bei der beschriebenen, etwas complicirten Manipulation leicht möglich sind; diese Bestimmung ist aber nicht nur ein Prüfstein für die Brauchbarkeit der angewandten Methode, sondern zeigt zugleich, dass eine freiwillige Dissociation des doppeltkohlensauren Natriums in der Lösung unter dem Einfluss des Lichtes nicht stattgefunden hat, wie eine solche z. B. beim Stehen einer Lösung im Vacuum oder beim Kochen derselben eintritt.¹⁾

Die Lösung I, welche zur Cultur von *Elodea* gedient hatte, ergab, nach der gleichen Methode untersucht, einen Gehalt von 4,242 g CO_2 für 2,5 l der gesammten verdünnten, d. i. für 2 l der ursprünglichen Lösung; dies giebt im Vergleich zu den darin ursprünglich aufgelösten 3 g Natriumbicarbonat mit 4,574 g CO_2 -Gehalt einen Verlust von 0,359 g CO_2 , welche Menge von der Pflanze aus dem Bicarbonat aufgenommen und zur Assimilation verwendet worden sein musste. Während der 42 Tage ihres Aufenthaltes in der Lösung haben die Pflanzen mithin 4,3707 g Natriumbicarbonat, d. i. 45,7 % der Gesammtmenge, unter Entziehung der halben darin enthaltenen Kohlensäuremenge, in einfaches Carbonat verwandelt. — Der mit *Ceratophyllum* angestellte Versuch II lieferte ein ganz analoges Resultat; die Analyse der Lösung nach 42 tägiger Cultur der Pflanzen wies einen Entgang von 0,643 g CO_2 nach, entsprechend einer Menge von 2,3405 g Natriumbicarbonat (76 % der Gesammtmenge), welche durch den Lebensprozess der Pflanzen zerlegt und in normales Carbonat übergeführt worden war, dadurch die zur Assimilation nöthige Kohlensäure abgegeben hat.

Um endlich noch einen weiteren Beweis zu liefern, dass die halbgebundene Kohlensäure der Alkalibicarbonate von Wasserpflanzen aufgenommen und assimilirt werden kann, wurden verschiedene Pflanzen, denen durch eine längere Cultur im Dunkeln die Stärke entzogen worden war, in Lösungen von Natriumbicarbonat unter völligem Abschluss der atmosphärischen Kohlensäure im Lichte wachsen gelassen und nach einigen Tagen auf etwa gebildete Stärke geprüft. Auch dieses Experiment wurde zuerst mit *Elodea canadensis* durchgeführt, von welcher einige Exemplare nach 48 tägigem Aufenthalt im Dunkelkasten sich vollkommen entstärkt zeigten. Die Prüfung wurde stets makroskopisch nach der Methode von SACUS ausgeführt, durch mehrmaliges Kochen einiger Blätter mit Wasser, behufs Tödtung der Zellen, Auskochen mit Alkohol zur Entfernung des Chlorophylls und Reaction mit verdünnter Jod-Jodkaliumlösung.

1) GMELIN-KRAUT, Handbuch d. Chemie. II. Bd. p. 455.

Von den gänzlich von Stärke befreiten Pflanzen wurden einige in 300 ccm Lösung von 0,4 % Gehalt an Natriumbicarbonat, andere in 0,2 %ige Lösung des Salzes gebracht und in denselben Gefäßen, wie bei den zuerst beschriebenen Versuchen angewendet worden waren, unter Ausschluss der Kohlensäure der Luft in direktem Sonnenlichte stehen gelassen; gleichzeitig wurde ein Parallelversuch mit entstärkten *Elodea*-Pflanzen in ausgekochtem Regenwasser unter sonst gleichen Bedingungen angestellt. Am zweiten Nachmittage nach Beginn des Experimentes wurden aus jedem der drei Gläser einige Blättchen von den Pflanzen entnommen und auf Stärke geprüft; die Proben aus den beiden Salzlösungen ließen eine deutliche Stärkereaction erkennen, während die in reinem Wasser gewachsenen Pflanzen völlig frei von Stärke geblieben waren. Nach weiteren drei Tagen wurde die Prüfung auf Amylum wiederholt, die Reaction ergab in den beiden ersten Fällen eine sehr intensive Blaufärbung, im dritten Falle ließ sich hingegen keine Stärke nachweisen. — Zugleich wurden auch völlig stärkefreie *Elodea*-Pflanzen in ausgekochtem Regenwasser in lose zugedeckten Gefäßen im Sonnenlichte stehen gelassen, so dass ein Zutritt von atmosphärischer Kohlensäure möglich war; 5 Tage nach Beginn des Versuches ergaben diese Pflanzen eine schwache Blaufärbung durch Jod, enthielten also bedeutend weniger Stärke als die in Bicarbonatlösung gehaltenen Exemplare, — ein weiterer Beweis für die Aufnahmefähigkeit der halbgebundenen Kohlensäure durch Pflanzen.

Zur Verallgemeinerung des an *Elodea* beobachteten Verhaltens wurden die Versuche auch auf andere Wasserpflanzen ausgedehnt und dazu *Ceratophyllum submersum* L., *Nitella gracilis* Al. Br., *Chara foetida* Al. Br., *Potamogeton pusillus* L. und *Calytriche autumnalis* L. so lange im Dunkeln gehalten, bis das Fehlen einer Blaufärbung bei der SACHS'schen Reaction das gänzliche Verschwinden von Stärke in den Blättern anzeigte, und dann unter den gleichen Bedingungen wie *Elodea* cultivirt. Die in 0,4 procentiger Natriumbicarbonatlösung unter Kohlensäureabschluss im Lichte stehenden Pflanzen ließen durchwegs nach wenig Tagen deutlich das Auftreten von Stärke erkennen, während die in Regenwasser gehaltenen Gewächse ein negatives Resultat bei der Reaction gaben.

Nach den Ergebnissen der beschriebenen Experimente ist die schwebende Frage über die Zerlegbarkeit von Bicarbonaten durch Pflanzen dahin zu entscheiden, dass die Wasserpflanzen im Stande sind, einen Theil der Kohlensäure den gelösten Alkalibicarbonaten zu entziehen und zu assimiliren, also eine Überführung der doppeltkohlensauren Salze in die normalen Verbindungen zu bewirken. — Es wäre jedoch noch sehr wünschenswerth, ähnliche Versuche, wie die angegebenen, auf eine größere Zahl von Wassergewächsen auszudehnen und auch die Bicarbonate anderer Alkalimetalle

in den Kreis der Untersuchung zu ziehen; leider bin ich derzeit nicht in der Lage dies zu thun und muss die endgültige Bestätigung des aufgestellten Satzes anderen überlassen.

Gleichzeitig mit den Versuchen über die Assimilation der halbgebundenen Kohlensäure der Alkalibicarbonate durch Pflanzen beschäftigten mich Experimente über die **Bildung der Kalkincrustation auf Wasserpflanzen**. Zunächst beobachtete ich die Abscheidung von Calciumcarbonat auf einigen Gewächsen, welche in ihrem natürlichen Vorkommen theils Kalkbelag zeigen, theils einen solchen nicht besitzen. Stets wurden die verwendeten Pflanzen zuerst mikroskopisch untersucht und, im Falle sie Incrustation zeigten, von derselben befreit; zu diesem Behuf wurde jedes Gewächs in Regenwasser gebracht, in dieses durch 4—2 Stunden ein langsamer Strom von Kohlensäure geleitet und einige Zeit ruhig stehen gelassen; nach wenigen Stunden war jede Spur von kohlensaurem Calcium auf der Oberfläche der Blätter etc. verschwunden.

Das kalkhaltige Wasser wurde künstlich dargestellt; reiner Ätzkalk wurde mit Regenwasser stehen gelassen, das klare Kalkwasser abgezogen und Kohlensäure so lange eingeleitet, bis sich das zuerst ausgefällte kohlensaure Calcium wieder möglichst gelöst hatte, hierauf noch einige Zeit Luft hindurchgeleitet, um einerseits die freie Kohlensäure thunlichst wegzuschaffen und zugleich Sauerstoff in Lösung zu bringen, endlich die klare Flüssigkeit von dem ungelöst gebliebenen Niederschlage abgezogen. Die auf solche Weise hergestellte Lösung enthielt nach einer quantitativen Analyse im Liter 0,88 g Calciumcarbonat, also 4,425 doppeltkohlensaures Calcium (0,44 %).

Bei den ersten Versuchen wurden je zwei Cylindergläser mit etwa 200 ccm frisch bereitetem Kalkwasser als Inhalt, mit mehreren Exemplaren derselben Pflanzenspecies beschiekt und stets eines der beiden Gefäße ans Fenster in directes Sonnenlicht, das andere nach dem von den Fenstern entferntesten Theile des Laboratoriums, also in zerstreutes Tageslicht gebracht und lose mit Glasplatten zugedeckt. Es wurden zu den Versuchen verwendet: *Elodea canadensis*, *Vallisneria spiralis*, *Ceratophyllum submersum*, *Chara foetida*, *Spirogyra*, *Zygnema*, *Cladophora* und *Oedogonium*, ferner auch Blätter und Triebe von verschiedenen Landpflanzen, wie *Ulmus campestris*, *Cornus sanguinea*, *Polygonum fagopyrum*, *Sinningia atropurpurea*, *Nerium Oleander* etc.; endlich wurden einige auf der Oberfläche des Wassers schwimmende Pflanzen in die Versuche einbezogen, wie *Lemma*, *Trianea bogotensis*, *Pistia stratiotes*, um eventuelle Abscheidung von Kalk an den Wurzeln beobachten zu können; diese wurden in auf dem Kalkwasser schwimmenden Korkringen wachsen gelassen. —

Die Versuche mit den schwimmenden Pflanzen und den Land-

pflanzenblättern ergaben negative Resultate; bei den ersteren war dieses Ergebnis wohl mit einiger Sicherheit vorauszusehen, da man weiß, dass die Wurzeln der meisten Pflanzen freie Säure abscheiden; es muss daher ein etwa sich an Wurzeln absetzender Kalkbelag auch angegriffen, und nicht nur das Bicarbonat unter Kohlensäureabgabe in das normale Salz übergeführt werden. HALLIER's¹⁾ Beobachtung eines weißen, aus kohlensaurem Calcium bestehenden Belages an den Wurzeln einer Myrthe, welche in einem Thontopf gehalten wurde, muss auf eine Incrustation in Folge Verdunstung des Wassers der Erde und Austrocknung der Wurzeln zurückgeführt werden, wobei die Säureabscheidung der Wurzeln unterdrückt und so eine Anlegung von Kalk möglich war.

Hingegen war das Fehlen einer Kalkincrustation an den in kalkreichem Wasser gehaltenen Laubblättern überraschender. Es zeigten sich zahlreiche kleine Calcitkrystalle nach wenigen Tagen schon auf der Oberfläche der Flüssigkeit schwimmend und am Boden der Gefäße abgesetzt, während die Blätter nach einfachem Abspülen mit Wasser keinerlei Kalkbelag aufwiesen. Wenn sich also auch Calciumcarbonat durch spontane Dissociation des gelösten Calciumbicarbonates ausgeschieden und vielleicht theilweise selbst an den Blättern abgelagert hat, so war diese Ablagerung eine sehr lose, weil die Kryställchen schon vom Spülwasser weggenommen wurden; man kann daher hier von keiner Incrustation sprechen und muss annehmen, dass eine solche nur bei Pflanzen stattfindet, die in innigerer Beziehung zu den im Wasser gelösten Salzen stehen, wie das von den Wasserpflanzen behauptet werden kann. Ein echter Kalküberzug, wie er z. B. an *Chara*, *Cladophora*, *Elodea* etc. auftritt, wird auch durch das ausgiebigste Abspülen mit Wasser nicht entfernt, muss mithin mit dem Lebensprozess der Pflanzen in Zusammenhang stehen, während bei den unter Wasser gebrachten Laubblättern ein solcher Zusammenhang nicht vorhanden ist.

Die Exemplare von *Elodea*, *Vallisneria*, *Ceratophyllum*, *Chara*, *Cladophora* und *Oedogonium*, welche in Kalkwasser im Sonnenlicht gestanden hatten, zeigten nach 3—6 Tagen eine starke Incrustation unter dem Mikroskop; an der Blattoberfläche von *Elodea*, *Vallisneria*, *Ceratophyllum* und an den Fäden von *Cladophora* und *Oedogonium* bestand der Belag aus 0,004 — 0,012^{mm} großen Kryställchen, theils regelmäßigen Rhomboëdern und unregelmäßigen Drusen, theils aus büschel- oder bisquitförmigen Krystallen, während an den Trieben von *Chara* Querbänder, aus unregelmäßigen kleinen Körnchen bestehend, die Incrustation darstellten, wie sie in gleicher Weise bei den natürlich in harten Wässern vorkommenden Charen zu beobachten ist. — Bei den im zerstreuten Tageslichte befindlichen Pflanzen dieser Versuchsreihe fehlte jede halbwegs bedeutende Ablagerung von Calciumcarbonat und die wenigen zerstreut vorhandenen Kryställchen konnten durch Abspülen

1) Botan. Zeitung. 1867. p. 80.

mit Wasser leicht entfernt werden; als nach 8 tägigem Stehen im diffusen Lichte diese Pflanzen ins direkte Sonnenlicht gebracht wurden, bildete sich nach wenigen Tagen ein reichlicher, festhaftender Kalküberzug an ihnen, genau so wie bei den von Anfang an im Sonnenlichte gehaltenen Wasserpflanzen. Es findet mithin eine Incrustation nur dann statt, wenn die Wasserpflanzen lebhaft assimiliren, wie dies im Sonnenlichte der Fall ist, während die freiwillige Zerlegung des Calciumbicarbonates, welche auch im diffusen Lichte vor sich geht, keine Kalkablagerung an den Gewächsen zur Folge hat. An den Fäden von *Zygnema* und *Spirogyra* hingegen konnte auch bei den in direktem Sonnenlicht cultivirten Exemplaren keine Incrustation beobachtet werden; was hier die Ursache des Fehlens einer solchen ist, muss weiteren Versuchen überlassen bleiben, vielleicht ist die Oberflächenbeschaffenheit eine derartige, dass eine Kalkanlagerung nicht stattfinden kann, oder es gehen neben der Assimilation noch andere Prozesse vor sich, welche einer Incrustation entgegenwirken.

Versuche, welche mit 0,12 procentigen Lösungen von Magnesiumbicarbonat (die auf ähnliche Weise wie jene von Calciumbicarbonat dargestellt worden waren,) an einigen der mehrfach erwähnten Wasserpflanzen ausgeführt wurden, ergaben ganz ähnliche Resultate; auch Magnesiumcarbonat setzte sich aus der Bicarbonatlösung an den lebhaft assimilirenden, im Lichte gehaltenen Gewächsen, analog der Kalkincrustation ab, in Form kleiner prismatischer oder stäbchen- und knochenförmiger Kryställchen.

Die bei den Experimenten über die Zerlegung des Natriumbicarbonates durch Wasserpflanzen gemachte Beobachtung, dass bei lebhafter Assimilation eine alkalische Reaction der Flüssigkeiten, wahrscheinlich in Folge von Alkaliausscheidung durch die Pflanzen eintritt, gegenübergehalten den zuletzt besprochenen Versuchsergebnissen, dass die Gewächse eine Kalkincrustation nur zur Zeit einer regen assimilatorischen Thätigkeit erleiden, musste zu der Vermuthung führen, dass die beiden Vorgänge in einem innigen Zusammenhang stehen, derart, dass die Alkaliabscheidung eine Zerlegung des gelösten Calciumbicarbonates unter Abscheidung von normalem Carbonat auf den Pflanzen bedinge. Zur Beantwortung dieser Frage studirte ich zunächst die Alkaliausscheidung etwas näher, und zwar an *Chara* und *Oedogonium*, welche zunächst im Sonnenlichte und in diffussem Lichte gehalten wurden. Bei den im Sonnenlicht stehenden Pflanzen zeigte das Wasser nach wenigen Stunden mit Phenolphthalein deutliche Rothfärbung, also alkalische Reaction, während bei dem in zerstreutem Tageslicht aufgestellten Parallelversuche eine solche nicht zu beobachten war. Zur weiteren Feststellung der Alkaliausscheidung wurden einige Exemplare von *Chara* und *Oedogonium* durch abwechselndes Eintauchen in 0,25 procentige

Lösungen von citronensaurem Eisenoxyd und von gelbem Blutlaugensalz mit Berlinerblau gefärbt (KLEBS), welches die Zellwände der Pflanzen gleichmäßig und stark tingirte, so dass die Pflanzen rein blau gefärbt erschienen. Nach 6 stündigem Stehen der so behandelten Exemplare in Wasser im Sonnenlichte war die blaue Farbe in das normale Grün übergegangen und es erschienen die Zellwände selbst unter dem Mikroskop wieder farblos, eine Erscheinung, welche auf die Alkaliabscheidung der Pflanzenzellen im Sonnenlicht und eine dadurch hervorgerufene Zersetzung des Berlinerblaus zurückzuführen ist.

Zum weiteren Studium der berührten Frage wurden nun einige, durch kohlenensäurehaltiges Wasser von ihrer ursprünglich vorhandenen Kalkhülle befreite Exemplare von *Chara* in Lösungen von verschiedenen Calciumsalzen gehalten, bei denen von einer freiwilligen Zersetzung unter Abgabe von Calciumcarbonat keine Rede sein konnte; steht die Kalkincrustation von *Chara* mit der Ausscheidung von Alkali in Zusammenhang, so musste auch hier eine derartige Bildung bemerkbar werden, indem eine Fällung der Kalksalze durch das Alkali geschehen musste. Die folgenden Versuche bestätigen diese Annahme.

Einige kräftige Exemplare wurden durch Einleiten von Kohlensäure in das sie beherbergende Regenwasser zunächst völlig von ihrem Kalkbelag befreit, hierauf in eine Lösung von 0,4 % Calciumnitrat gebracht und dem Sonnenlichte ausgesetzt. Nach 12 Tagen ließen alle Theile der Pflanzen, namentlich die jüngeren Stamminternodien und Äste, einen dichten Überzug von kohlenensaurem Calcium in Form von aus kleinen Kryställchen zusammengesetzten Querbändern erkennen, von genau dem gleichen Aussehen, wie es die Charen vor dem Entkalken gezeigt hatten. — Ein nächstes Experiment wurde mit 0,4 procentiger Lösung von Calciumacetat auf dieselbe Weise durchgeführt und dabei das nämliche Resultat erhalten, und dies war auch der Fall, als entkalkte *Chara*-Exemplare in Lösungen von je 0,4 % Calciumacetat, Calciumchlorid und von Calciumsulfat mehrere Tage im direkten Sonnenlichte gehalten wurden. Der sich bei allen diesen Versuchen bildende Überzug an den Pflanzen zeigte stets das gleiche, oben beschriebene Aussehen und wurde stets durch die Reactionen mit Essigsäure und mit Schwefelsäure als aus reinem kohlenensauren Kalk bestehend erkannt.

Dass die Incrustation mit Calciumcarbonat an *Chara* bei deren Aufenthalt in verschiedenen Kalksalzlösungen nicht die Folge einer direkten Kalkausscheidung der Pflanzen ist, wie sie BISCHOFF und PAYEN seinerzeit angenommen haben, wurde durch zwei weitere Experimente zu beweisen versucht. Mehrere stark incrustirte Charen wurden aus der Lösung von Calciumacetat genommen, so rasch als möglich mit kohlenensäurehaltigem Wasser entkalkt und dann in reines Regenwasser ins Sonnenlicht gebracht. Es entstand keine Spur einer weiteren Incrustation, wie es hätte der Fall sein

müssen, wenn die Zellen das Calciumbicarbonat in sich erzeugen und nach außen abscheiden würden. Endlich wurden entkalkte *Chara*-Exemplare zwischen Korkstücken befestigt und mit diesen ein weites Glasrohr einseitig verschlossen, derart, dass die obere Hälfte der Pflanzen sich im Rohr befand, während die andere außerhalb der Röhre war. Die Röhre wurde mit dem so verschlossenen einen Ende in eine 0,4 procentige Lösung von Calciumacetat eingetaucht, und mit reinem Wasser so weit angefüllt, dass dasselbe etwas höher als die im äußeren Gefäße befindliche Salzlösung stand; das Wasser in der Röhre wurde häufig gewechselt. Es fand keine Kalkincrustation an den in der Röhre befindlichen Theilen der Pflanzen statt.

Es tritt somit eine Kalkabscheidung an *Chara* stets ein, wenn Kalksalze von was immer für einer Zusammensetzung in dem umgebenden Wasser gelöst enthalten sind; es ist keinesfalls die Dissociation von gelöstem Calciumcarbonat allein die Ursache einer Incrustation, sondern wahrscheinlich bewirkt die Ausscheidung von Alkali von Seiten der Pflanze während der Assimilation eine Fällung von kohlen-saurem Kalk auf der Oberfläche der Gewächse, und es muss angenommen werden, dass kohlen-saures Alkali secernirt wird. Ob außer *Chara* auch andere Wasserpflanzen, welche Kalkbelag zeigen, im Stande sind, in verschiedenen Kalksalzlösungen solche Incrustationen zu entwickeln, muss dahingestellt bleiben. Fernere Versuche, die auszuführen mir leider nicht vergönnt war, werden lehren, ob eine Verallgemeinerung der über *Chara* ausgesprochenen Anschauung erlaubt ist.

Bei den Pflanzen, welche an der Tuffbildung theilnehmen, also namentlich Moosen, wie *Gymnostomum* und *Hypnum*, über die UNGER¹⁾ interessante und schöne Beobachtungen veröffentlicht hat, fällt natürlich die Nothwendigkeit einer derartigen Annahme, dass durch die Thätigkeit der Pflanzen ein Kalkabsatz aus hartem Wasser entstehe, weg, weil hier ja die nothwendige Verdunstung des Lösungsmittels des Calciumbicarbonates beim Überrieseln der Moose und die dadurch bedingte Zerlegung des sauren Salzes eine völlig ausreichende Erklärung abgiebt.

Wien, im Juni 1887.

1) Über Moose und Tuffbildung. Ber. d. kais. Akad. d. W. Wien. Bd. 43. 1861. II. p. 509—516.

VIII.

Beiträge zur Kenntnis der Substratrichtung der Pflanzen.

Von

Dr. Sándor Dietz,

Assistent an dem botanischen Institut der k. ung. Universität Budapest.

Dass das Substrat eine gewisse Richtkraft auf die aus ihm hervortretenden Organe ausübt, wurde schon von DUTROCHET¹⁾ angenommen, und mit Rücksicht auf diese Thatsache kann man mit Recht von Substratrichtung reden²⁾. Aber durch welche Umstände das Substrat richtend wirkt, ist noch nicht genügend untersucht.

Thatsache ist, dass eine Substratrichtung der Pflanzen besteht und dass dieselbe bei Rotation am Klinostaten auftreten kann, wie von SACHS³⁾ nachgewiesen wurde. In den Versuchen dieses Forschers standen die Sporangienträger von *Mucor Mucedo* L. und *Phycomyces nitens* Kze. auf den Flächen des Brodwürfels und die Keimpflanzen von *Lepidium sativum* L. und *Linum usitatissimum* L. auf den Flächen eines Torfwürfels annähernd senkrecht.

Als Ursache dieser senkrechten Richtung wurde von SACHS als wahrscheinlich der Hydrotropismus angenommen. Dieser kann indess nach den Untersuchungen von MOLISCH⁴⁾ nicht die Ursache sein, da das hypocotyle

1) Recherches anatomiques et physiologiques sur la structure intime des animaux et des végétaux et sur leur motilité. Paris 1824. p. 92—137.

2) W. PFEFFER, Pflanzenphysiologie. Bd. II. p. 347.

3) Über Ausschließung der geotropischen und heliotropischen Krümmung während des Wachsens. Arbeit d. bot. Instituts in Würzburg. Bd. II. p. 209—226.

4) Untersuchungen über Hydrotropismus. Sitzber. d. k. Akad. d. Wiss. in Wien. Bd. LXXXVIII. p. 897—943.

Glied der Keimpflanzen nicht oder kaum hydrotropisch ist. Die Sporangienträger von *Phycomyces* sind zwar hydrotropisch¹⁾, doch ist auch noch nicht erwiesen, dass durch diese Eigenschaft die Substratrichtung bedingt wird.

Da demnach dieser Gegenstand noch nicht aufgeheilt war, unterzog ich ihn einer näheren Untersuchung, um die für die Substratrichtung maßgebenden Faktoren kennen zu lernen.

Folgende Untersuchungen lehren, dass bei der Substratrichtung nicht immer dieselben Ursachen, und dass auch Combinationen derselben im Spiele sind. Im voraus bemerke ich aber, dass ich bei meinen Untersuchungen nur aus dem Substrat hervortretende orthotrope Organe im Auge hatte.

Während bei dem Sporangienträger von *Phycomyces* und *Mucor* Hydrotropismus, Contactwirkung durch das Substrat, eventuell verbunden mit heliotropischer Wirkung die Substratrichtung bedingen, kommt letztere allein als wesentlich für Hypocotyle in Betracht, wenn bei dem am Klinostat durchgeführten Versuche Geotropismus eliminirt ist. Natürlich influirt letzterer, wenn er nicht eliminirt ist, sicher auf die Substratrichtung. Bei Ausdehnung der Versuche werden auch vielleicht noch Keimpflanzen gefunden, bei denen Contactreiz und eventuell noch andere Ursachen mitwirken.

Die Wurzeln habe ich nicht näher in Betracht gezogen, da diese normal in das Substrat eindringen.

Die Untersuchungen habe ich, dank der Gefälligkeit des Herrn Prof. Dr. W. PFEFFER, in dem botanischen Institute der Universität Tübingen angestellt, während welcher Herr Prof. W. PFEFFER mit freundlichem Rath mich unterstützte, wofür ich ihm auch an diesem Orte meinen Dank ausspreche. Bei dieser Gelegenheit empfangen auch Herr Dr. LUDWIG JURÁNYI, Professor der Botanik an der Universität zu Budapest, meinen besten Dank für seine Güte, welche mir Gelegenheit bot meine Untersuchungen durchzuführen.

Zur Lösung der Frage über die Ursachen der Substratrichtung wiederholte ich streng den SACHS'schen Versuch²⁾, indem ich auf der, dem Fenster parallel stehenden horizontalen Rotationsachse Torfwürfel befestigte, auf welche die Samen ausgesäet waren. Der Erfolg war derselbe, welchen SACHS erreichte.

Die Hypocotylen zeigen im Anfang verschiedene Krümmungen, doch alsbald richten sie sich auf und stellen sich senkrecht auf die der Achse parallelen Flächen des Torfwürfels. Auf zur Rotationsachse senkrechten Flächen dagegen nehmen sie eine schiefe, d. h. von der Achse sich

1) WORTMANN, Ein Beitrag zur Biologie der Mucorineen. Bot. Zeitg. Jahrg. XXXIX. p. 368—374, 383—387.

2) Arbeit. d. bot. Instituts in Würzburg. Bd. II. p. 209—226.

wegkrümmende Richtung an und stehen also mit der Concavität von der Achse weggekrümmt.

Dieselbe Richtung nehmen die Keimlinge aller Pflanzen an, welche ich bei den Versuchen gebrauchte, so die von *Lepidium sativum* L., *Linum usitatissimum* L., *Nicotiana Tabacum* L. und *Sinapis alba* L. Senkrecht stellt sich auch der Cotyledon von *Phalaris canariensis* L., ohne aber vorher sich hin und her zu krümmen.

Denselben Erfolg hatte ich bei den genannten Pflanzen, als ich statt des Torfes andere Culturböden gebrauchte, z. B. feuchte Sägespäne, mit welchen entweder ein Blumentopf oder ein kleiner Holzrahmen gefüllt wurde, wobei die Öffnungen mit weitmaschigem Stramin verbunden wurden. Die an der Oberfläche des Culturbodens hervortretenden Organe stellten sich alle senkrecht, zeigten somit dieselben Eigenthümlichkeiten, wie bei Cultur auf Torfwürfeln.

Bei der Senkrechtstellung der Hypocotylen muss das Licht mitspielen, was schon aus den Versuchen im Dunkeln folgt. Nämlich, wenn man den auf der Rotationsachse befestigten Torfwürfel im Dunkeln rotiren lässt, so stellen sich die Hypocotylen nicht senkrecht, sondern nehmen die verschiedensten Richtungen an. Es ist dabei ganz gleichgültig, ob die feuchten Torfwürfel im dampfgesättigten Raume oder im nicht dampfgesättigten Raume rotiren.

Demnach ist bei der Substratriichtung der Hypocotylen der Hydrotropismus nicht von Bedeutung. Es war dieses auch deshalb zu erwarten, da nach SACHS¹⁾ und MOLISCH²⁾ der Hydrotropismus der Hypocotylen sehr gering oder Null ist. MOLISCH zeigte, dass einige Keimpflanzen eine geringe, andere aber gar keine hydrotropische Krümmung ausführten. Ich kann die Angaben von MOLISCH nach meinen Untersuchungen nur bestätigen. Nämlich die Keimpflanzen von *Sinapis alba* und noch mehr die von *Linum usitatissimum* zeigen einen negativen Hydrotropismus des Hypocotyls, während bei *Lepidium sativum* und *Helianthus annuus*, einzelne Fälle ausgenommen, keine hydrotropische Wirkung zu Stande kam.

Da die Substratriichtung also nur bei Beleuchtung zu Stande kommt, muss sie von heliotropischen Wirkungen abhängig sein, die in der That zur Erklärung der beobachteten Thatsachen ausreichen. Halten wir uns z. B. an einen Torfwürfel, welcher an einer dem Fenster parallelen Klinostatenachse zur Eliminirung des Geotropismus rotirt, so ist an einer der Rotationsachse parallelen Fläche ein Hypocotyl, das schiefwinkelig zu dieser Fläche steht, auf einer Seite relativ stärker beleuchtet. Denn die dem Torfe zugewandte Flanke empfängt als Schattenseite weniger Licht als die opponirte Flanke sowohl dann, wenn die dunkle Torffläche dem Fenster zuge-

1) Arbeit. d. bot. Instituts in Würzburg. Bd. I. p. 247.

2) l. c. p. 940.

wandt, als dann, wenn sie vom Fenster abgewandt ist. Demgemäß muss heliotropische Krümmung an entsprechend empfindlichen Organen eintreten, bis endlich die orthotrope Pflanze parallel mit der Einfallsebene des Lichtes gerichtet ist. In unserem Falle steht dann die Pflanze senkrecht auf dem Substrate, während dieses nicht zutrifft, wenn die Torffläche mit der Lichtebeue einen schiefen Winkel bildet, denn die Pflanze ist nach dieser gerichtet.

Sind aber die Pflanzen z. B. senkrecht gegen die Lichtebeue gerichtet, und steht das Substrat etwa $45-60^{\circ}$ gegen die Ebene geneigt, also nicht parallel mit der Achse, so hat die Pflanze, so lange sie genügend kurz ist, eine einseitige Schattenwirkung zu erfahren, und diejenigen Organe, welche senkrecht gegen die Lichtebeue stehen, finden ihre heliotropische Gleichgewichtslage in einer hierzu geneigten Ebene, d. h. in einer zum Substrat mehr oder weniger senkrechten Stellung. Werden aber die Pflanzen länger, so wachsen sie über diese Zone ungleicher Lichtwirkung hinaus und nehmen eine der auf die Flanken gleichartigen Lichtwirkung entsprechende Gleichgewichtslage an, gleichviel ob sie senkrecht oder schiefwinkelig gegen das Substrat stehen.

Deshalb wird an einer der Lichtebeue parallelen Fläche ein einzelner Keimstengel ungetrübt in einer der Achse parallelen Lage wachsen können. Tritt aber die Rotationsachse durch den Würfel, so kommt wieder einseitige Beschattung in ihrem schon von SACUS¹⁾ hervorgehobenen Erfolge zu stande.

Bei der Substratrichtung der Hypocotylen ist außer der Lichtwirkung kein anderer Factor, wie der schon erwähnte Hydrotropismus und der Contact, von Bedeutung. In Bezug auf letzteren habe ich mit den Hypocotylen Versuche gemacht, jedoch war der Erfolg, d. h. die Krümmung zum Contact kein bemerkbarer oder so gering, dass man dies nicht in Betracht ziehen kann.

Die Wurzeln verhalten sich sehr verschieden an den Torfwürfeln, so dass für sie keine bestimmte Richtung nachgewiesen werden konnte. Allerdings zeigen sie die Neigung, sich in der Nähe des feuchten Torfwürfels zu verhalten, was natürlich durch ihren positiven Hydrotropismus, eventuell im Vereine mit negativem Heliotropismus bewirkt wird. Ihre Lage wird allerdings auch durch den Contact influirt.

Die Substratrichtung wird durch eine solche heliotropische Wirkung allgemein bei heliotropisch empfindlichen Organen bewirkt. Dergleichen ist auch die Ursache bei den Fruchtträgern von *Phycomyces nitens*, *Mucor mucedo* und *Coprinus ephemerus* Fr. Jedoch wirken bei diesen noch andere Umstände mit. Dies folgt aus jenen Versuchen, bei welchen die Brodwürfel im Dunkeln rotirten, also die Sporangienträger des *Phycomyces* etc. bei

1) Arbeit. d. bot. Instituts in Würzburg. Bd. II. p. 217.

Ausschluss von Geotropismus und Heliotropismus wuchsen, wobei, wenn auch nicht alle, doch viele die senkrechte Stellung annahmen.

Und dass diese senkrechte Stellung nicht etwa allein dem Hydrotropismus zu verdanken ist, beweist der Versuch im dampfgesättigten Raum, in welchem die Sporangienträger von *Phycomyces* sich in die letzterwähnte Richtung stellen. Es muss also hierbei noch ein anderer Factor mitwirken, und thatsächlich verdanken im letzteren Falle die Sporangienträger ihre Richtung dem Contact mit dem festen Substrate, der auch dann noch wirkt, wenn die anderen genannten Factoren (Geotropismus, Heliotropismus, Hydrotropismus) ausgeschlossen sind.

Die Reizbarkeit durch Contact ist für die Sporangienträger von *Phycomyces* durch ERRERA¹⁾ bekannt. Jedoch sind nach ERRERA's Angaben nur solche Sporangienträger gegenüber dem Contact empfindlich, welche schon Sporangien gebildet haben, d. h. die Sporangienträger sind in dem I. Stadium ihres Wachstums nicht empfindlich gegen Contact, und in älteren Stadien ist die Reizbarkeit auf die Spitze beschränkt. Es schien mir schon bei Anfang meiner Versuche wahrscheinlich, dass eine Reizbarkeit der Sporangienträger auch in dem I. Stadium stattfindet, und dass in diesem Stadium nicht nur der Spitzentheil, sondern auch der basale Theil reizbar ist. Und eben die Reizbarkeit im I. Stadium, d. h. die Reizbarkeit des mit dem Substrat in Contact stehenden Theiles eben hervortretender Sporangienträger, welche ERRERA nicht beobachtete, ist von Bedeutung für die Substratriichtung der Pflanzen, denn gegen ebene Substratflächen suchen sich die hervortretenden Sporangienträger deren Reizbarkeit halber senkrecht zu stellen.

Und dass diese senkrechte Richtung eine Folge des Contactes ist, hatten folgende Versuche nachgewiesen. Um die Contactwirkung bei meinen Untersuchungen genauer beobachten zu können, gebrauchte ich verschiedene Culturmethoden. Bei den Culturen bediente ich mich solcher Culturmethoden, bei welchen die Unebenheit des Substrates die Anfänge der Sporangienträger am geringsten beeinflusste; dies ist nämlich der Fall bei der Objektglascultur, wo ich als Nährstoff nur Pflaumendekokt verwendete, sodann bei den Culturen auf geknetetem Brod und auf mit Pflaumendekokt getränktem Holz. Die Oberfläche des Brodes wie des Holzstückchens muss geglättet sein.

Zum Contact verwendete ich, statt der von ERRERA gebrauchten Tuschmarken, hauptsächlich Borsten und noch mehr feine Silber- oder Platin-drähte, mit welchen durch Anpressung auch ein beliebiger Druck ausführbar ist. Weiterhin diente mir zur Reizung die Kante einer Glimmerplatte, eines Papierstückchens und eines Stanniolblattes.

1) Die große Wachstumsperiode bei den Fruchträgern von *Phycomyces*. Bot. Zeitg. Jahrg. XLII. p. 497.

Ich bemerke aber, dass es bei der Auslösung des Contactreizes nicht gleichgültig ist, ob der Contact mit oder ohne Anpressung ausgeübt wird. Der mit einer bis zu einem gewissen Grad gesteigerten Anpressung verknüpfte Contact wirkt auf die Sporangienträger stärker reizend. Dagegen ein zu geringer Druck, d. h. ein zu schwacher Reiz ist nur eine mäßige und locale Krümmung hervorzurufen im Stande, woher es auch kommt, dass die auf die Sporangienträger angebrachten Tuschmarken keine größere Wirkung haben. Diese mäßige und locale Krümmung wird aber nur dann hervorgebracht, wenn »die mechanische Wirkung dieser Berührung die zur Auslösung nöthige Intensität erreicht«. Die Reizbewegung wird aber durch bis zu einem gewissen Grad zunehmenden Druck gesteigert und auf weitere Strecken fortgepflanzt.

Bei den Versuchen habe ich die entsprechenden Stellen der Sporangienträger mit den erwähnten Drähten mit kleinerem oder größerem Druck berührt, natürlich nicht nur einen Augenblick, sondern die Berührung wurde während der ganzen Zeit des Versuchs unterhalten.

Wenn der Contact auf den im I. Stadium befindlichen noch ganz jungen Sporangienträger an der Spitze oder an der Basis wirkt, krümmt sich der Sporangienträger immer concav gegen den Contact und wächst in der so erhaltenen Richtung weiter. Später, wenn die wachsende Zone sich schon von der Basis entfernt hat, ist der Träger nur an der Spitze reizbar. Auf größere und dem II. Stadium sich nähernde Sporangienträger, bei denen das Sporangium sich noch nicht zu entwickeln beginnt, — wirkt der Contact nicht einmal an der Spitze, vielleicht hängt diese Unempfindlichkeit mit dem geringen Wachsthum zusammen. Der Contactreiz wirkt in dem IV. Stadium in der Nähe des Sporangiums, also auf die wachsende Zone derart, dass der Träger nach dem Contact hin wächst. Wenn der den Contactreiz hervorrufende Körper im I. und IV. Stadium den wachsenden Theil nur leise berührt, wächst der Sporangienträger nach der Krümmung gegen den Contact vertical weiter, sofern Geotropismus entsprechend richtend wirkt, also ist die Krümmung nur local. Wenn aber der Contact einen gewissen Druck auf den wachsenden Theil ausübt, so krümmt sich der Sporangienträger nach demselben hin und behält diese Richtung, ohne in die verticale Richtung zurückzukehren. Wenn die Berührung auf die am Ende des Wachsthums angelangten Theile, z. B. an die Basis des schon am Ende des I. Stadiums stehenden Sporangienträgers, in der Weise wirkt, dass der Sporangienträger sich aus seiner ursprünglichen verticalen Richtung herauskrümmt und eine schiefe Richtung annimmt, so behält der inzwischen anwachsende Theil dauernd seine Krümmung.

Diese Contactreiz-Verhältnisse kommen sehr schön zum Vorschein, wenn man die Kante eines Papierstückchens oder Stanniolblattes zur Berührung verwendet. Zu diesem Zweck habe ich das Brodstück zur Hälfte mit einem Stanniolstreif umwickelt, so dass dieser der Oberfläche des Brodes

eng angepresst war. Stand die Brodfläche vertical und war die obere Hälfte dieser Fläche mit Stanniol bedeckt, so wirkten Geotropismus und Contactreiz gleichmäßig auf die an der Stanniolkante erscheinenden Sporangienträger von *Phycomyces*, welche sich natürlich aufwärts krümmten. War aber bei gleicher Stellung der Substratfläche die untere Hälfte bedeckt, so suchte der Contactreiz die Sporangienträger nach dem Stanniol hin, also abwärts zu beugen, und diese Krümmung nahmen in der That die mit der Stanniolkante in Berührung kommenden Sporangienträger an. Bei horizontaler und aufwärts schauender Lage der Substratfläche krümmten sich die Sporangienträger aber dem Stanniol zu und wurden also von der Verticalen abgelenkt. Diese Erfolge traten im Dunkeln und im dampfgesättigten Raume ein, also unabhängig von heliotropischer und hydrotropischer Wirkung.

Dasselbe Resultat erhielt ich, wenn ich auf die Flächen des Brodwürfels den Rand eines Papierstückchens, nahe an die Oberfläche des Brodes, befestigte.

Dass die Stanniol- oder Papierkante berührende Sporangienträger in Folge des Contactreizes abgelenkt werden, sieht man auch gut bei der Objektglascultur, wenn man auf die mit Mycelium bedeckten Objektgläser schmale Papierstreifen klebt. Diejenigen Sporangienträger, welche mit den Papierstreifen nicht in Berührung traten, standen vertical, diejenigen aber, welche die Kante des Papiers berührten, waren gegen den Papierstreifen gekrümmt.

In allen diesen Versuchen mit Papier- und Stanniolstreifen findet man aber auch viele Sporangienträger, welche sich nicht der Contactkante zu krümmen, sondern von dieser hinweg gerichtet sind. Es wird dieses namentlich beobachtet, wenn zwischen Papier und Substrat ein Zwischenraum blieb. Entsteht dann unterhalb des Papiers (oder Stanniols) ein Sporangienträger, so wächst dieser, durch den mechanischen Widerstand gezwungen, dem Papier angeschmiegt weiter, um an der freien Kante in schiefer Richtung hervorzutreten. Vermuthlich haben dann öfters die hervortretenden Theile an der Contactstelle keine Reizbarkeit und daraus erklärt es sich, dass die Sporangienträger öfters die schiefe Richtung beibehalten, während andere sich wohl auch in einiger Entfernung von der Berührungskante geotropisch mehr oder weniger aufrichten.

Schön zeigt sich auch diese Contactwirkung, wenn man die von geknetetem oder gewöhnlichem Brod geschnittenen Würfel nach dem Besäen mit Sporen in Stanniol wickelt, das vorher mit verschiedenen dicken Nadeln durchlöchert wurde. Wenn aus einem der Löcher sich ein Sporangienträger erhob und dieser den Rand des Loches nicht berührte, wuchs er vertical auf die Oberfläche des Brodwürfels, dagegen wurde der Sporangienträger von der Verticalen abgelenkt, wenn er den Rand des Loches berührte. Erschienen aus einem Loche die Sporangienträger in größerer Zahl, so standen sie — 4—2 der mittleren ausgenommen — alle in verschiedener Richtung schief und zwar radial ausstrahlend. Diese radial ausstrahlende Richtung

trat in kleinen und größeren Löchern gleichmäßig auf; nur darin zeigte sich ein Unterschied, dass in der Mitte der größeren mehr Sporangienträger vertical standen, als in den kleinen.

Statt der Löcher habe ich auch in den Stanniol einen langen Schlitz geschnitten, durch welchen die Sporangienträger hinauswuchsen; das Resultat war, dass die Sporangienträger nicht alle vertical wuchsen, sondern auch hier, der Öffnung entsprechend, in der Mitte vertical standen und an den Kanten des Stanniols entsprechend gekrümmt wurden.

Auch in diesen Versuchen wird die Schiefstellung immer durch die Contactreizung, zum Theil auch durch jene oben erwähnte mechanische Wirkung erzielt.

Aus den besprochenen Versuchen lässt sich also ersehen, dass die Wachstumsrichtung der Sporangienträger durch den Contact beeinflusst wird und zwar so, dass sie, wo Reiz in Betracht kommt, sich nach der Contactstelle concav krümmt, während natürlich mechanische Hemmnisse, wie erwähnt, ein Ausbiegen anderer Art erzielen können.

Um zu sehen, wie sich die durch Contact auf besagte Weise ausgelösten Reize gegenüber den anderen, auf die Sporangienträger einwirkenden Einflüsse verhalten, setzte ich die dem Contactreize ausgesetzten Sporangienträger, besonders die durch die Stanniollöcher wachsenden, den hydrotropischen, heliotropischen und geotropischen Wirkungen aus. Wurde eine psychrometrische Differenz durch einseitige Annäherung eines dauernd nassen Körpers hergestellt, so machten sich nur geringe hydrotropische Ablenkungen bemerklich. Diese, d. h. eine Absonderung von der feuchten Platte, trat namentlich an den schon weiter hervorgetretenen und also in älteren Entwicklungsstadien befindlichen Sporangienträgern hervor. Ähnlich war der Erfolg bei einseitiger mäßiger Beleuchtung und bei geotropischer Wirkung. Durch beide konnte übrigens an den weiter hervorgetretenen Sporangienträgern eine merkliche Ablenkung im Sinne des positiven Heliotropismus, resp. des negativen Geotropismus erzielt werden.

Als ich zur Eliminirung der geotropischen Wirkung den Brodwürfel auf die Rotationsachse des Klinostaten befestigte, behielten die Sporangienträger ihre radial ausstrahlende Richtung. — Der Erfolg war derselbe, ob ich die Brodwürfel vom Lichte abgeschlossen rotiren ließ, oder ob ich im Sinne des SACNS'schen Versuchs die Rotationsachse parallel mit dem Fenster aufstellte; dort war im letzteren Fall an den größer gewordenen Sporangienträgern das Bestreben ausgesprochen, sich aus den früher angeführten Gründen parallel mit der Ebene des einfallenden Lichtes zu stellen.

Der Contactreiz vermag also auf den Sporangienträger an seinem Ursprungsort aus dem Substrate genügend zu wirken, um die Wachstumsrichtung erheblich zu beeinflussen. Im Allgemeinen wird diese Contactwirkung dahin wirken, dass der Sporangienträger senkrecht auf den Ursprungsort, resp. auf dessen Tangente zu stehen kommt, da in dieser

Stellung die Flanken gewöhnlich in gleicher Weise durch Berührung gereizt werden. Auf einem ebenen Substrate sind dieserhalb die Sporangienträger unter sich parallel, während dieses nicht mehr zutrifft auf einem rauhen, etwa mit Löchern versehenen Substrate, wo auch an den Seitenwänden dieser Löcher die Sporangien ihren Ursprung nehmen. Diese verschiedene Richtung der Sporangienträger sieht man auch auffallend bei Cultur des *Phycomyces* auf porösem Brode und zwar am schönsten, wenn durch entsprechende Versuchsbedingungen die richtende Wirkung von Geotropismus, Heliotropismus und Hydrotropismus ausgeschlossen war.

Der Hydrotropismus der Sporangienträger von *Phycomyces* wurde schon von SACHS¹⁾ als wahrscheinlich angenommen. Als Thatsache wurde sie dann von WORTMANN²⁾ bewiesen, indem er zeigte, dass diese stark negativ hydrotropisch sind. Mit diesen auch von MOLISCH³⁾ bestätigten Erfahrungen stimmen auch meine Versuche überein.

Die hydrotropische Wirkung ist somit jedenfalls ein Factor für die Substratrichtung, und wo Hydrotropismus als Richtkraft wirkt, müssen in normalen Verhältnissen die Sporangienträger streben, sich senkrecht gegen das Substrat zu stellen, da die Dampfsättigung der Luft mit Entfernung vom feuchten Substrate im Allgemeinen gleichmäßig abnimmt.

Wesentlich eine Folge der hydrotropischen Richtkraft ist es, dass an einer vertical stehenden glatten Substratfläche die Sporangienträger von *Phycomyces* zunächst horizontal wachsen, um dann in einer gewissen Entfernung von dem Substrate sich, der geotropischen Wirkung folgend, nach aufwärts zu krümmen.⁴⁾ Diese Wachstumsrichtung wird eben wesentlich durch die Feuchtigkeit des Culturbodens verursacht, wie dies auch schon von WORTMANN⁵⁾ richtig erkannt wurde.

Dies ersieht man, wenn man das ziemlich trockene Brodstückchen in Stanniol einwickelt und nur durch kleine Öffnung des senkrecht gestellten Substrates den Sporangienträger wachsen lässt, natürlich so, dass er den Rand der Öffnung nicht berührt und somit ein Contact nicht entsteht. Der Sporangienträger krümmt sich dann sogleich nach seinem Erscheinen nach oben. Denselben Erfolg erreicht man, wenn man die Cultur in einen dampfgesättigten Raum stellt, wo keine psychrometrische Differenz vorhanden sein kann.

Ebenfalls der Wirkung der Feuchtigkeit muss man es zuschreiben, dass die Sporangienträger von der unteren Fläche des hängenden Brodwürfels eine Strecke senkrecht nach unten zu wachsen und erst dann sich

1) Arbeit. d. bot. Instituts in Würzburg. Bd. II. p. 248.

2) Ein Beitrag zur Biologie der Mucorineen. Bot. Zeit. 1884. p. 370.

3) l. c. p. 937.

4) DUTROCHET l. c. p. 400.

5) l. c. p. 372.

aufwärts krümmen. ¹⁾ Denn wenn man den Versuch in dampfgesättigtem Raume macht, krümmen sich die meisten Sporangienträger sehr bald nach dem Hervortreten nach aufwärts, also gegen das Substrat hin.

Eine Folge des richtenden Einflusses des Hydrotropismus ist es auch, dass bei Cultur auf porösem Brod, bei Rotation am Klinostaten und im Dunkeln weit mehr Sporangienträger von *Phycomyces* der zum Substrate senkrechten Richtung zuneigen, wenn die Versuche in gewöhnlicher Luft ausgeführt werden. Denn in dampfgesättigter Luft fällt eben diese richtende Wirkung des Hydrotropismus weg.

Wie bei den Keimpflanzen wirkt der Heliotropismus auch bei den Sporangienträgern des *Phycomyces* auf die Substratrichtung. Die Sporangienträger des *Phycomyces* — wie schon bekannt ²⁾ und wie auch meine Versuche erwiesen — sind stark positiv heliotropisch, und zwar sowohl in dem I. wie in dem IV. Stadium, und verhalten sich in der Hinsicht ebenso wie die Hypocotyle.

Dies zeigte sich am klarsten bei der Wiederholung des SACUS'schen Versuches, bei welchem die Brodwürfel an der parallel mit dem Fenster aufgestellten Rotationsachse rotirten. Die Sporangienträger stellten sich jetzt zumeist annähernd senkrecht gegen die der Achse parallele Fläche, auch wenn grob poröses Brod den Culturboden bildete.

Als Erfolg der heliotropischen Wirkung geben sich diese Resultate aber dadurch zu erkennen, dass bei gleicher Versuchsanstellung im Dunkeln die Sporangienträger nicht so gut senkrecht gegen die der Achse parallelen Flächen gerichtet sind und dass die erwähnte Ablenkung von der Achse unterbleibt. Übrigens wurden in meinen Versuchen die Culturen nur hellem Tageslicht, nicht aber direkter Sonne ausgesetzt.

Die schiefe Richtung der Sporangienträger auf den zur Rotationsachse senkrechten Flächen wurde, wie schon SACUS ³⁾ richtig bemerkte, dadurch bewirkt, dass die Sporangienträger von der durch den Würfel gehenden Rotationsachse beständig beschattet wurden. Wenn der Würfel, um den Schatten der Achse zu vermeiden, am Ende derselben befestigt wird und rotirt, so wachsen die Objekte auf der freien Flanke des Würfels in verticaler Richtung, da sie in dieser Lage von allen Seiten gleichmäßig beleuchtet sind.

Alle diese Versuche führten zu dem Resultate, dass die Substratrichtung bei den verschiedenen Pflanzen nicht von gleichen Ursachen abhängt.

Sehen wir vom Geotropismus ab, so wirken bei dem Sporangienträger von *Phycomyces* — und wohl auch bei anderen dergleichen Pilzen — Hydrotropismus, Heliotropismus und Contactreiz zusammen und deshalb sind im Dunkeln sowohl bei dampfgesättigter Luft als in nicht dampfgesättigter

1) Arbeit. d. bot. Instituts in Würzburg. Bd. II. p. 223.

2) VINES, Arbeit. d. bot. Instituts in Würzburg. Bd. II. p. 434.

3) Arbeit. d. bot. Instituts in Würzburg. Bd. II. p. 247.

Luft Ursachen der Substratrichtung vorhanden. Unter normalen Bedingungen werden also die Pilze auch im Dunkeln eine gegen das Substrat senkrechte Stellung anstreben, die indess nur auf ebenen Culturflächen gut zum Ausdruck kommt. Auf unebenen, z. B. porig vertieften Flächen, bewirkt die besagte Contactreizung bei einem Theil der Träger eine mehr oder weniger von der Senkrechten abweichende Stellung.

Eine starke einseitige Beleuchtung muss natürlich durch heliotropische Krümmung eine mehr oder weniger große Abweichung von der ohne diesen ablenkenden Factor angestrebte Stellung erzeugen, so wie auch Hydrotropismus und natürlich auch Geotropismus in einiger Entfernung vom Substrate entsprechende Krümmungen der Objekte erzielt.

Wie die Schwerkraft allein, bei ebener Lage des Substrates, die Objekte senkrecht zu diesen stellen kann, vermag auch Beleuchtung allein heliotropisch empfindlichen Pflanzen eine bestimmte Substratrichtung aufzudrängen. Es ist dies der Fall in dem SACNS'schen Versuche mit Hypocotylen von Keimpflanzen. Denn bei Rotation der zum Fenster parallelen Achse des Klinostaten bringt die Undurchsichtigkeit des Substrates immer noch Beleuchtungsdifferenzen zu Stande, welche die Keimstengel in der früher beschriebenen Weise in eine bestimmte Richtung führen.

Außer den genannten und hier behandelten Factoren und deren Combination, die vom Substrat — wenn auch indirekt — abhängen, wie Contact, Hydrotropismus (indem das Substrat Wasserdampf abgiebt) und Heliotropismus (bedingt in besagter Wirkung durch Beschatten des Substrates), greift das Substrat auf die Richtung dieser oder anderer Pflanzen vielleicht auch noch in anderer Weise ein.

So könnten wohl die Rhizome und manche andere im Boden befindliche Glieder in ihrer Richtung vom Substrat beeinflusst werden, etwa so, dass sie parallel der Oberfläche wachsen. Entspringen dann Seitenorgane etwa unter einem rechten Winkel, so müssen diese in einer bestimmten Richtung zum Substrat hervortreten und möglich, dass so Symmetrieverhältnisse oder Einflüsse, welche den Ursprungsort der Seitenorgane bedingen, diese senkrecht gegen das Substrat erscheinen machen. So würde auch das Substrat indirekt die Stellung der hervortretenden Organe influiren können. Diese Verhältnisse wurden während der Untersuchungen nicht näher ins Auge gefasst; bei den benutzten Objekten kommen aber solche Verhältnisse nicht maßgebend in Betracht, denn Keimstengel zeigen bei Eliminirung von Heliotropismus und Geotropismus keine bestimmte Stellung zum Substrate. Auch kann man an Culturen von *Phycomyces* auf Objektträgern (mit Pflaumendekokt) sehen, dass bei Ausschluss heliotropischer, geotropischer und hydrotropischer Wirkung die entstehenden Sporangienträger sowohl unter rechten als spitzen Winkeln aus deren Mycelium entspringen.

IX.

Beiträge zur Physiologie der Pflanzenzelle.

Von

Georg Klebs.

Mit Taf. V und VI.

Wie auch seit der Begründung der Zellenlehre durch SCULEIDEN und SCHWANN die Anschauungen über die Zelle sich gewandelt haben mögen, wie schwierig es augenblicklich erscheint, eine solche Definition von Zellen zu geben, welche auch das Wesen der abweichendsten Formen in sich begreift, so erscheint doch heutzutage noch die Zelle morphologisch wie physiologisch als letzte Einheit, auf die wir die Mannigfaltigkeit der Organismen zurückführen können. Denn so wie wir weiter vordringen und versuchen wollen, in der Zelle selbst gewisse einfachere Grundelemente zu erkennen, aus denen sie aufgebaut, aus deren verschiedenem Zusammenwirken die Vielgestaltigkeit der Zellen selbst zu erklären ist, müssen wir uns mit mehr oder minder unbestimmten Vorstellungen begnügen, die wohl anregend wirken, aber nicht befriedigen können. Die in der neueren Litteratur vorhandenen Versuche stellen ein gar buntes Gewirr widersprechendster Anschauungen dar. — Allerdings haben die neueren Beobachtungen über die beiden Organe der Pflanzenzelle, Kern und Chromatophoren, welche in der Zelle eine gewisse selbständige Stellung einnehmen, dem schon mehrfach ausgesprochenen Gedanken eine breitere Grundlage geliefert, dass in dem Zellkörper neben diesen Organen auch noch andere entsprechende vorhanden sind, jedes mit eigener physiologischer Function. Den schärfsten Ausdruck hat neuerdings DE VRIES ¹⁾ diesem Gedanken ge-

1) DE VRIES, Plasmolytische Studien über die Wand der Vacuolen; PRINGSHEIM, Jahrb. f. wiss. Bot. XVI. S. 492; vergl. auch die neuere Arbeit von WENT, »De jongste Toestanden der Vacuolen, Amsterdam 1886«, welcher die Ansichten von DE VRIES vertheidigt und ausführlicher zu begründen versucht.

geben, und dieser Forscher glaubt auch schon ein neues solcher Organe erkannt zu haben in den »Tonoplasten«, d. h. denjenigen Organen, welche zu Vacuolen sich gestalten und die nur durch Theilung, nicht durch Neubildung sich fortpflanzen sollen. Jedoch ist der Nachweis ¹⁾ dieser Tonoplasten als dem Kern und den Chromatophoren entsprechende Organe nicht genügend geführt, und die Hauptmasse des Zellkörpers hat bisher der Erkenntnis einer weiteren Differenzirung durchaus Widerstand geleistet.

Nach einer entgegengesetzten Richtung schienen anfangs die Beobachtungen zu lenken, welche den Zusammenhang der Zellen einer Pflanze durch feine plasmatische Fäden darlegten ²⁾. Denn hierdurch schien sich die von HOFMEISTER zuerst, von SACHS klarer und schärfer ausgesprochene Meinung zu bestätigen, dass das Wesen einer Pflanze in Gestaltung und Lebensvorgängen durch die Gesamtmasse ihres Protoplasmas bedingt und die Fächerung desselben in Zellen erst in zweiter Linie von Bedeutung sei. Indessen die Erwartungen, welche anfänglich an diese Forschungen sich knüpften, haben sich bisher kaum verwirklicht; irgend eine wesentliche Änderung in unseren Anschauungen über die Zelle hat sich nicht Bahn gebrochen. Die schon von SCHLEIDEN hervorgehobene Individualität der Zelle hat ihr altes Recht bewahrt ³⁾. Sie wird vielleicht noch eine viel größere Bedeutung gewinnen, je mehr die principiellen Fragen des Lebens sich zuspitzen zu Problemen, welche uns in der einzelnen Zelle entgegen treten, an ihr gelöst werden müssen, je mehr die ganze Pflanzenphysiologie sich auf die Zellphysiologie gründet.

Für die Untersuchung der Lebensvorgänge an der einzelnen Zelle bieten sich die niederen Pflanzen, Algen und Pilze, als ausgezeichnete Objekte dar; immer wieder wird man bei zellphysiologischen Fragen zu ihnen zurückkehren und sie sind vielfach schon der Ausgangspunkt geworden für die wichtigen Arbeiten von NÄGELI, PRINGSHEIM, SACHS, PFEFFER, STRASBURGER u. a. Die im Folgenden mitgetheilten kleinen Beiträge, welche einige zellphysiologische Probleme berühren, sind ebenfalls zum größten Theil aus Beobachtungen an Süßwasseralgen gewonnen worden. Ein Übelstand ist

1) Vergl. PFEFFER, Über Aufnahme von Anilinfarben in lebende Zellen; Unters. aus dem Bot. Institut Tübingen. II, 2. 1886. S. 322. Ferner BERTHOLD, Studien über Protoplasma-mechanik. Leipzig 1886. S. 153—155. Ich muss mich der Kritik von PFEFFER und BERTHOLD durchaus anschließen; ich kann weder in den Beobachtungen von DE VRIES noch in denen von WENT einen stichhaltigen Beweis für seine Anschauung erkennen.

2) Vergl. die Zusammenstellung der betreffenden Litteratur in KLEBS, Über die neueren Forschungen betreffs der Protoplasmaverbindungen benachbarter Zellen. Bot. Zeitg. 1884. S. 443—448. Ich selbst habe hier den Resultaten vielleicht eine zu große principielle Bedeutung zugeschrieben.

3) Sehr lehrreich ist nach dieser Beziehung KRABBE in seiner Arbeit »Das gleitende Wachsthum bei der Gewebebildung der Gefäßpflanzen«. Berlin 1886; er hat mit besonderem Nachdruck darauf hingewiesen, wie die Individualität der einzelnen Zelle auch bei den höchsten Pflanzen in ihrem gleitenden Wachsthum zu Tage tritt.

allerdings mit denselben häufig verbunden, der zu einiger Vorsicht bei den Folgerungen zwingt. Denn es ist sehr schwierig, ja vielfach zum Theil unmöglich, eine genaue Bestimmung der untersuchten Algen wegen Mangels der charakteristischen Theile zu machen; man ist in diesem Falle bei dem häufigen gleichzeitigen Vorkommen verschiedener Arten nicht sicher, was für eine Form und ob immer dieselbe man beobachtet hat. Dabei machen sich aber auch in dem Verhalten gegen äußere Einflüsse schon bei diesen niederen Formen individuelle Unterschiede sehr bemerkbar, so dass vollkommen gleich angestellte Versuche mit anscheinend demselben Material nicht immer das gleiche Resultat ergeben. —

Den Anlass zu meinen Untersuchungen gab die Beobachtung, dass in concentrirten Zuckerlösungen nach Ablösung des Zellkörpers von der Zellwand derselbe bei einigen Algen nicht wie in allen bisherigen Versuchen zu Grunde ging, sondern weiter lebte, sich ernährte und wuchs. Diese Trennung des lebenden Zellprotoplasmas von der Zellwand mit Hilfe wasserentziehender Mittel wird nach dem Vorschlag von DE VRIES ¹⁾ als Plasmolyse, die Zelle, die sie zeigt, als plasmolytisch bezeichnet. Die Erscheinung selbst ist seit den Arbeiten von PRINGSHEIM ²⁾ und NÄGELI ³⁾ sehr bekannt, besonders in zahlreichen trefflichen Arbeiten von DE VRIES ⁴⁾ nach verschiedenen Richtungen sorgfältig erforscht worden. Im Folgenden verstehe ich unter Plasmolyse stets einen solchen Grad der Wasserentziehung, dass der Protoplasmakörper deutlich von der Zellwand entfernt ist, und spreche nach dem Grade dieses Abstandes von schwächerer und stärkerer Plasmolyse. Mit HANSTEIN und DE VRIES bezeichne ich den Protoplasmakörper im Gegensatz zu der ihn umkleidenden Zellhaut als Protoplast; unter Cytoplasma verstehe ich die halbflüssige schleimige Grundmasse desselben sammt allen körnigen und tropfenartigen Bestandtheilen mit Ausschluss von Kern, Chlorophyllkörpern und Vacuolen.

Die angewandte Methode der Cultur von Algen in den Zuckerlösungen ist höchst einfach. Ich benutzte gekochte und filtrirte concentrirte Lösungen von 16—20 % Rohrzucker (abgekürzt R-Zucker) und 10 % Glycose, letztere von SCHUCHARDT als chemisch reiner Traubenzucker bezogen. Die anfänglich vorhandene Furcht, viel von Bacterien und Pilzen zu leiden, bewahrheitete sich nicht; in den reinen Lösungen entwickeln sich dieselben zu

1) DE VRIES, Untersuchungen über die mechanischen Ursachen der Zellstreckung. Leipzig 1877. S. 40.

2) PRINGSHEIM, Untersuchungen über den Bau und die Bildung der Pflanzenzelle. Berlin 1854. S. 42.

3) NÄGELI, Primordialschlauch, in NÄGELI und CRAMER, Pflanzenphysiologische Unters. I. 1855. S. 2.

4) DE VRIES, Untersuchungen über die mechanischen Ursachen der Zellstreckung; id. Eine Methode zur Analyse der Turgorkraft; PRINGSHEIM's Jahrb. f. wiss. Bot. XIV. 1884; id. Plasmolytische Studien über die Wand der Vacuolen. Ebenda. Bd. XVI. 1885.

langsam und in zu geringer Menge, um sehr schädlich wirken zu können; auf sorgfältige Sterilisation habe ich kein Gewicht gelegt. Die Glycoseculturen verpilzen übrigens leichter als die von Rohrzucker, jedenfalls nur aus dem Grunde, weil der Traubenzucker des Handels sehr unrein, noch sehr reich an Asche ist. Wenn man nun aber anorganische Nährsalze oder organische stickstoffhaltige Substanzen den Culturen zufügt, um ihren Einfluss zu beobachten, gehen die Algenculturen in wenigen Tagen durch Bacterien, Hefe etc. zu Grunde; Prothallien, Blätter von Moosen, *Elodea* verpilzen aber schon in reinen Zuckerlösungen sehr schnell und vollständig. Für diese Untersuchungen füge ich den Culturen 0,05% normales chromsaures Kali hinzu, bei dessen Gegenwart die fädigen Pilze so gut wie gänzlich fernbleiben, die Entwicklung von Hefe, Bacterien sehr beschränkt ist, während Algen, Moose, *Elodea* viele Wochen lang in denselben Culturen aushalten; auf die besonderen Veränderungen, welche allerdings auch bei den genannten Pflanzen der Zusatz der Chromverbindung hervorruft, soll erst später eingegangen werden. Die gebräuchlichen Antiseptica sind für die Culturen der Algen nicht anwendbar, da sie das Leben der letzteren ebenso wie das der fremden Eindringlinge schädigen.

Die Resultate meiner Beobachtungen vertheile ich auf folgende 5 Abschnitte:

- I. Über die Zellhaut.
- II. Über Wachstum und Theilung.
- III. Über die Abhängigkeit der Zellhaut und Stärkebildung sowie des Wachstums vom Licht und von äußeren Culturbedingungen.
- IV. Über den Einfluss des Kernes in der Zelle.
- V. Über Chlorophyllkörper und Gerbstoffbläschen.

Den Schluss bildet eine kurze Zusammenfassung der wichtigeren Ergebnisse.

I. Über die Zellhaut.

1) Kritische Vorbetrachtungen.

Die Frage, in welcher Weise entsteht die Zellhaut und wie wächst sie, erscheint nach dem heutigen Stande unserer Kenntnis noch ungelöst. So treffliche Arbeiten wir bereits über diese Frage von verschiedenen Forschern besitzen, sind wir doch von einer endgültigen Entscheidung weit entfernt. Die älteren Anatomen wie MOUL, SCHACHT u. a. folgerten aus der unmittelbaren Beobachtung der anatomischen Thatsachen, dass die Zellwand durch die Apposition neuer Schichten in die Dicke wachse und dieselben nach Maßgabe des Längenwachstums gedehnt werden. In seinem berühmten Buche »Die Stärkekörner, 1858« machte NÄGELI auf die schwache Begründung dieser Lehre aufmerksam. Was er hierbei mit so großer Klarheit über die verschiedenen Möglichkeiten des Zellhaut-Wachstums, die

bedeutenden Schwierigkeiten einer wirklichen Entscheidung ausgesprochen hat, muss auch für den heutigen Stand der Frage noch wesentlich unverändert als richtig und sehr beachtenswerth angesehen werden. Allerdings wurde die schon damals von NÄGELI bevorzugte Intussusceptionstheorie durch SACHS ¹⁾, HOFMEISTER ²⁾, dann durch NÄGELI ³⁾ selbst sehr bald als die allein mögliche in den Vordergrund gestellt und zur herrschenden Lehre erhoben, so dass einzelne Stimmen, wie z. B. die von DIPPEL ⁴⁾, welche sich dagegen geltend machten, unbeachtet blieben. Die Reaction begann, als SCHIMPER ⁵⁾ die Hauptgrundlage der Theorie, die Lehre vom Intussusceptionswachsthum der Stärkekörner, angriff und die alte Appositionstheorie für dieselben vertheidigte, worin MEYER ⁶⁾ ihm bald folgte. SCHMITZ ⁷⁾ nahm dann dieselbe Frage bezüglich des Zellhautwachsthums auf und suchte, wenn auch noch sehr zurückhaltend, die allgemeine Gültigkeit der NÄGELI'schen Theorie zu widerlegen. Erst STRASBURGER ⁸⁾, gestützt auf ein sehr reichhaltiges Thatsachenmaterial, brach nach allen Beziehungen mit den Anschauungen NÄGELI's und erklärte die Appositionstheorie für die allein richtige im gesammten Pflanzenreich. Durch diese Arbeit von STRASBURGER ist die alte Streitfrage in lebendigsten Fluss gekommen, und wie schon mehrere neuere Arbeiten zeigen, ist zu hoffen, dass sie von den verschiedensten Seiten wird in Angriff genommen werden.

Wenn man das anscheinend so überreiche Thatsachenmaterial in den angeführten Arbeiten durchmustert und darauf hin prüft, was für Beobachtungen vorhanden sind, welche für die Frage von einer entscheidenden Bedeutung sind, insofern sie nur eine einzige Möglichkeit der Erklärung zulassen, so ist die Anzahl solcher Beobachtungen eine verschwindend kleine. Wir müssen dabei Dicken- und Flächenwachsthum unterscheiden. Bezüglich des ersteren kann man sagen, dass die frühere Appositionstheorie in keiner Weise bisher widerlegt ist, der größere Theil der beobachteten Erscheinungen durch dieselbe leichter und ungezwungener sich erklären lässt ⁹⁾. Es giebt sogar einzelne Thatsachen, welche für die Theorie beweisend

1) SACHS, Handbuch der Experimental-Physiologie der Pflanzen. 1865. id. Lehrbuch der Botanik. 1.—4. Auflage.

2) HOFMEISTER, Die Lehre von der Pflanzenzelle. 1867.

3) NÄGELI und SCHWENDENER, Das Mikroskop. 1. Aufl. 1865; 2. Aufl. 1877.

4) S. DIPPEL, Die neuere Theorie über die feinere Structur der Zellhäute, betrachtet an der Hand von Thatsachen; Abhandl. d. Senckenberg. Gesell. X. 1876.

5) A. F. W. SCHIMPER, Untersuchungen über das Wachsthum der Stärkekörner. Bot. Zeitg. 1884. No. 12—14.

6) A. MEYER, Über die Structur der Stärkekörner. Bot. Zeitg. 1884. No. 51—52.

7) SCHMITZ, Über Bildung und Wachsthum der pflanzlichen Zellmembran. Sitzber. der Niederrh. Gesellsch. für Natur- und Heilkunde. Bonn 1880.

8) STRASBURGER, Über den Bau und das Wachsthum der Zellhäute. Jena 1882.

9) Vergl. z. B. die von DIPPEL, SCHMITZ, STRASBURGER beschriebenen Erscheinungen bei *Caulerpa* sowie die anderen im Werke von STRASBURGER näher behandelten Fälle sehr

sind und die Annahme einer Entstehung der Schichtenbildung durch spätere Differenzirung ziemlich ausschließen. Hierzu kann man die Beobachtung von STRASBURGER ¹⁾ rechnen, dass bei den jungen Bastfasern von *Taxus baccata* sich der Innenseite der Zellhaut Oxalatkryställchen einlagern und so eine unverrückbare Schicht bilden, auf welche bei der weiter eintretenden Verdickung sich eine neue Zellhautschicht auflagert. SANIO ²⁾ hat ferner beobachtet, dass bei den Holzzellen der Kiefer in einzelnen ganz sicheren Fällen die primäre Zellhautschicht schon verholzt war, wenn die secundäre, resp. tertiäre Schicht sich bildet, die dann nur durch Auflagerung entstanden sein kann. Neuerdings hat BARANETZKY ³⁾ nachgewiesen, dass bei der Korkentwicklung gewisser Pflanzen auf die schon verkorkte Außenwand sich eine reine Celluloseschicht ausbildet. Mit sehr großer Wahrscheinlichkeit folgt die Richtigkeit der Appositionstheorie auch aus meinen Beobachtungen, nach welchen bei Zygnumen ⁴⁾ sich an der Innenseite der Zellhaut unverrückbare schwarze Marken erzeugen lassen, auf welchen die neuen Schichten sich deutlich auflagern und welche nach und nach von innen nach außen geschoben werden. Wenn man nun auch nach den bisher vorliegenden Thatsachen hervorheben muss, dass für das Dickenwachsthum die Appositionstheorie in einzelnen Fällen sicher richtig, in sehr vielen die wahrscheinlichste ist, so wird es sich doch vor allem weiter darum handeln, eine größere Menge von klar entscheidenden Beobachtungen zu liefern, bevor von einer allgemein geltenden und mit Nothwendigkeit sich aufdrängenden Theorie die Rede sein kann.

Von dem Standpunkt der Appositionstheorie aus ist es eine Frage von secundärer Bedeutung, warum die einzelnen auf einander gelagerten Schichten manchmal so scharf gesondert erscheinen, in anderen Fällen dagegen sehr wenig. Bei der steten Veränderung, welche eine jede Zelle

starker Schichtenbildung. Allerdings ergibt sich auch bei *Caulerpa* kein direkter Beweis für die Appositionstheorie, und darin muss ich WILLE beistimmen, vergl. dessen Arbeit »Über die Entwicklungsgeschichte der Pollenkörner der Angiospermen und das Wachsthum der Membranen durch Intussusception«, Christiania 1886. S. 47. Indessen hat WILLE sich die Erklärung der Schichtung bei *Caulerpa* durch Intussusception doch etwas zu leicht gemacht.

1) STRASBURGER l. c. S. 34. Taf. II. Fig. 33.

2) SANIO, Anatomie der gemeinen Kiefer; PRINGSHEIM's Jahrb. f. wiss. Bot. IX. 1877. S. 73. Auf den Streit SANIO's mit DIPPEL, ob die innerste (tertiäre) Schicht, wie ersterer will, nach der secundären entsteht oder, wie letzterer behauptet, vorher sich ausbildet und die secundäre sich zwischeneinlagert, braucht hier nicht eingegangen zu werden; vergl. auch STRASBURGER l. c. S. 49, der der SANIO'schen Auffassung zustimmt.

3) BARANETZKY, Épaississement des parois des éléments parenchymateux. Ann. des Sc. nat. Septième Série. T. IV. 1886. S. 182. Was B. sonst über die Verdickungsformen der Zellhaut besonders mit Hilfe des Chlorzinkjod erkannt und beobachtet hat, giebt für die Entscheidung zwischen den beiden Theorien keine genügenden Anhaltspunkte.

4) G. KLEBS, Über die Organisation der Gallerte bei einigen Algen und Flagellaten. Unters. aus d. bot. Inst. in Tübingen. II. 1886. S. 373.

im Laufe ihres Lebens durchmacht, ist es von vorn herein sehr wahrscheinlich, dass die periodisch abgelagerten Zellwandschichten nicht ganz die gleiche Qualität besitzen und infolge dessen auch ein ungleiches Aussehen darbieten. Denn die Zellwand besteht bekanntlich nicht aus reiner Cellulose, sondern auch aus Wasser und verschiedenartigen Einlagerungen organischer wie anorganischer Natur, und alle diese Bestandtheile können in den einzelnen Schichten der Zellwand in verschiedenem Grade vorhanden sein. SCHMITZ und STRASBURGER¹⁾ haben insofern Recht, als sie bestreiten, dass eine regelmäßige Abwechslung wasserarmer und wasserreicher Schichten durch NÄGELI und Andere nachgewiesen worden wäre. Eine ausführlichere Erklärung der doch in manchen Fällen unzweifelhaften Unterschiede der einzelnen Schichten ist aber von beiden nicht gegeben worden, und STRASBURGER¹⁾ geht vielleicht darin zu weit, jede Verschiedenheit im Wassergehalt abzuleugnen. Dieselbe ist sehr wohl möglich, würde aber auch nicht mit der Appositionstheorie im Widerspruche stehen²⁾. Näher auf den inneren Bau der Zellhaut und ihrer Schichten soll hier nicht eingegangen werden.

Was das Flächenwachsthum betrifft, so erscheint eine Entscheidung nach den vorliegenden Beobachtungen sehr viel schwieriger. Nur für einige sehr einfache Fälle bei gewissen Algen liefert die bisherige Appositionstheorie Anhaltspunkte für eine Erklärung der Wachsthumsvorgänge. So hat schon NÄGELI⁴⁾ für *Petalonema* nachgewiesen, dass die sehr wahrscheinlich durch Apposition gebildeten Zellwandschichten eine Zeitlang gedehnt und dann gesprengt werden, so dass die Annahme eines Flächenwachsthum durch Einlagerung nicht nothwendig ist. Dann hat SCHMITZ⁵⁾ auch für eine Alge mit ausgesprochenem Spitzenwachsthum, *Bornetia*, dargelegt, wie an der Spitze fort und fort neue Zellwandkappen angelegt und die älteren in dem Maße, wie die Verlängerung zunimmt, gedehnt und zu

1) SCHMITZ l. c. S. 5; STRASBURGER l. c. S. 6.

2) WILLE, Über die Entwicklungsgeschichte etc., vertritt gegenüber STRASBURGER den NÄGELI'schen Standpunkt und macht bei den Pollenkörnern mancher Pflanzen, z. B. der Onagraceen, auf Unterschiede der einzelnen Zellhautschichten aufmerksam. Indessen hat WILLE keinesfalls einen Nachweis für die regelmäßige Abwechslung der wasserarmen und wasserreichen Schichten geliefert; er begnügt sich damit, aus dem verschiedenen Aussehen auf einen verschiedenen Wassergehalt zu schließen (z. B. S. 14), was wohl nicht zulässig ist.

3) So gehe ich hier auch nicht ausführlich auf die neueste Arbeit von WIESNER ein, »Untersuchungen über die Organisation der vegetabilischen Zellhaut«. Sitzber. d. Wiener Akad. XCIII. Bd. I. 1886. Meine kritischen Bedenken gegen die Grundlagen seiner Hypothese über den Bau der Zellhaut habe ich schon an anderer Stelle geäußert (Biologisches Centralblatt 1886. No. 15). In Betreff der Frage nach dem Wachsthum der Zellhaut hat WIESNER überdies keine positiven neuen Thatsachen gebracht.

4) NÄGELI, Stärkekörner. S. 283—284.

5) SCHMITZ l. c. S. 8; STRASBURGER l. c. S. 189 (Taf. IV. Fig. 55).

einer scheinbar einheitlichen Haut ausgezogen werden. STRASBURGER bestätigte die Beobachtung von SCHMITZ und ebenso BERTHOLD für verschiedene *Griffithia*-Arten, ferner für *Spermothamnion Turneri*. Der letztere Forscher gab auch für das Wachstum von *Conferva amoena* eine ausreichende Erklärung des Zellhautwachstums mit Hilfe der Appositionslehre. Von einem Ausschluss der Intussusceptionstheorie kann selbst für diese Fälle nicht gesprochen werden, und bei allen jenen Pflanzen mit sehr lebhaftem Flächenwachstum, beispielsweise bei einer Internodialzelle von *Chara*, die auf mindestens das 2000fache der ursprünglichen Länge gestreckt wird²⁾, hat die Appositionstheorie keine genügende Erklärung bisher gegeben. Sie setzt eine außerordentliche Dehnbarkeit der Zellhaut voraus, und dieser Voraussetzung widersprechen bisher die bezüglich dieser Eigenschaft gemachten Beobachtungen, welche allerdings noch sehr unzulänglich sind, da sie meist an ausgewachsenen Geweben resp. an Organen, die von verschiedenartigen und in verschiedenen Entwicklungsstadien befindlichen Zellen gemacht worden sind. Noch größere Schwierigkeiten häufen sich bei den Versuchen, die mannigfaltigen Formerscheinungen der Zellhaut, besonders der complicirten Verdickungen auf der Außenfläche frei lebender Zellen, wie der Sporen von Algen etc., bloß durch Dehnung zu erklären³⁾. An und für sich würden manche von diesen Erscheinungen durch die Intussusceptionstheorie leichter verständlich sein, und es giebt vorläufig keinen zwingenden Grund, dieselbe als unmöglich hinzustellen. Schon mehrfach⁴⁾ ist auch auf die Möglichkeit hingewiesen worden, dass das Dickenwachstum durch Apposition, das Flächenwachstum durch Intussusception erfolge. Es unterliegt sogar keinem Zweifel, dass in der schon gebildeten Zellhaut verschiedene Substanzen eingelagert werden; es wäre möglich, dass schon dadurch eine bleibende Volumveränderung, d. h. also Wachstum, herbeigeführt würde; jedenfalls steht der Annahme einer Einlagerung neuer Cellulosetheilchen theoretisch nichts im Wege. Sehen wir

1) BERTHOLD, Studien über Protoplasmamechanik. S. 270.

2) Vergl. NÄGELI, Stärkekörner. S. 279; ferner WIESNER, Untersuchungen über die Organisation der veget. Zellhaut. I. c. S. 57.

3) Für manche Fälle, z. B. die Sporenhaut von *Marsilia* etc., hat STRASBURGER interessante Aufschlüsse über die Entstehung gemacht, welche seine Theorie stützen; vergl. auch BERTHOLD, Studien etc. S. 316—323. Für andere wie für die Pollenkörner herrscht noch viel Zweifel, vergl. die Arbeit von WILLE. Besonders schwierig erscheinen die Verdickungen an den Sporen der Desmidiaceen; hier wäre eine ausführliche und kritische Arbeit sehr nothwendig.

4) So von NÄGELI selbst, »Stärkekörner« S. 286; ferner vergl. PFEFFER, Physiologie. II. S. 64; DETMER, System der Pflanzenphysiologie. S. 467. Nach LEITGEB (Über Bau und Entwicklung der Sporenhaut. Graz 1884) wie WIESNER, Unters. üb. d. Organisation der Zellhaut, soll sowohl Apposition wie Intussusception vorkommen, wobei zwischen Flächen- und Dickenwachstum nicht scharf unterschieden wird. Die LEITGEB'schen Beobachtungen geben keinen zwingenden Beweis für Intussusception.

nun auch, dass die Appositionstheorie in der bisher bekannten Form wenig ausreicht, alle Wachstumserscheinungen genügend zu erklären, so folgt andererseits daraus noch nicht, dass es ihr überhaupt unmöglich wäre. und dass die Intussusceptionstheorie nothwendig herbeigezogen werden müsste¹⁾. Denn ein irgendwie überzeugender Beweis für die letztere Theorie ist ebenso wenig bisher, so weit sich die Thatsachen übersehen lassen, geleistet worden. Wir stehen in diesen Fragen eben noch vor eng verschlossenen Thüren.

Unberührt geblieben ist in dem Vorhergehenden die Frage nach der ersten Entstehung der Zellhaut; die darüber ausgesprochenen Ansichten stehen vielleicht noch weniger auf einem festem Grunde unbestreitbarer Thatsachen. Die älteren Anatomen, vor allen MOUL, begnügten sich mit der allgemeinen Angabe, dass das Cytoplasma die Cellulosetheilchen in nicht näher bekannter Weise an der Außenfläche ausscheidet. Dagegen stellte PRINGSHEIM²⁾ 1854 die Ansicht auf, dass die peripherische Schicht des Cytoplasmas, die »Hautschicht«, sich direct in Cellulose umwandelt. Zuerst blieb diese Hypothese unbeachtet, bis dieselbe in neuerer Zeit von verschiedenen Forschern, so von TSCHISTIAKOFF³⁾, PFEFFER, mit besonderem Nachdruck von SCHMITZ⁴⁾ und STRASBURGER wieder vertheidigt wurde. Die beiden letzteren äußern sich bestimmter dahin, dass gewisse Bestandtheile der Zelle, die sog. Microsomen, welche eiweißhaltig sein sollen, durch Verschmelzung oder Spaltung cellulosebildend auftreten. Über den eigentlichen chemischen Prozess einer solchen Umwandlung von Eiweißsubstanz in Kohlehydrat herrscht keine klare Vorstellung, und es ist auch von vornherein verständlich, dass die chemische Seite der Frage überhaupt nicht eher in Angriff zu nehmen ist, als bis die organische Chemie irgend welche Anhaltspunkte für die Entstehung von Cellulose aus anderen bekannten Stoffen gegeben hat, wozu vorläufig noch wenig Aussicht vorhanden ist.

1) WILLE spricht mehrfach in seinen Arbeiten von Unmöglichkeit der Appositionstheorie, wo eine solche nicht einzusehen ist. Selbst der Hauptfall, den er gegen die Appositionslehre STRASBURGER's anführt, die Entwicklung von Stäbchen auf den Pollenkörnern von *Armeria vulgaris*, kann höchstens darthun, dass die Entstehung durch außerhalb der Zellen befindliches Epiplasma unwahrscheinlich ist. Aber damit ist doch nicht bewiesen, dass sie durch Intussusceptionswachsthum hervorgehen; und von einer Unmöglichkeit der Appositionslehre kann keine Rede sein. Denn sie könnten ja durch Ausstülpung an der ganz jungen Zellhaut entstanden sein etc.

2) PRINGSHEIM, Untersuchungen über den Bau und die Bildung der Pflanzenzelle. Berlin 1854. S. 45—46.

3) TSCHISTIAKOFF, Matériaux pour servir à l'histoire de la cellule végétale I, II, IV. 1874; vergl. JUST, Jahresbericht. 1874. 2. S. 439; id. Beiträge zur Physiologie der Pflanzenzelle; PRINGSHEIM's Jahrb. f. wiss. Botanik. X. S. 26, 30, 44; PFEFFER, Physiologie. 1. S. 287.

4) SCHMITZ, Über Bildung und Wachsthum der Zellmembran. S. 2; STRASBURGER, Bau und Wachsthum der Zellhäute. S. 47, 54 u. w.

Für die Pflanzenphysiologie hat die ganze Frage nach der Entstehung der Zellwand vorläufig nur bezüglich des Streitpunktes Bedeutung, ob nämlich ihre Bildung direkt in der peripherischen Schicht des Plasmas stets vor sich geht, oder vom Innern desselben aus, wobei das Bildungsmaterial nach außen abgeschieden wird. Die letztere Möglichkeit erscheint an und für sich durchaus nicht so unwahrscheinlich, wie STRASBURGER annimmt. Das geht aus der unzweifelhaften Thatsache hervor, dass eine zellhautartige Hülle bei den Euglenen dadurch entsteht, dass dieselbe durch die peripherische Membran nach außen geschieden wird. Die Frage ist deshalb von besonderer Wichtigkeit, weil sie mit der anderen in engem Zusammenhange steht, ob die Hautschicht ein besonderes Organ der Pflanzenzelle vorstellt, entsprechend wie nach meinen Beobachtungen¹⁾ die Plasmamembran vieler Flagellaten und, wie es scheint, die Cuticula der Infusorien. Wird die jedesmalige peripherische Plasmaschicht in Zellhaut umgewandelt, wie STRASBURGER behauptet, so kann die erstere kein solches Organ sein. Wenn dagegen sich ergibt, dass die Hautschicht als ein dem Kern und der Chromatophore analoges selbständiges Zellorgan sich zeigt, so können in ihrem Verhältnis zur Zellhautbildung zwei verschiedene Fälle möglich sein. Die Hautschicht kann die Rolle eines besonderen zellhautbildenden Organes spielen, in ähnlicher Weise etwa wie die Chromatophoren bei der Stärkebildung; oder aber sie ist ein Organ sui generis mit noch näher aufzuklärenden Functionen und gestattet nur den Durchtritt des im Innern entstehenden Bildungsmateriales der Zellhaut nach außen. Aus den bisher vorliegenden Beobachtungen lässt sich keine sichere Entscheidung entnehmen. Was SCHMITZ²⁾ und STRASBURGER²⁾ bisher über die Entstehung der Zellhaut angegeben haben, lässt sich auf verschiedene Weise erklären. Namentlich ihre Hauptstütze, dass bei localen Zellhautverdickungen dieselben schon vorher deutlich im Protoplasma durch die Anordnung der Mikrosomen gekennzeichnet sind, kann nicht beweisend sein, da man nicht weiß, ob nicht diese Körnchen schon Ausscheidungsprodukte sind, resp. in welchem Verhältnis sie zur Zellhaut wirklich stehen. BERTHOLD³⁾ hat übrigens diese Anordnung und Verschmelzung der Mikrosomen bei der Entstehung der Verdickungsleisten von *Sphagnum*-Blättern nicht beobachtet. Wichtiger ist die Beobachtung von STRASBURGER, dem es gelang, bei jungen Pollenkörnern vor der Zellhautbildung eine Schicht vom Plasmakörper abzuheben, welche noch nicht aus Cellulose bestand. Indessen könnte man hier den Einwand machen, dass es nur ein Kunstprodukt infolge Alkoholwirkung ist. Wohl ist aber hervorzuheben, dass die besonders von DE VRIES⁴⁾ vertheidigte Auffassung

1) G. KLEBS, Über die Organisation einiger Flagellatengruppen etc.; Unters. d. bot. Inst. Tübingen. I. S. 336.

2) l. c.

3) BERTHOLD, Studien etc. S. 208, 209.

4) DE VRIES, Plasmolytische Studien, PRINGSHEIM's Jahrb. f. wiss. Bot. XVI. S. 493.

der Hautschicht als ein differenziertes Organ der Zelle auf sehr schwachen Füßen steht. Allerdings ist die allgemeine Annahme wohl richtig, dass das Cytoplasma an der Peripherie etwas dichter als im Innern ist. Durch die Untersuchung von PFEFFER¹⁾ ist ferner nachgewiesen worden, dass diese peripherische Schicht vermöge ihrer besonderen Organisation den osmotischen Austausch zwischen dem Zellinnern und der Außenwelt regulirt. Bei voller Anerkennung dieser besonderen Eigenschaften der Hautschicht ist daraus nicht zu folgern, dass dieselbe nun ein selbständiges, dem Kern entsprechendes Organ vorstellt. PFEFFER selbst hat sich klar gegen diese Folgerung ausgesprochen²⁾ und betont, dass eine solche Hautschicht beliebig an der Grenzfläche jedes lebenden Plasmakörpers entstehen kann. Die in einer früheren Arbeit von STRASBURGER³⁾ beschriebenen Beobachtungen über Strukturverhältnisse der Hautschicht in einzelnen Fällen, wie z. B. bei Schwärmosporen von *Vaucheria*, haben sich nicht als zutreffend erwiesen⁴⁾. Man wird vielleicht am besten den auch von STRASBURGER gebrauchten Ausdruck anwenden, dass die Hautschicht etwas verdichtetes Protoplasma ist; damit ist eine gewisse Besonderheit der peripherischen Schicht angedeutet, ohne dass zugleich unsere Unkenntnis über die wirkliche Organisation derselben verschleiert wäre.

Eine besondere Auffassung hinsichtlich der Zellhautbildung hat BERTHOLD neuerdings ausgesprochen. Er neigt der Ansicht von STRASBURGER zu⁵⁾ und nimmt die Umbildung der peripherischen Schicht in Zellwand an. Jedoch ist es nach seiner Meinung nothwendig, dass jede Zellhautbildung zwischen zwei Plasmaschichten vor sich geht, wie es thatsächlich bei der Zweitheilung vieler Gewebezellen stattfindet⁶⁾. Den Nachweis dieser Nothwendigkeit hat BERTHOLD nicht geliefert, und diese Anschauung steht im scharfen Gegensatz zu jeder Zeit zu beobachtenden Thatsachen der Zellhautbildung an freien Plasmakörpern, wobei eine solche von BERTHOLD vermuthete äußere plasmatische Bekleidung der Zellwand weder von anderen noch auch von ihm selbst gesehen worden ist. Maßgebend sind für BERTHOLD wesentlich theoretische Gründe, die aber wohl nach den Thatsachen umgewandelt werden müssen.

Aus der gegebenen Darstellung ersehen wir, dass über die Frage nach

1) PFEFFER, Osmotische Untersuchungen. 1877. S. 124; id. Über Aufnahme von Anilinfarben etc.; Tübinger Unters. II. S. 316.

2) PFEFFER, Über Aufnahme von Anilinfarben etc. S. 320.

3) STRASBURGER, Studien über das Protoplasma. Jena 1876. S. 10, 25, 35.

4) Vergl. ZIMMERMANN, Die Morphologie und Physiologie der Pflanzenzelle; in SCHENK'S Handbuch der Botanik. Bd. III. S. 506. Die Angabe von STRASBURGER über eine radiale Stäbchenstructur der Hautschicht von *Spirogyra* habe ich ebensowenig wie ZIMMERMANN bestätigen können.

5) BERTHOLD, Studien über Protoplasma-mechanik. S. 154, 260 etc.

6) BERTHOLD l. c. S. 23, 154 etc.

der Entstehung wie nach der Wachstumsweise der vegetabilischen Zellhaut noch die Anschauungen ungeklärt sind und zwischen den verschiedenen Möglichkeiten hin und her schwanken. Die Erkenntnis der großen Schwierigkeit, in diesen Fragen eine sichere bezwingende Entscheidung zu liefern, lehrt nun bei den eigenen Schlussfolgerungen möglichst vorsichtig und kritisch vorzugehen. So möchte ich auch in den folgenden Mittheilungen auf die aus den Beobachtungen gewonnenen Anschauungen, welche im wesentlichen denjenigen von STRASBURGER entsprechen, weniger Gewicht legen, als vielmehr darauf, einen neuen Weg anzugeben, auf welchem vielleicht später eine bessere Einsicht in die Wachstumserscheinungen der Zellhaut zu erlangen ist.

2) Über künstliche Neubildung der Zellhaut.

Die bisherige Methode, Aufschluss über die Vorgänge der Entstehung und des Wachstums der Zellhaut zu gewinnen, ist wesentlich eine vergleichend-histologische. So wichtige Resultate auf diesem Wege über die Strukturverhältnisse des Zellkörpers und seiner Bestandtheile erhalten worden sind, so reicht derselbe nicht für die eben bezeichneten Fragen aus. Wahrscheinlich werden wir der Lösung derselben näher kommen, wenn es gelingt, experimentell bei verschiedenen Pflanzen eine Neubildung von Zellhaut hervorzurufen, die Bedingungen hierfür, den Verlauf genauer zu verfolgen. Einige wenige Beobachtungen sind schon nach dieser Richtung gemacht, aber allerdings auch noch wenig ausgenutzt worden. So hat HANSTEIN¹⁾ bei *Vaucheria* die Heilung von künstlich erzeugten Wunden durch Neubildung von Zellhaut beschrieben, VAN TIEGHEM²⁾ dasselbe für Mucorineen. SCHMITZ³⁾ hat auch an frei herausgetretenen Plasmaballen von einigen Siphonocladaceen die Entstehung einer neuen Zellhaut an der ganzen Oberfläche beobachtet. Zunächst kommt es nur darauf an nachzuweisen, dass solche künstliche Neubildung bei sehr verschiedenen Pflanzen gelingt.

Für die Lösung dieser Aufgabe hat die plasmolytische Methode einen ungeahnten Aufschluss gegeben und einen weiten Ausblick auf weitere Untersuchungen eröffnet. Bis in die höchsten Classen des Pflanzenreiches bietet sich die Möglichkeit dar, nach Abhebung des Protoplasten von seiner alten Zellhaut ihn zu veranlassen, eine neue sich zu bilden. Für die plas-

1) HANSTEIN, Über die Lebensfähigkeit der *Vaucheria*-Zelle. Sitzber. d. Niederrhein. Gesellsch. Bonn 1872; ausführlicher in Botanische Abhandlg. Bd. IV. 2. 1880. S. 45—55; vergl. ferner STRASBURGER, Studien über das Protoplasma. S. 26; BERTHOLD, Studien etc. S. 208.

2) VAN TIEGHEM, Nouvelles recherches sur les Mucorinées. Ann. des Sc. nat. Botanique. Sér. IV. T. 4. 1875. S. 19—24.

3) SCHMITZ, Beobachtungen über die vielkernigen Zellen der Siphonocladaceen; Festschr. der Naturf. Gesellsch. Halle 1879. S. 305—306.

molytischen Versuche wurden die in der Einleitung erwähnten Lösungen von 16—20 % R-Zucker oder 10 % Glycose benutzt, und die letzteren mit den zu prüfenden Pflanzen ans Licht gestellt. Bei folgenden Pflanzen ist nach Eintritt der Plasmolyse eine Neubildung von Zellhaut beobachtet worden: unter den Algen bei sämtlichen bei Tübingen vorkommenden *Zygnema-Mesocarpus*-Arten, bei zahlreichen Spirogyren, mehreren *Oedogonium*-Arten, bei *Conferva* spec., *Chaetophora endiviaefolia*, *Stigeoclonium* spec., *Cladophora fracta*, *Vaucheria*, unter den Moosen bei den Blättern von *Funaria hygrometrica*, unter den Farnen bei Prothallien von *Gymnogramme* spec., unter den Monocotylen bei den Blättern von *Elodea canadensis*.

Die Zeit, welche von der Erreichung des Gleichgewichtszustandes bei der Plasmolyse bis zum Auftreten der ersten Zellhautschicht verläuft, ist bei derselben Concentration der Zuckerlösung für die verschiedenen Pflanzen eine verschiedene und scheint von specifischen Eigenthümlichkeiten abzuhängen. Am schnellsten bildet *Vaucheria* neue Zellhaut, so in 10 % Glycose, bisweilen schon innerhalb der ersten Stunde; bei *Conferva* spec. dauert es 1—2 Tage, ebenso bei den Prothallienzellen von *Gymnogramme* spec. Die Zygmenen brauchen im Allgemeinen, abgesehen von zahlreichen individuellen Schwankungen, 3—4 Tage. Sehr wechselnd und unregelmäßig ist das Verhalten der einzelnen *Spirogyra*-Arten. Am längsten währt es bei den Blattzellen von *Funaria* und *Elodea*, welche gewöhnlich 8—10 Tage, bisweilen noch mehr nothwendig haben, um sich mit neuer Zellwand zu umkleiden.

Die in den Zuckerlösungen nach Plasmolyse neu entstehende Zellhaut erscheint in manchen Fällen als ein sehr zartes, homogenes, scharf beiderseits umschriebenes Häutchen, so z. B. bei den Prothallien, bei *Funaria* (Taf. VI, Fig. 27, 29 s), bei *Elodea* (Taf. VI, Fig. 30 s). Bei vielen Algenzellen gestaltet sich dagegen die neue Zellhaut als eine verhältnismäßig sehr breite weiche, oft sehr schwach lichtbrechende Masse, welche nicht selten eine sehr deutliche Schichtung erkennen lässt, wie sie im normalen Leben sich nicht so stark ausprägt. Am ausführlichsten ist die Neubildung der Zellhaut bei den Zygmenen untersucht worden und für sie will ich auch meine Beobachtungen genauer wiedergeben.

Für die Untersuchung diene hauptsächlich diejenige *Zygnema*-Form, welche ich in meiner früheren Arbeit ¹⁾ als *Zygnema* C. bezeichnet habe und auch weiterhin so nennen will; ich muss dabei unentschieden lassen, ob, wie es wahrscheinlich ist, mehrere distincte Species darunter begriffen sind ²⁾. Unter dem Fadengemenge dieser *Zygnema* C. können wir noch zwei Hauptformen unterscheiden, die aber durch alle möglichen Zwischenstadien ver-

1) KLEBS, Über die Organisation der Gallerte. Tübinger Untersuchungen. II. S. 335.

2) So gehört das, was gewöhnlich als *Zygnema cruciatum* bezeichnet wird, in diese Gruppe von *Zygnema* C.

bunden sind; *Zygnema C. α* mit breiteren und kürzeren Zellen (Durchmesser etwa 44—47 μ , Zellen 1—2mal so lang als breit; vergl. z. B. Taf. V, Fig. 14, 15) und *Zygnema C. β* mit schmälereu und länger gestreckten Zellen (Durchmesser etwa 36—44 μ ; Zellen 2—4mal so lang als breit; vergl. z. B. Taf. V, Fig. 10, 12). Die kurzcelligen Fäden besitzen auch meistens eine etwas dickere Zellhaut als die langzelligen.

In R-Zuckerlösungen von 16—20 % werden die sämtlichen Zellen der *Zygnema*-Fäden plasmolysirt, wenn auch in verschiedenem Grade, meist bei der Form α weniger, als bei β . Nach 3—5 Tagen erscheint um die noch kugeligen oder schon in die Länge gestreckten Protoplasten die erste Zellhaut in Form einer sehr zarten Schicht, welche erst deutlich wird bei erneuter Plasmolyse mit concentrirter Salpeterlösung. Allmählich nimmt die Zellhaut an Dicke zu, bleibt bei der kurzcelligen Form im Ganzen schwer sichtbar und homogen, während bei den langcelligen Fäden die Zellhaut in ihrer Dicke oft auffallend vergrößert ist, dabei ohne Anwendung von Reagentien vollkommen homogen erscheinen kann. Da die Protoplasten bei weiterem Wachsthum sehr mannigfache Gestalten annehmen, so ist auch die Zellhaut je nach den Zellen sehr ungleichmäßig entwickelt. Besonders in Culturen von 10 % Glycose tritt aber eine Schichtung sehr klar hervor (Taf. VI, Fig. 6) und nicht selten in der Weise, dass fast ausschließlich an den beiden Enden des Protoplasten lebhaftc Neubildung von Zellhautschichten vor sich geht (Taf. VI, Fig. 28). Die Ursachen für die mannigfachen Variationen in Dicke, Schichtung, Aussehen, welche bei den Zellhäuten der einzelnen Protoplasten sich darbieten, sind nicht näher bekannt; individuelle Eigenthümlichkeiten müssen hierbei eine Hauptrolle spielen. Ganz besonders ausgebildet erscheint die Schichtung bei solchen Protoplasten, welche bei der Plasmolyse eine Hälfte ihres Körpers verloren haben und doch fähig sind sich neu zu behäuten. Die Neubildung kann auch dann vorzugsweise an dem einen Ende vor sich gehen, so dass Gestaltungen von Fig. 12 *h* auf Taf. V zur Erscheinung kommen. Bisweilen findet aber die fortdauernde Schichtenbildung rings um den Protoplasten statt, welcher selbst dabei mehr und mehr sich contrahirt, verkleinert, bis er als kleiner Rest zu Grunde geht, während um ihn zahllose Wandschichten entstanden sind. Eine solche allmähliche Contraction beobachtete ich auch bei einigen Zellen des *Funaria*-Blattes in 20 % R-Zucker, nur dass hier eine einseitige Kappenbildung die Folge davon war (Taf. VI, Fig. 29).

Die neu gebildete Zellhaut tritt in der Zuckercultur sehr viel schärfer und deutlicher hervor, wenn man denselben etwas Congoroth zufügt (etwa 0,04 %). Schon früher¹⁾ habe ich auf diesen Farbstoff aufmerksam gemacht, der dadurch ausgezeichnet ist, dass er sehr lebhaft von Zellhäuten der Algen aufgenommen wird, andererseits in sehr weiten Grenzen unschädlich

1) KLEBS l. c. Tübinger Untersuch. II. S. 369.

sich erweist. Dazu kommt, dass junge, eben neu entstandene Zellwandschichten ganz besonders lebhaft den Farbstoff an sich ziehen, so dass sie ihn den alten Zellwänden entreißen können und es gelingt, wesentlich nur die neugebildeten zu färben. Jedoch übt die Einlagerung des Congoroth in die Zellhaut einen bedeutsamen Einfluss insofern aus, als dadurch das Längenwachstum beschränkt, bez. vollständig verhindert wird, während das Dickenwachstum ungestört, ja um so lebhafter vor sich geht. Infolge dessen wachsen in den Culturen von R-Zucker-Congoroth die Protoplasten sehr viel weniger als in reinen Zuckerlösungen und nehmen abweichende Formen an. Besonders häufig schnüren sie sich in der Mitte mehr oder weniger ein und lagern dabei in dem Maße, wie das geschieht, neue Zellwandmassen an diesen Stellen ab (Taf. VI, Fig. 45); es kann sich sogar ereignen, dass die Protoplasten sich in ein bis mehrere Stücke durchschnüren und dabei dann allmählich sehr dicke Zellwände ausbilden (Taf. V, Fig. 40). In Glycose-Congoroth ist bei sehr vielen Protoplasten die dicke Zellhaut vollkommen homogen und lässt erst in Alkohol die Schichtung erkennen, während diese meist sehr deutlich in R-Zucker-Congoroth sich zeigt. Der Verlauf der Schichten ist entsprechend den mannigfaltigen Gestalten der Protoplasten sehr verschieden; auffällig ist es, dass dieselben fein wellig gefaltet, fast wie gerunzelt erscheinen (Taf. VI, Fig. 45). Die einzelnen Schichten gehen durchaus nicht immer rings um den ganzen Protoplasten; vielmehr hat derselbe die Fähigkeit, nach Maßgabe theils äußerer, theils innerer Ursachen an verschiedenen Stellen einzelne Stücke solcher Schichten abzulagern, die sich dann in der schon vorhandenen allmählich auskeilen. Jede Schicht erscheint an der Peripherie von einer dichteren Linie begrenzt, die mit dem Ausdruck von STRASBURGER¹⁾ als Grenzhäutchen bezeichnet werden kann, und auf deren Vorhandensein die Sichtbarkeit der Schichtung hauptsächlich beruht.

Bei verschiedenen, leider nicht genauer bestimmten *Oedogonium*-Arten tritt ebenfalls nach Plasmolyse in Zuckerlösung lebhaftere Neubildung von Zellhaut ein, sei es, dass eine einfache, scharf begrenzte Haut entsteht (Taf. VI, Fig. 33), oder zahlreiche in der Breite und dem Aussehen variirende Schichten erzeugt werden, besonders dann, wenn der Protoplast wie in den vorher erwähnten Fällen bei *Zygnema* successive immer stärker sich contrahirt. Auch bei *Oedogonium* bieten die einzelnen Protoplasten mannigfache Verschiedenheiten dar; man vergleiche auf Taf. VI die Figuren 34, 34, 35, 37.

Die Zellhaut bei *Spirogyra*, *Mesocarpus*-Arten, welche in Zuckerlösungen von 10—15% cultivirt werden, erscheint meist als ungeschichtete, sehr weiche breite Hülle, während bei *Cladophora* in 20—25% Zucker zahlreiche scharf gesonderte Schichten gebildet wurden.

1) STRASBURGER, Bau und Wachsthum etc. S. 6.

An dicotylen Pflanzen sind bisher keine ausführlichen Untersuchungen angestellt worden, und hier haben dieselben auch viel größere Schwierigkeiten zu überwinden, da die Zellen in dem ungewohnten Medium sehr leicht absterben. Vielleicht haben sie aber überhaupt die Fähigkeit der Neubildung von Zellhaut verloren. Mehrfach geprüft wurden die Zellen aus dem Fruchtfleisch der Schneebeere (*Symphoricarpus racemosa*). Auffallend war es, wie in R-Zuckerlösung von 25% schon nach 24 Stunden das Protoplasma der Zellen mit großer Deutlichkeit und in prachtvoller Ausbildung sich zeigte, und sich auch mehrere Wochen vollständig normal und lebendig erhielt. Eine unzeifelhafte Neubildung von Zellwand konnte bisher nicht festgestellt werden; nur in einer Cultur mit Congoroth beobachtete ich bei einzelnen Zellen ein abhebbares peripherisches Häutchen, dessen Cellulosenatur nicht erwiesen wurde.

Unter den Algen, welche im Allgemeinen nach Plasmolyse so leicht zur Neubildung der Zellhaut veranlasst werden können, fallen um so mehr jene Formen auf, bei denen bisher sich die gleiche Erscheinung nicht hat hervorrufen lassen. Vor Allem ist es die ganze Familie der Desmidiaceen, ganz im Gegensatz zu den anderen Conjugaten. Untersucht wurden Vertreter der meisten Gattungen: *Desmidium Swartzii*, *Euastrum verrucosum*, *ansatum*, *oblongum*, *Cosmarium Botrytis*, *pyramidatum*, *Penium Digitus*, *Pleurotaenium Trabecula*, *Closterium Lunula*, *acerosum*, *didymotocum*, *Tetmemorus granulatus*. In 15—20% R-Zucker hielten sich die stark plasmolytischen Protoplasten dieser Algen mehrere Wochen vollkommen lebendig, die Fäden von *Desmidium* sogar bis 4½ Monate, ohne aber irgend eine Veränderung, jedenfalls ohne Neubildung von Zellhaut zu zeigen. Ebenso negativ fielen alle Versuche mit Diatomeen, besonders mit den Fäden von *Melosira varians* aus. Es wäre gerade sehr interessant, bei allen diesen Algen die Neubildung zu beobachten, da bei ihnen die Zellhaut so besondere Strukturverhältnisse darbietet, aber gerade deshalb sind wohl besondere Umstände, die in der reinen Zuckerlösung nicht verwirklicht sind, für diesen Prozess nothwendig.

Ueberhaupt hängt auch die Neubildung von specifischen Eigenthümlichkeiten ab. So entstand an den plasmolytischen Zellen der Prothallien von *Gymnogramme spec.* die Zellhaut sehr schnell und allgemein, während bisher vergeblich die Versuche mit den Prothallien von *Blechnum spec.*, *Ceratopteris thalictroides* sich erwiesen, bei welch' letzteren in 20% R-Zucker und 0,05 chromsaurem Kali sich einige Zellen 4 Wochen lebend erhielten. Negativ fielen ferner die Versuche mit *Lemma minor*, *Vallisneria spiralis* aus, obwohl ich an Schnitten aus den Blättern der letzteren Pflanze in 20% R-Zucker noch nach 3 Wochen lebende Protoplasten beobachtete.

Der beschriebene Vorgang der Neuentstehung von Zellhaut nach Eintritt der Plasmolyse ist im wesentlichen eine experimentell herbeigeführte

Vollzellbildung. ¹⁾ Schon BERTHOLD ²⁾ hat den Begriff von STRASBURGER erweitert und rechnet hierzu neben der Schwärmsporen- und Eibildung bei Algen, Pilzen etc. auch die Verjüngung der Sporenmutter- und Sporenzellen der Gefäßcryptogamen, der Pollenzellen sowie die einfache Häutung der Sporen von Saprolegnien. Das Charakteristische in dem Vorgang beruht, wie BERTHOLD richtig bemerkt, »in allen diesen Fällen auf der Ablösung des gesamten Plasmakörpers der sich verjüngenden Zellen von der alten Membran unter Contraction desselben«.

Allerdings glaubt BERTHOLD, dass mit diesem Vorgang fundamentale Aenderungen der Symmetrieverhältnisse der betreffenden Zelle verbunden sind, was für die Schwärmsporenbildung von *Oedogonium* zutrifft, aber nach meinen Anschauungen nicht allgemein richtig und, selbst wenn es wäre, auch nicht so bedeutungsvoll erscheint, weil mir überhaupt die Symmetrieverhältnisse nicht eine so maßgebende Rolle zu spielen scheinen, wie es BERTHOLD annimmt. Es ist nicht einzusehen, was für ein fundamentaler Unterschied vorhanden ist, ob ein Plasmakörper sich so stark contrahirt, dass er sich von der alten Zellwand ablöst und eine neue, selbständige Zellhaut bildet, oder ob er sich nur so schwach zusammenzieht, dass die neue Zellhaut als die innerste Schicht der alten erscheint. Denn thatsächlich lassen sich in den plasmolytischen Versuchen solche Übergänge sehr gut beobachten. In 10—12 % R-Zucker werden einzelne der kurzzelligen Fäden so schwach plasmolytisch, dass sie zwar ihren Turgor verlieren, was an der Verdickung der Zellhaut kenntlich wird, dass aber die Protoplasten derselben so nahe anliegen, dass die neue Zellhaut mit der alten vollständig oder in manchen Fällen wenigstens an einzelnen Stellen verschmilzt. Mehrfach ist auch hingewiesen worden, wie eine sehr lebhaftere Neubildung von Zellhautschichten mit einer steten Contraction des Plasmakörpers verbunden ist, und das ist überhaupt eine verbreitete Erscheinung deshalb, weil ein sehr intensives Dickenwachstum hauptsächlich nur dann erfolgt, wenn das Längenwachstum stille steht. Jener Verjüngungsprozess, wie er am auffälligsten in der Schwärmsporenbildung von *Oedogonium* zu Tage tritt, ist nicht etwas so ganz Eigenartiges, sondern nur eine besondere Form der allgemeinen Zellhautbildung; das beweisen die zahlreichen Zwischenstufen, die beide Prozesse verknüpfen. Danach ist nicht ausgeschlossen, dass man aus praktischen Gründen eine Unterscheidung für passend erachtet. Übrigens ist es wahrscheinlich, dass es gelingen wird, die Schwärmsporenbildung durch natürlich herbeigeführte Contraction wenigstens zu befördern. Denn dafür spricht eine bisher allerdings nicht weiter verfolgte Beobachtung, dass bei einer *Oedogonium*-Art in 6 % R-Zuckerlösung, welche an und für sich nicht plasmolytisch wirkt, fast sämtliche Protoplasten sich contrahirten

1) STRASBURGER, Zellbildung und Zelltheilung. III. Aufl. S. 80.

2) BERTHOLD, Studien etc. S. 288.

und dann sich zu Schwärmsporen umbildeten, welche aber nicht aus der alten Zelle heraustreten konnten.

3) Die erste Entstehung der Zellhaut.

Aus der vorhin gegebenen Darstellung ging klar hervor, wie über dieses Problem noch sehr unvermittelt sich gegenüberstehende Anschauungen in der Litteratur vorhanden sind. Der sicherste Weg, zu einer bestimmten Entscheidung zu gelangen, würde darin bestehen, an der Hautschicht eines Protoplasten deutlich bemerkbare Stellen unverrückbar zu fixiren und an deren Verhalten bei der Zellhautbildung die Art und Weise der letzteren festzustellen. Bisher gelang es nicht, die technischen Schwierigkeiten dieser Versuche zu überwinden. Eine andere Methode, welche besonders für die STRASBURGER'sche Ansicht von großer Bedeutung wäre, bestände darin, in dem ersten Entwicklungsstadium der Zellhaut dieselbe am lebenden Protoplasten durch Plasmolyse zu trennen und eine genaue mikrochemische Untersuchung dieses ersten Häutchens vorzunehmen. Wenn man ein geeignetes Object fände und genau nachweisen könnte, dass das schon abhebbare Häutchen noch aus plasmatischer Substanz und nicht aus Cellulose zusammengesetzt ist, und wenn man den allmählichen Übergang der letzteren aus ersterer verfolgen würde, so wäre die Hypothese von STRASBURGER als richtig bewiesen. Die von mir benutzte Methode, die experimentell veranlasste Neubildung von Zellhaut mit Hilfe färbender Mittel genauer zu beobachten, hat bisher in ihren Resultaten nicht zu unbedingt sicherer Entscheidung geführt, jedoch einige wohl bemerkenswerthe Thatsachen zu Tage gefördert.

Ein ausgezeichnetes Object für diese Untersuchungen bildet *Vaucheria*. Seit den Arbeiten von HANSTEIN ist es bekannt, dass zerschnittene *Vaucheria*-Fäden an der Wundfläche eine neue Cellulosekappe bilden, welche sich an die Seitenwände ansetzt und den normalen Zustand wieder herstellt (vergl. die auf S. 500 angegebene Litteratur). STRASBURGER¹⁾ hat besonders an Schwärmsporen durch Drücken Neubildung von Zellhäuten erzeugt, in einem Falle sogar ineinander geschachtelte Membranen erhalten. Über den eigentlichen Vorgang dieser Neubildung wird nichts Ausführliches mitgetheilt und auch nicht von SCHMITZ und BERTHOLD, welche an anderen Siphoneen die gleiche Erscheinung beobachtet haben.²⁾

Die mir zur Untersuchung vorliegenden *Vaucheria*-Fäden gehörten zwei Arten an, der *sessilis* und *geminata*, wie die Oosporenbildung zeigte. Im vegetativen Zustand sind die Arten nicht zu unterscheiden und beide wachsen

1) STRASBURGER, Studien über Protoplasma. S. 53—54.

2) PFEFFER, Pflanzen-Physiologie. II. S. 62, hat ebenfalls bei *Vaucheria* nach Abhebung des Protoplasmas von der Zellwand die Neubildung eines Zellwandstückes um den contrahirten Protoplasmakörper beobachtet.

auch auf feuchter Erde durcheinander. Zerschneidet man die *Vaucheria*-Schläuche im Wasser in zahlreiche Stücke, so treten zahlreiche Plasmaballen heraus, von denen aber weitaus die meisten zu Grunde gehen. Bei Anwendung verdünnter Zuckerlösung, welche schon PFEFFER¹⁾ benutzte, um die Plasmatheile länger lebend zu erhalten, geht die Membranbildung um dieselben ungemein viel lebhafter vor sich, so dass man beliebige Quantitäten solcher membranumkleideter Theilstücke von *Vaucheria* erlangen kann. Denselben Vortheil wie 4 % Glycose oder R-Zucker gewähren (4 %) Lösungen von Milchzucker, Inosit, Dulcit, Glycerin, Leucin, Glycocoll; dagegen wirken Albuminlösung, 0,5 % Pepton, 0,5—4 % Salpeter, Chlornatrium schädlicher noch wie reines Wasser.

Bei sehr starker Zerstückelung der *Vaucheria*-Fäden mit Hülfe einer sehr feinen Schere kann man drei verschiedene Formen der Theilstücke unterscheiden: solche, welche noch ganz von der alten Zellwand umschlossen bleiben, infolge dessen meist cylindrisch gestaltet sind; solche, welche an den geöffneten Enden der Schläuche hervorquellen, aber mit denselben noch in Verbindung bleiben; schließlich solche, welche ganz frei als nackte Plasmaballen heraustreten. In den beiden letzteren Gruppen herrscht eine außerordentliche Mannigfaltigkeit nach Größe und äußerer Gestaltung. Die Theilstücke nehmen lebhaft Wasser in sich auf und schwellen zu großen Blasen an, welche eiförmig, wurstförmig, bohnenförmig, traubig u. s. w. sein können. An und für sich streben bekanntlich die Plasmaballen der Kugelform zu und eine Anzahl derselben erreicht dieselbe. Bei den meisten zeigen sich aber so bald Anfänge der Zellhautbildung und damit Veränderungen der Cohäsionsverhältnisse in der peripherischen Schicht, dass solche von der Kugelform abweichende Formen leicht erklärlich sind.

Die Bildung der neuen Zellhaut geht sehr schnell²⁾ vor sich; an den Enden der im alten Schlauch bleibenden Theilstücke bisweilen schon nach wenigen Minuten, langsamer an der Oberfläche der hervorquellenden Enden. Unter den frei schwimmenden Plasmaballen giebt es dann immer eine Anzahl selbst ganz großer und inhaltsreicher, welche mehrere Tage leben, aber ohne Zellhaut bleiben. Die ersten Anfänge der Membranbildung lassen sich am besten beobachten, wenn man der Zuckerlösung etwas Congoth zufügt (vergl. S. 502). Der Farbstoff dringt in lebendes Plasma von *Vaucheria* niemals ein, färbt todes Plasma schmutzig gelbroth, die alte Zellwand schwach rosig, die in ihm entstehende neue Zellwand leuchtend roth. Infolge dessen heben sich alle diejenigen Stellen der Theilstücke, welche eine neue Zellhaut erhalten haben, in scharfem Contrast von den gar nicht oder von alter Zellhaut umkleideten Stellen ab, und dieser Gegen-

1) PFEFFER, Osmotische Untersuchungen. S. 427.

2) Nach VAN TIEGHEM geht die Wundheilung bei Mucorineen in wenigen Minuten vor sich; l.c. S. 20.

satz steigert sich noch beim Auswaschen des Farbstoffes, da derselbe in der jungen Zellhaut und nur in ihr merkwürdigerweise vollständig fixirt ist.

Während in reiner Zuckerlösung die neue Zellhaut als eine dünne, zarte, aber beiderseits scharf begrenzte und stets homogene Schicht erscheint, nimmt dieselbe bei Gegenwart von Congoroth, abgesehen von der Färbung, meistens ein anderes Aussehen an. Die Zellhaut tritt als eine lockere, wasserreiche, oft wolkenartige Masse auf, so dass sie in der ersten Zeit als breite, mehr schleimartige rothe Hülle bemerkbar wird, die außerdem häufig an einzelnen Stellen sehr unregelmäßig ausgebreitet ist (Taf. V, 5, 6). Erst allmählich wird sie zu einer festeren, dünneren Zellhaut, was durch wasserentziehende Mittel sofort herbeigeführt werden kann. Bei sehr langsamer Entstehung um die großen kugligen, frei schwimmenden Plasmaballen war die Peripherie besetzt mit einem roth gefärbten zarten, hin und her gebogenen Fädengeflecht, das in anderen Fällen sehr viel dichter ist. Sehr häufig beobachtet man nach Trennung der neuen Zellwand vom Protoplasten mit Hilfe der Plasmolyse eine sehr deutliche körnige Structur derselben, die aber möglicherweise auf Plasmakörnchen zurückzuführen ist, die an der Innenseite der Zellhaut festkleben.

Aus den zahlreichen Versuchen mit *Vaucheria* ergiebt sich als allgemeines Resultat, dass überall an jeder beliebigen Stelle, wo nur das Cytoplasma infolge der Verletzung von der alten Zellwand abgehoben ist, selbst wenn es an seiner Peripherie unverletzt ist, neue Zellwandsubstanz entsteht, welche sich dort an die alte Zellhaut ansetzt, wo die letztere in unmittelbarer und noch ungestörter Berührung mit dem Cytoplasma steht. So geschieht es nicht bloß an den Enden, wie HANSTEIN¹⁾ schon beobachtete, sondern auch an den Seitenwänden, sowie und soweit eine Trennung geschehen ist. Die an den Enden herausquellenden Plasmaballen umgeben sich auch nur insoweit mit neuer Zellhaut, als sie die alte nicht berühren.

Die direkte Beobachtung der ersten Anfänge der Zellhautbildung lässt sich am besten an der aus dem geöffneten Schlauch sich hervorwölbenden Plasmamasse verfolgen. Dieselbe schwillt unter Aufnahme von Wasser auf, und enthält²⁾ je nach den Einzelfällen eine sehr verschiedene Quantität von Plasma, Chlorophyllkörpern u. s. w. Das ganze Plasma ist in sehr lebhafter wogender Hin- und Herbewegung begriffen; in der peripherischen Schicht sammelt sich eine größere Menge von Körnchen an; Plasmafäden und auch Plasmalamellen durchsetzen den Zellsaft, verändern sich aber fortwährend. An der Peripherie beginnt nun die Bildung einer rothen Zellhaut, aber durchaus nicht immer gleichmäßig, sondern nicht selten als ein zart rosiger

1) HANSTEIN, Botanische Abhandlg. IV, 2. S. 49; STRASBURGER, Studien etc. S. 26.

2) HANSTEIN l. c. S. 49—50. Taf. 10. Fig. 5. Das von H. beobachtete Zurückziehen der Chlorophyllkörper von der verwundeten Stelle lässt sich bei der hervortretenden Plasmamasse nicht so beobachten, weil die Chlorophyllkörner in die peripherische Schicht durch den Druck des Zellsaftes gedrängt werden.

Anflug an einer Stelle, oder gleichzeitig an mehreren, die nach und nach sich vergrößern und verschmelzen. Die zuerst bemerkbare rothe Substanz befindet sich anscheinend, soweit die optischen Hilfsmittel ein Urtheil erlauben, in der peripherischen Schicht und sondert sich erst allmählich davon ab. An diesen rothen Flecken lässt sich in diesem Stadium keine Trennung von Zellhaut und Cytoplasma durch Reagentien vollführen. Selbst wenn schon ringsum eine rothe Schicht sich gebildet hat, ist der Zusammenhang mit dem Plasma noch ein sehr inniger. Niemals gelang es mir, bei zahlreichen Versuchen, von den Plasmaballen ein Häutchen zu trennen, das sich noch nicht mit Congoroth färbte, oder sonst wie eine Hautschicht sich verhielt. Dort, wo keine Färbung vorhanden war, contrahirte sich der Plasmakörper nach Art aller nackten plasmatischen Körper, ohne die Spur einer Hülle zu hinterlassen.

Die Frage erscheint zunächst berechtigt, ob denn alles, was bei den beschriebenen Versuchen sich mit Congoroth färbt, auch wirklich echte Zellwandsubstanz vorstellt. In jedem Falle ist es keine plasmatische resp. hautschichtähnliche Substanz, da diese nicht einmal im Tode eine solche Färbung annimmt; aber mit Hülfe anderer Reagentien lässt sich der sichere Nachweis führen, dass die rothe Hülle aus celluloseähnlichen Stoffen bestehen muss. Vor allem spricht dafür das Verhalten gegenüber Chlorzinkjod, welches alte Zellwände von *Vaucheria* gar nicht oder nur ganz schwach, alle neu gebildete Zellhaut aber unzweifelhaft violett färbt, ein deutliches Zeichen für die Reinheit der jungen Membran. Auch das Verhalten gegen Alkalien, Säuren, gegenüber Jod und Schwefelsäure, ferner gegen das von NOLL ¹⁾ empfohlene Eau de Javelle weist auf die Cellulosenatur hin. Übrigens ist zu bemerken, dass für die Reactionen mit Säuren und auch mit Chlorzinkjod die in reinen Zuckerlösungen gebildeten farblosen jungen Zellhäute vorzugsweise benutzt wurden.

Aus den vorliegenden Beobachtungen lässt sich für die Hauptfrage nach der Entstehungsweise der Zellhaut, ob durch Ausscheidung oder Umbildung, noch kein sicherer Schluss ziehen. Dieselben lassen sich mit beiden Hypothesen vereinen. Sehr viel wahrscheinlicher tritt aber für den speciellen Fall von *Vaucheria* die von STRASBURGER vertretene hervor bei Berücksichtigung der folgenden Thatsache. In einzelnen Schläuchen zieht sich durch das Hervorquellen des Inhalts an beiden geöffneten Enden die Protoplasmamasse auseinander. Bisweilen bleiben aber die sich so theilenden Hälften noch durch verschieden lange und breite plasmatische Stränge in Verbindung. Bei beiden, oft sehr ungleichen Theilstücken geht dann die Zellhautbildung vor sich, sie schließen sich von einander ab; zugleich bildet aber auch das Mittelstück Zellwandmasse, entweder so, dass noch etwas Plasma übrig bleibt, oder, dass das ganze Plasmastück vollständig in Zell-

1) NOLL, Botanisches Centralblatt. Bd. 21. 1885. S. 377.

haut umgewandelt wird (Taf. V, Fig. 4). So können zwei Theilstücke bald durch dickere, bald durch ganz dünne rothe Zellwandstränge verbunden bleiben. Dieses Verhalten spricht in der That sehr für die Umbildungshypothese, wenn auch die Möglichkeit zuzugeben ist, dass von den beiden Theilstücken die Zellhautsubstanz an die Verbindungsstränge hinbefördert und hier ausgeschieden worden ist, während diese nachher selbst eingezogen wurden.

Mit größerer Bestimmtheit kann man sich aber gegen jene Anschauung wenden, welche in der Hautschicht ein besonderes differenzirtes Organ, speciell wie DE VRIES¹⁾ meint, für die Zellhautbildung erblickt. Die hauptsächlichste Stütze ruht in der früher von STRASBURGER²⁾ aufgestellten Behauptung, dass nur solche Plasmaballen von *Vaucheria* Zellhaut bilden sollten, welche von der ursprünglichen Hautschicht umgeben sind, während diejenigen, welche nur aus dem sog. Körnerplasma bestehen, zu Grunde gingen. Augenscheinlich war das Beobachtungsmaterial für diese Behauptung nicht ausreichend, schon aus dem einfachen Grunde nicht, weil STRASBURGER nicht angiebt, woran er denn überhaupt die alte Hautschicht erkannt hat, zum Unterschied von der an jedem Plasmaballen vorhandenen, sei es auch an solchen, die aus Körnerplasma herrühren. Dies ist auch in der That nicht möglich, weil es keine besonderen Kennzeichen von Hautschicht giebt, als dasjenige der scharfen Begrenzung nach außen. Denn die Körnchen reichen bis zu dieser äußersten peripherischen Schicht hinan; besonders nach der Verletzung ist es eine allgemeine Erscheinung, dass die vorher nur sehr zerstreut vorkommenden Körnchen, die Mikrosomen, gegen den Wundrand hin in großer Menge zuströmen und sich anhäufen, so dass eben bis zur peripherischen Linie alles Körnerplasma ist. Vor allem ist nun zu betonen, dass die HANSTEIN'sche Angabe, dass die Hautschichtsränder an der Wunde sich zusammenneigend aneinander schließen, mindestens nicht für alle Fälle richtig ist und nothwendig gilt. In den mit Ölimmersion am sorgfältigsten beobachteten Beispielen findet an der Wundfläche des Protoplasten ein lebhafter Kampf zwischen dem eindringenden Wasser und dem Plasma statt; Vacuolen treten heraus, schnüren sich ab, zerreißen: allmählich dringt körniges Plasma in dichteren Massen heran und schließt sich zu einer nach außen scharf begrenzten Schicht zusammen. An dieser beginnt jetzt rothe Zellhaut sich zu bilden. Doch während dieses Prozesses kann durch erneute Wasseraufnahme die neue Hautschicht stark blasenförmig hervorgewölbt werden, am Grunde der immer stärker vor-

1) DE VRIES, Plasmolytische Studien etc. S. 493.

2) STRASBURGER, Studien etc. S. 54; übrigens hat in dieser Abhandlung S. aufmerksam gemacht (S. 54), dass in manchen Fällen, wie bei den Myxomyceten, die Hautschicht nichts anderes als die verdichtete Grundsubstanz des Protoplasmas ist, ja dass bei Pseudopodien der Rhizopoden und Radiolarien überhaupt keine Hautschicht sich nachweisen ließe (S. 35).

tretenden Blase sammelt sich neues Körnerplasma und bildet abermals eine neue Hautschicht (Taf. V, Fig. 3) und an dieser später Zellstoffsubstanz, welche mit der vorher erzeugten verschmilzt. Das lebhaft herbeiströmen¹⁾ der Körnchen zu den Stätten der Zellhautbildung weist darauf hin, dass SCUMITZ und STRASBURGER wohl Recht in der neuerdings ausgesprochenen Annahme haben können, dass solche Körnchen, die Mikrosomen, als Bildungsmaterial der Zellwand eine Bedeutung haben, wenn auch nicht näher anzugeben ist, worin dieselbe besteht. Jedenfalls kann man hier bei *Vaucheria* den Satz aufstellen, die Zellhaut geht aus Körnerplasma hervor. Ebenso klar geht aber die Bedeutungslosigkeit der Hautschicht als eines besonderen zellhautbildenden Organs auch aus folgender Beobachtung hervor. Wenn aus dem geöffneten Schlauchende das Plasma sich vorwölbt und sich zu einer großen Blase ausdehnt, deren Durchmesser das 3—5 fache desjenigen vom Schlauche beträgt, so muss bei der riesigen Oberflächenvergrößerung schon der größere Theil der die Blase umkleidenden Hautschicht aus neu hinzutretendem Körnerplasma herrühren. Eine solche Blase kann bei beginnender Zellhautbildung mit steigendem osmotischen Druck an einer Stelle reißen und aus dem inneren Plasma eine zweite Blase hervorwölben; ja diese kann wachsen und noch eine dritte Generation in derselben Weise bilden, so dass dadurch eine traubenförmige Ansammlung solcher Blasen entsteht, welche sämmtlich sich mit neuer Zellhaut umkleiden. Wenn man nicht zu ganz mystischen Vorstellungen greifen will, so muss man sagen, dass in den letzten Blasen-Generationen so gut wie keine Spur der ursprünglichen Hautschicht vorhanden ist, folglich dass jedes Cytoplasma die Fähigkeit hat, an seiner Peripherie in directer Berührung mit dem Außenmedium Hautschicht zu bilden, was schon PFEFFER²⁾ betont hat, und ebenso neue Zellhaut, vorausgesetzt natürlich, dass die allgemeinen Bedingungen für Membranbildung, Nährstoffe, Sauerstoff etc., vorhanden sind.

Von diesem Standpunkt aus erscheint mir nun die Frage, ob die Zellhaut direkt in der Hautschicht oder in der ihr anliegenden, bei den *Vaucheria*-Blasen bisweilen kaum messbar dicken Plasmaschicht entsteht, erst von secundärer Bedeutung. Sicher entscheiden kann ich die Frage nicht, wegen früher angegebener Beobachtungen halte ich das erstere in der That für wahrscheinlicher.

Wie es sich bei anderen Pflanzen mit der Entstehung der Zellhaut verhält, lasse ich dahingestellt; die von mir angestellten Versuche über die künstliche Neubildung derselben sind nach dieser Richtung noch nicht genügend ausgenutzt und überlasse ich das ferneren Untersuchungen. Nur

1) Vergl. auch die Schilderung bei HANSTEIN l. c. S. 49. BERTHOLD hat dagegen bei Beobachtung der Wundheilung von *Vaucheria* und *Bryopsis* diese Mikrosomen nicht gesehen. Studien etc. S. 208.

2) PFEFFER, Physiologie. I. oder II. S. 32; id. Über Aufnahme von Anilinfarben in lebende Zellen. Tübinger Untersuch. II. S. 349.

kurz erwähnen will ich, dass es mir an den Blattzellen von *Eloдея* aufgefallen ist, wie nach 3 tägigem Aufenthalt in 15 % R-Zucker sich mehrfach durch erneute Plasmolyse ein äußerst zartes Häutchen vom Protoplasten abheben ließ, das nicht homogen wie die spätere Zellhaut war, sondern ohne Anwendung von sonstigen Reagentien ein Netzwerk von feinen Balken und hier und dort auch Körnchen, in anderen Fällen nur letztere zeigte. Noch deutlicher bemerkte ich eine entsprechende Erscheinung bei einigen Blattzellen von *Funaria*, welche in 20 % R-Zucker und 0,05 chromsaurem Kali neue Zellhaut bez. mehrere neue Zellhautkappen gebildet hatten, und bei denen bei erneuter Plasmolyse mit Salpeter zum Theil die Hautschicht sich vom übrigen Plasma trennte, als deutlich körnige Schicht der neuen Zellwand anliegend (Taf. VI, Fig. 29). Diese Beobachtungen weisen ebenso wie die von STRASBURGER¹⁾ beschriebenen Fälle der Ablösung der Hautschicht vom Plasma vor der eigentlichen Zellhautbildung — allerdings hier bewirkt durch Tödtungsmittel — auf die Richtigkeit der Umbildungshypothese hin.

Zum Schluss möchte ich noch ganz kurz auf das Schicksal der behäuteten Plasmablasen von *Vaucheria* zurückkommen. Lässt man dieselben in der Lösung von Zucker-Congoroth, so nimmt merkwürdigerweise die Färbung der neuen Zellhaut nicht bloß zu, sondern verwandelt sich aus Roth in Braunviolett, bis schließlich in Schwarz, und diese Theilstücke gehen dann bald zu Grunde. Diese Veränderung der mit Congoroth gefärbten Membran, deren Ursachen unbekannt, ist von solcher Regelmäßigkeit bisher bei keiner anderen Alge beobachtet worden: so lassen sich doch z. B. die Zygmenen monatelang in Zucker-Congoroth cultiviren. Wäscht man dagegen den Farbstoff aus, so können die rothgefärbten *Vaucheria*-Stücke sowohl in Wasser wie in concentrirter Zuckerlösung wochenlang weiter cultivirt werden; es tritt auch Wachstum ein, immer in der Weise, dass die rothe Zellhaut durch den neu sich bildenden Zweig durchsprengt wird.

4) Das Wachstum der Zellhaut.

Die augenblickliche Sachlage bezüglich unserer Kenntnis des Zellhautwachstums habe ich vorher dargelegt. Im Folgenden will ich versuchen, meine eigenen Beobachtungen und Anschauungen über diese Frage mitzutheilen. Sie betreffen zwei einfache Fälle bei den Algen, nämlich *Vaucheria* und *Zygnema*.

a) Das Zellhautwachstum bei *Vaucheria*.

Ein *Vaucheria*-Faden wächst, wie seit langem bekannt, vorzugsweise an seiner Spitze; die Zellwand bewahrt im wesentlichen dabei überall ihre gleiche Dicke, erscheint als eine schmale, doppelt contourirte, einheitliche Haut ohne Schichtung. Abgesehen wird hier von den an älteren Theilen

1) STRASBURGER, Bau und Wachstum etc. S. 402, 416, 424.

oder an den Enden bei Stillstand des Wachsthum's auftretenden localen Zellwandverdickungen, die in mannigfachen Formen ausgebildet werden.¹⁾ An der fortwachsenden Spitze sieht man nun die dünne Zellhaut sich fort und fort verlängern, anscheinend das beste Beispiel für ein Intussusceptionswachsthum. SCHMITZ²⁾ hat für einen Fall mit ausgesprochenem Spitzenwachsthum an *Bornetia secundiflora* nachgewiesen, dass dasselbe durch Apposition sich erklären lasse. Die wachsende Spitze bildet wiederholt neue kappenförmige Membranlamellen, während die älteren Lamellen passiv gedehnt und zu einer zusammenhängenden Schicht verklebt werden. Diese Vorstellung beruht auf Präparaten von wachsenden Spitzen, an welchen ein ihr entsprechender Verlauf der Schichten in der relativ dicken Zellhaut zu beobachten ist (vergl. die Figur in dem Werk von STRASBURGER, Bau und Wachsthum etc. Taf. IV, Fig. 55). Dieselben Erscheinungen hat BERTHOLD³⁾ auch bei einigen Griffithien beobachtet. Ein unumstößlicher Beweis für die Appositionstheorie kann allerdings nicht daraus entnommen werden, denn die Intussusception ist durchaus nicht ausgeschlossen, und es tritt auch noch das Bedenken auf, dass eine so starke passive Dehnung der alten Membranlamellen geradezu unwahrscheinlich und nicht bewiesen ist. Für *Vaucheria*, welche an ihrer Zellhaut keine solche Schichtung wie *Bornetia* aufweist, gelang es mir in anderer Weise, eine Erklärung der Wachsthumsercheinungen mit Hülfe der Appositionstheorie zu geben. Es kommt dafür einmal darauf an, die Neubildung von Zellhautkappen an der Spitze nachzuweisen, andererseits das Verhalten der älteren Lamellen bei der passiven Dehnung darzulegen. Beides gelingt in ausgezeichnete Weise bei *Vaucheria* unter bestimmten Bedingungen.

Die durch künstliche Zertheilung isolirten *Vaucheria*-Stücke, welche in der alten Zellhaut noch stecken und an den Enden neue roth gefärbte Zellwand sich gebildet haben, wurden in 10 % R-Zucker am Licht weiter cultivirt. Meistens trat eine schwache Plasmolyse und eine Neubildung einer Zellhaut rings um den Protoplasten ein. Bald zeigte sich auch ein erneutes Wachsthum, häufig in der Weise, dass der Protoplast die Querswand durchbrach und in Form eines viel schmäleren Fadens im alten Schlauch weiterwuchs. Bemerkenswerth war dabei, dass beide Enden eines solchen Theilstückes auszuwachsen fähig sind, so dass also kein Unterschied einer Spitze und Basis an einem *Vaucheria*-Faden vorhanden zu sein scheint. In andern Fällen bildete das *Vaucheria*-Stück einen Zweig, welcher seitlich die alte Schlauchwand durchbrach; an solchen Zweigen trat die Wachsthumweise klar hervor. Anfänglich ist der junge Zweig von einer geschlossenen, dicken,

1) Vergl. darüber STAHL, Über Ruhezustand der *Vaucheria geminata*. Bot. Zeitg. 1879. S. 134. SCHAARSCHMIDT, Über Zellhautverdickung bei *Vaucheria*. Bot. Centralblatt. Bd. 22. 1885. S. 1.

2) SCHMITZ, Über Bildung etc. S. 8.

3) BERTHOLD, Studien etc. S. 270.

deutlich geschichten Zellhaut umkleidet. Bei dem weiteren in allen Fällen sehr langsamen Wachstum beginnt die Sprengung der äußersten Zellwandschichten an der Spitze; der Protoplasmakörper, mit einer jüngeren Schicht bedeckt, wölbt sich nach außen, wächst weiter, bildet eine neue Kappenschicht, sprengt wieder die nächst ältere, und so gehen successive Neubildung und Sprengung fort, der Zweig ist von zahlreichen mit ihren Basen ineinandersteckenden Zellhautscheidern umgeben (Taf. V, Fig. 4). So verläuft in diesen *Vaucheria*-Zweigen das Wachstum wesentlich, wie schon NÄGELI für *Petalonema* angegeben hat.

Es ist nun von vornherein unwahrscheinlich, dass in Wasser oder Luft das Längenwachstum von *Vaucheria* anders als in der Zuckerlösung verläuft, da in derselben sonst alle Lebenserscheinungen normal vor sich gehen. Der Unterschied liegt nur darin, dass das Wachstum verlangsamt, die Bildung neuer Zellhautschichten befördert ist. Indessen lässt sich auch ein genauerer Nachweis für das gleiche Verhalten normaler Fäden geben. An Schwärmsporenkeimlingen von *Vaucheria sessilis*, welche in Wasser zu langen Fäden auswuchsen, ließen sich an den Enden ganz unzweifelhafte Sprengungen der nächst älteren, die Hervorwölbung der jüngeren Zellhautkappe feststellen (Taf. VI, Fig. 2), ebenso an einigen in Luft wachsenden Spitzen von *Vaucheria geminata* (Taf. VI, Fig. 3). An vielen Fäden lassen sich so scharf hervortretende Rissstellen an der Zellhaut nicht erkennen, jedoch sieht man bei genauerer Betrachtung, dass die Zellhaut an den Enden nicht gleichmäßig dick ist, sondern von Strecke zu Strecke kleine Verdickungen zeigt, die jenen Stellen entsprechen, wo die neue Zellhautkappe an die ältere sich angesetzt hat und mit ihr verschmolzen ist. Wenn die Sprengung, sowie dieser Ansatz und die Verschmelzung sehr allmählich vor sich gegangen ist, lässt sich die Rissstelle nicht mehr deutlich bemerken, wie es sich allgemein bei den älteren Theilen des Fadens verhält, aber auch an manchen ganz jungen wachsenden Enden stattfindet. Dann erscheint die Zellwand in der That als eine ganz einheitliche Haut, während aus den geschilderten Beobachtungen sich doch ergibt, dass dieselbe aus einzelnen Stücken zusammengesetzt ist. Mit der ganzen Art und Weise des Wachstums hängt es wohl auch zusammen, dass die wachsenden Fadenenden von *Vaucheria* fast nie gleichmäßig cylindrisch sind, sondern mit größerer oder geringerer Regelmäßigkeit abwechselnd breitere und schmalere Stellen unterscheiden lassen (Taf. VI, Fig. 3) oder wenigstens zart hin und her gebogen sind (Taf. VI, Fig. 2).

Es könnte sich nun noch fragen, ob die Sprengung der Zellhautkappe an der Spitze dann geschieht, wenn an ihrer Innenseite eine neue Kappe schon angelegt ist, oder aber zuerst stattfindet und in dem Maße, wie der dadurch freigelegte Plasmakörper sich vorwölbt, eine neue Zellwandkappe sich bildet. Man würde wohl a priori das erstere für wahrscheinlicher halten; andererseits ist das letztere nicht unmöglich, ja denkbar. Denn bei *Vaucheria* tritt die Zellhautbildung in ihrer Abhängigkeit von der Berührung

des Plasma mit dem Außenmedium so scharf hervor, dass man auch für die Erzeugung der neuen Zellhautkappe an der Spitze an einen solchen unmittelbaren Contact wird denken müssen. Direkt entscheiden kann ich die Frage nicht, da die Versuche, das Wachstum constant längere Zeit zu beobachten, wegen zu großer Langsamkeit desselben ohne Resultat blieben, vielleicht aber auch nur deshalb, weil sie nicht consequent genug verfolgt worden sind. Für die Anlegung der jungen Zellhautkappe an der Innenseite der noch ungesprengten älteren spricht dann allerdings noch folgende Beobachtung. Einzelne Zweigenden von *Vaucheria*-Fäden, welche theils in 40 % R-Zucker cultivirt wurden, theils auch im Wasser wuchsen, zeigten die Eigenthümlichkeit, dass das Längenwachstum aus unbekanntem Ursachen zum Stillstand kam. Dagegen blieben sie fähig, neue Zellhautkappen zu bilden, welche successive abgelagert wurden und eine sehr dicke, schön geschichtete Zellstoffmasse, die die Zweigenden ausfüllte, zusammensetzten (Taf. VI, Fig. 4). Das weist in der That darauf hin, dass aus inneren Ursachen allein das *Vaucheria*-Ende Zellhautkappen zu bilden vermag.

Für den Fall der *Vaucheria* lässt sich anscheinend das Zellhautwachstum durch die Appositionstheorie einigermaßen erklären, da die Sprengungen so schnell aufeinander zu folgen scheinen, dass die Dehnbarkeit der jungen Zellhaut wohl ausreicht, wenn das letztere auch noch nicht bewiesen ist.

b) Das Zellhautwachstum bei *Zygnema*.

Verwickeltere Verhältnisse als bei *Vaucheria* treten uns in den Wachstumserscheinungen der *Zygnema*-Arten gegenüber, insofern hier neben ausgiebigem Flächenwachstum stets auch Dickenwachstum eine Rolle spielt und zugleich die Fäden aus gesonderten Zellen sich zusammensetzen. Aus früheren Beobachtungen¹⁾ folgt, dass es möglich ist, an der Innenseite der Zellwand von lebender *Zygnema* schwarze Marken in Form körniger, vom Plasma ausgeschiedener Massen unverrückbar zu fixiren. Aus dem Verhalten dieser schwarzen Marken bei dem weiteren Wachstum ergab sich die Thatsache, dass dieselben allmählich von innen nach außen durch die immer neu sich ihnen auflagernden Zellwandschichten gedrängt werden, bis sie schließlich auf die Außenfläche zu sitzen kommen.²⁾ Hieraus folgte mit Nothwendigkeit, dass die innersten Schichten immer die jüngsten sind

1) KLEBS l. c. Tübinger Untersuch. II. S. 373.

2) Besonders deutlich und klar sah ich das allmähliche Herausschieben der mit Marken versehenen Zellhautschicht im folgenden Versuch. *Zygn. C.* wurde 4 Tag in 4 % Trbz. Ppt. cultivirt; es zeigte sich in sehr vielen Zellen, was ich in früheren Versuchen nur wenig bemerkt habe, ein Austreten von Gerbstoffbläschen an der Innenseite der Zellwand, wo sie rothbraune Klumpen bildeten. Dann wurden diese Zellen in frischem Wasser weiter cultivirt. Nach einigen Wochen sah man überall an den Fäden die Gerbstoffmarken mitsammt ihrer meist zersprengten Zellwandschicht an der Außenfläche der Zellen sitzend, vom Zellinhalt durch jüngere Schichten getrennt.

und auch mit größter Wahrscheinlichkeit durch Apposition entstehen. Durch einige neuere Beobachtungen ließ sich diese Art des Wachstums noch auf anderem Wege nachweisen.

In Congoroth nehmen, wie schon mehrfach bemerkt, die Zellwände von *Zygnema* lebhaft den Farbstoff auf; dabei bleiben die Zellen selbst in der Lösung desselben (0,04—0,1 %) monatelang lebendig. Eine unmittelbare Folge der Farbstoffeinlagerung in die Zellhaut ist die Unfähigkeit der Zellen, in die Länge zu wachsen, und zwar nur wegen Veränderung der Eigenschaften der Zellhaut. Denn alle sonstigen Lebensprozesse gehen in diesen Farbstoffculturen ungestört vor sich und es lässt sich sogar zeigen, wie später nachgewiesen werden wird, dass selbst das Wachstum des Protoplasten nicht durch das Congoroth an und für sich beeinträchtigt wird. Vom Standpunkt der Intussusceptionstheorie ist dieser Verlust an der Fähigkeit der Zellwand, in die Länge zu wachsen, infolge der Einlagerung des Farbstoffs sogar nothwendig gefordert; denn wenn infolge der Oberflächenanziehung Farbstofftheilchen die Cellulosetheilchen dicht umhüllen, so müssen diejenigen Anziehungskräfte der letzteren, durch welche neue Cellulosetheilchen zur Einlagerung bestimmt werden, dabei ganz wesentlich beeinträchtigt sein. Aber auch für die Appositionstheorie ist diese Erscheinung zu erklären, da infolge der Einlagerung augenscheinlich die Dehnbarkeit im hohen Grade vermindert worden ist.

Wie im Übrigen auch der Stillstand des Längenwachstums begründet sei, eine weitere Folge davon ist ein anormal lebhaftes Dickenwachstum. Die betreffenden in Congoroth cultivirten *Zygnema*-Zellen bilden neue intensiv roth gefärbte Zellhautmassen, welche die mannigfaltigsten Formen annehmen, da sie nicht gleichmäßig rings an der ganzen Peripherie erzeugt werden, sondern bald vorzugsweise an den Querwänden, bald wieder an den Seitenwänden. Sie dringen immer tiefer in das Protoplasma ein, das sich successive verkleinert (Taf. VI, Fig. 47). Aus dem oben angegebenen Grunde ist es nun höchst unwahrscheinlich, dass diese neuen Zellwandmassen durch Spaltung der überhaupt nicht mehr wachstumsfähigen alten Zellwand entstanden sind. Sie müssen ihr aufgelagert sein, und das um so mehr, als sie auch qualitativ von ihr verschieden sind. Die ausgebildeten Zellwandmassen zeigen die typischen Cellulosereactionen, zeichnen sich aber durch eine sehr große Quellbarkeit aus, nicht bloß gegen verdünnte Säuren, Alkalien, sondern gegen reines Wasser. Denn hebt man durch Salpeter oder Zuckerlösung den Turgor auf, quillt die neue Zellwand in hohem Grade auf und erweist sich dann sehr deutlich aus zahlreichen zarten Schichten zusammengesetzt, welche nach innen sich vorwölben und häufig zart gerunzelt erscheinen. Jetzt tritt der scharfe Contrast zwischen ihnen und der alten unveränderten Zellwand auffallend hervor (Taf. VI, Fig. 49). Mir scheint sich mit Nothwendigkeit der Schluss aufzudrängen, dass diese neuen Zellwandschichten der alten

aufgelagert sind, und vergleicht man die oben angegebenen Beobachtungen bei ungehindertem Längenwachsthum, so kann man in der That den Satz aufstellen: die *Zygnema*-Zellen wachsen durch periodische Apposition neuer Schichten in die Dicke.

Die ganz besondere Quellungsfähigkeit derjenigen Zellhautmasse, welche bei Gegenwart von Congoroth entstanden ist, erinnert an das gleiche Verhalten der in Zucker-Congoroth gebildeten Zellhaut von *Vaucheria*.¹⁾ Bei Cultur der *Zygnema* in 1 % Dulcit- oder Inosit-Congoroth war die erwähnte Eigenschaft der neu aufgelagerten Schichten noch stärker ausgeprägt. Eine Erklärung ließ sich vom Standpunkt der NÄGELI'schen Micellartheorie vielleicht geben. Wenn in statu nascendi der Zellhaut Congoroth vorhanden ist, so werden sofort die Cellulosemolecüle ihre Anziehung auf dasselbe geltend machen, bevor sie noch sich zu größeren Gruppen der Micellen NÄGELI's vereinigt haben, und durch die Farbstoffumkleidung werden sie daran auch verhindert sein. Infolge dessen besteht die so entstandene Zellhaut gegenüber dem normalen Fall aus einer sehr viel größeren Masse isolirter Theilchen, sei es direct Molecülen oder sehr kleiner Micellen, weshalb nach den bekannten Erörterungen von NÄGELI²⁾ auch die Fähigkeit der Wassereinlagerung in hohem Grade gesteigert sein muss. Im Übrigen will ich nicht näher darauf eingehen und es als eine bloße Möglichkeit hinstellen.

Kurz möchte ich noch auf die mehrfach berührte und auch von früheren Beobachtern³⁾ wohl bemerkte Correlation zwischen Flächen- und Dickenwachsthum aufmerksam machen. Die Thatsache, dass das letztere um so lebhafter erfolgt, je mehr das erstere beschränkt ist, lässt sich vom Standpunkt der Appositionstheorie wenigstens eher verstehen, als von dem der Intussusceptionstheorie. Wenn das Flächenwachsthum verhindert ist aus einer Ursache, welche in der Veränderung der Zellhaut selbst beruht, z. B. in dem Verlust ihrer Dehnbarkeit, ist bei sonst ungestörtem Weiterleben der Zelle es sogar nothwendig, dass die Zellhaut dicker wird, weil die aus inneren Ursachen erfolgende Ablagerung neuer Schichten, die ebenfalls nicht gedehnt werden, immer weiter gehen muss. Der Verlust der Dehnbarkeit der äußersten Schicht kann durch die Zellen selbst herbeigeführt werden, z. B. durch Einlagerung von besondern anorganischen oder organischen Verbindungen; oder aber er kann durch äußere Umstände bewirkt werden, sei es im Gewebeverbande durch benachbarte Zellen etc., sei es durch solche, die der Experimentator in der Hand hat. Die Beispiele

1) Jedoch waltet auch gegenüber Congoroth ein Unterschied zwischen *Vaucheria* und *Zygnema*; in der bei seiner Gegenwart neu gebildeten Zellhaut von *Vaucheria* wird der Farbstoff zugleich fixirt, dagegen bei *Zygnema* nicht.

2) NÄGELI, Die Stärkekörner. S. 333, 343.

3) Vergl. z. B. HOFMEISTER, Die Pflanzenzelle. S. 359; PFEFFER, Pflanzenphysiologie. II. S. 64.

hierfür liefern die von mir früher wie in dieser Arbeit angeführten Beobachtungen bei *Zygnema*.

Sehr viel schwieriger als für die Frage nach dem Zustandekommen des Dickenwachsthums liegt die Untersuchung bezüglich der Art und Weise des Flächenwachsthums. Wenn aus einer einzelnen *Zygnema*-Zelle durch successive Theilung ein langer, aus hundert und mehr Zellen bestehender Faden entsteht, so müssen die äußersten ältesten Schichten eine enorme Flächenvergrößerung erfahren haben, sowie man namentlich berücksichtigt, dass der Faden von einer anscheinend ganz homogenen einheitlichen Zellwandschicht bedeckt ist. Dieselbe soll nach STRASBURGER durch Verschmelzung der fort und fort gedehnten Zellhautlamellen entstanden sein. Schon SCHMITZ ¹⁾ selbst hat sich gegen diese Auffassung gewendet und seine frühere Annahme der unbegrenzt fortdauernden Dehnung der Außenschicht aufgegeben. Es müssen — so betont er mit Recht — Sprengungen der Zellwandschichten stattfinden; indessen sind bisher keine näheren Nachweise bezüglich solcher Sprengungen, wenigstens für *Zygnema*, geliefert worden; sie sollen im Folgenden gegeben werden.

An einem *Zygnema*-Faden lassen sich experimentell Sprengungen der älteren Zellwandschichten veranlassen. Man kann drei Arten solcher Sprengungen unterscheiden. Die eine Form derselben besteht in einem Zerreißen der zwei benachbarte Zellen verbindenden Schicht an den Querwänden und der Spaltung dieser in die jeder der beiden Zellen angehörenden Schichten. Durch diese Art der Sprengung zerfällt der Faden in einzelne Stücke, resp. Zellen, eine Erscheinung, welche schon vielfach gerade bei den Zygnemen beobachtet worden ist. ²⁾ Mannigfache äußere Verhältnisse spielen als Ursache dieses Zerfalles eine Rolle, indessen ist es bisher nicht gelungen, ein Mittel zu finden, welches stets denselben bei *Zygnema* C. herbeiführt. Am häufigsten habe ich es beobachtet ³⁾ nach Einlagerung unlöslicher Verbindungen in die Gallertscheide, so in manchen Versuchen mit Berliner Blau, während in andern Experimenten die Zellen sich im Fadenzusammenhange erhielten. Wie ich schon in der früheren Arbeit bemerkt habe, findet häufig die Trennung der beiden Nachbarzellen mit einer gewissen Lebhaftigkeit statt, welche auf erhöhte Druckkräfte im Innern der

1) SCHMITZ, Über das Flächenwachsthum der pflanzlichen Zellmembran. Ber. der 55. Vers. deutscher Naturf. 1882; Botanisches Centralblatt. XII. 1882. S. 409. SCHMITZ beschreibt in dieser kurzen Notiz eine feine Zeichnung auf der Außenfläche der Zellhaut von *Zygnema*, welche auf ein Vorhandensein sehr feiner Poren (?) zurückgeführt wird. Ich habe mich von dem Vorhandensein solcher Poren in der Zellwandschicht von *Zygnema* nicht überzeugen können.

2) Z. B. für *Spirogyra*-Arten, vergl. STRASBURGER, Zellbildung und Zelltheilung. 2. Aufl. S. 57; Bau und Wachsthum d. Zellhaut. S. 185; PRINGSHEIM, Über Lichtwirkung und Chlorophyllfunction; Pr.'s Jahrb. f. wiss. Botanik. Bd. XII. 1884. S. 368. Bei einer zarten *Mesocarpus*-Art beobachtete ich den Zerfall der Fäden bei Zusatz von Methylviolett.

3) KLEBS, Über die Organisation der Gallerte etc. Tübinger Untersuch. II. S. 352.

Zellen hinweist, die sogar dahin führen können, dass die zarte Querwand zersprengt wird, die Zelle zu Grunde geht.

Die beiden anderen Formen der Zellwandsprengung bei *Zygnema* stimmen darin überein, dass dieselbe an der Längswand der Zelle geschieht. Hierbei kann nun entweder an ganz begrenzter Stelle ein Loch entstehen, durch welches die Zelle, mit neuer Zellhaut umkleidet, unter Bildung einer knieförmigen Biegung heraustritt, oder der Riss trennt in mehr oder weniger ringförmiger Weise die betreffende Zellhaut in zwei Hälften. Das knieförmige Hervortreten der Protoplasten aus der aufgesprengten alten Zellhaut ist eine häufige Erscheinung bei solchen Zygnemen, in deren Gallertscheide z. B. Catechubleioxyd eingelagert war,¹⁾ und dasselbe ereignet sich auch vielfach bei jenen Zygnemenprotoplasten, welche, in concentrirten Zuckerslösungen mit neuen Zellwandschichten umhüllt, aus dem alten Zellraum ins Freie treten (Taf. VI, Fig. 24). In 10 % Glycose findet diese Form der Befreiung sehr viel häufiger statt, als in 16—20 % R-Zucker, kommt jedoch auch in letzterem vor. Es ist nun wahrscheinlich, dass bei diesem Durchbrechen der alten Zellwand nicht bloß ein rein mechanischer Druck des zu stark für den Raum gewachsenen Protoplasten wirksam ist, sondern wohl auch ein chemischer. Der Unterschied zwischen den Glycose- und Rohrzuckerculturen wäre sonst nicht zu verstehen, da auch in den letzteren so starkes Wachstum stattfindet, dass ein mechanischer Druck auf die alte Zellwand ausgeübt wird und dennoch dieselbe meistens nicht reißt. Man kann aber auch nicht selten beobachten, dass in Glycoseculturen von *Zygnema* die alte Zellwand an der ganzen Längswand oder nur an einer begrenzten Stelle in der Mitte derselben auffallend dünn und weich wird, bevor noch der Protoplast sammt seiner neuen Zellhaut die alte berührt. Ferner ist das Verhalten gegenüber concentrirter Jod-Jodkaliumlösung bemerkenswerth, in welcher sich normale Zygnemen röthlich-violett färben. In den Glycoseculturen bleiben diejenigen alten Zellwände, welche lebhaft wachsende und mit neuer Zellhaut umgebene Protoplasten einschließen, vollkommen farblos oder färben sich schwach an den Querwänden, während diejenigen Zellen mit früh abgestorbenen Protoplasten noch röthlich-violett werden. Ganz besonders auffallend ist dann allerdings, dass solche todte Zellen, welche eine lebende begrenzen, bez. zwischen zwei solchen liegen, sehr intensiv mit Jod roth-violett werden, viel stärker als bei normalen Fäden. Eine nähere Erklärung dieser Erscheinung kann ich nicht geben; sie weist nur darauf hin, dass in den Zuckerculturen irgend ein Einfluss des lebenden Protoplasten auf die alte von ihm getrennte Zellwand ausgeübt wird.

Die andere Form der Seitentrennung zeigt sich in einem Riss, der rings um die ganze Zellwandschicht verläuft und sie so spaltet, dass der Protoplast ohne besondere Formveränderung seine Freiheit gewinnt. In dieser

1) KLEBS l. c. S. 353. Taf. III. Figg. 15, 16, 20.

Weise ereignet es sich nicht selten in 10 % Rohrzuckerlösung, welche nur eine sehr schwache Plasmolyse bei den meisten *Zygnema C.*-Fäden hervorrufft und doch bewirkt, dass die Protoplasten eine neue Zellhaut sich bilden. Bei ihrem Längenwachsthum sprengen sie die ältere Zellhaut, deren Hälften allmählich immer stärker auseinandergeschoben werden (Taf. VI, Fig. 4). Diese Form der Trennung hat für die vorliegende Frage große Bedeutung, weil sie diejenige ist, nach welcher die von der Appositionstheorie geforderten Sprengungen der alten Zellwandschichten stets vor sich gehen.

Es lässt sich zweifellos nachweisen, dass bei lebhaftem Längenwachsthum von *Zygnema* solche Sprengungen überhaupt stattfinden. Im Allgemeinen wachsen in Zimmerculturen die Zygnemen sehr langsam. Cultivirt man sie in 4—5 % Glycerin, so zeigt sich in den ersten Wochen ein sehr ausgiebiges Längenwachsthum bei relativ seltenen Theilungen, so dass die einzelnen Zellen das 3—4 fache ihrer normalen Länge erreichen können. An solchen Fäden erkennt man an den verschiedensten Stellen Spuren unzweifelhafter Sprengung. Seltener ist es allerdings, dass man noch eine regelmäßige ringförmige Rissstelle beobachtet; vielmehr sieht man die peripherische Schicht an der einen Stelle zerrissen, dann wieder an einer anderen. Bisweilen findet man, dass bei den aufeinanderfolgenden Schichten die Sprengungen an derselben Stelle erfolgt sind, so dass an der Rissstelle 3—4 Schichtenreste sich finden. Schließlich werden die Schichten in einzelne Fetzen zerrissen, welche isolirt den jüngeren Schichten aufsitzen.

Das Leben und das Wachsthum der *Zygnema*-Fäden in 4 % Glycerin ist ein so normales, dass man daraus auf ganz entsprechende Vorgänge in den gewöhnlichen Wasserculturen schließen muss. Auch in diesen lassen sich an den Fäden solche Sprengungen¹⁾ beobachten, aber allerdings viel seltener, so dass man sogar solche Fäden findet, an denen man äußerlich nichts davon erkennen kann. An und für sich wäre es ebenso wie bei *Vaucheria* verständlich, dass vorhandene Rissstellen nicht sichtbar sind, weil bei sehr allmählichem Ausziehen infolge der Dehnung die Zellwandschichten sehr dünn werden und die zerrissenen Theile der Schicht mit der nächst jüngeren zu sehr verklebt sind. Auf die Richtigkeit dieser Annahme weist die bei *Zygnema A.* früher geschilderte²⁾ Beobachtung hin, dass an den die Fäden von Zeit zu Zeit unterbrechenden, sehr dicken Querwänden sich durch Färbung die Zusammensetzung derselben aus zahlreichen Lamellen ergab, welche frei gegen die Seitenwand hin endigten und jedenfalls von den ihnen zugehörigen Längswänden abgetrennt worden waren. Bei *Zygnema C.* trat eine ähnliche Structur auch an den dicken Querwänden

1) Sehr deutlich sah man die Sprengungen der älteren Zellwandschichten in der auf S. 515 Anmerk. erwähnten Cultur.

2, KLEBS l. c. S. 375. Taf. III, Fig. 21.

nach Behandlung mit Kalilauge hervor, während bei andern bisher nichts davon gesehen wurde. Nach sehr starker Fäulnis trennen sich nicht selten die Zellwände von *Zygnema* in deutlich gesonderte Schichten und man sieht dann auch bisweilen deutliche abgerissene, vorher stark verklebte Fetzen alter Schichten sich abheben.

Mit dem Nachweis solcher Sprengungen sind aber die Hauptschwierigkeiten, welche einer genügenden Erklärung der Wachstumserscheinungen bei Zygnemen sich entgegensetzen, nicht aus dem Wege geräumt. Vor allem nothwendig wäre für eine Begründung der Appositionstheorie eine experimentelle Untersuchung der Frage, wie groß eigentlich die Dehnbarkeit der Zellhautschichten bei *Zygnema*-Fäden ist. Denn erst auf Grund einer solchen Untersuchung lässt sich klar stellen, ob überhaupt diese Dehnbarkeit ausreicht, die thatsächlich beobachtete Flächenvergrößerung der Zellhaut zu erklären. Abgesehen davon, dass wegen der technischen Schwierigkeiten bisher solche Versuche nicht mit Erfolg ausgeführt werden konnten, ist es auch nicht einmal möglich gewesen, genau anzugeben, welche Ausdehnung eine Zellwandschicht von ihrer Entstehung an bis zu ihrer Sprengung aushält. Die von mir beobachteten Sprengungen waren zu unregelmäßig an den Fäden vertheilt, als dass daraus irgend wie eine genauere Angabe sich entnehmen ließ. Dazu kommt, dass schon aus diesen Beobachtungen sich große Verschiedenheiten, je nach der Species, der Fäden derselben Art, ja der Zellen desselben Fadens sich ergaben. Jedoch auf einem anderen Wege ließen sich wenigstens einige Anhaltspunkte gewinnen für die Beurtheilung der Frage, ob die bloße Dehnbarkeit der Zellhaut zur Erklärung des Flächenwachstums ausreicht.

Die Zygnemen, welche mehrere Wochen in concentrirten Zuckerlösungen gelebt und neue Zellhäute gebildet hatten, wurden allmählich wieder an reines Wasser gewöhnt. Das geschah dadurch, dass dieselben in kleine Thoneylinder mit ihrer Lösung gebracht und diese in größere Gefäße gestellt wurden, welche zuerst mit nur wenig verdünnter Zuckerlösung, dann mit immer schwächeren Lösungen, schließlich mit reinem Wasser erfüllt wurden. Ganz allmählich nahm durch Diffusion die Flüssigkeit, in der die Zygnemen sich befanden, Wasser auf, die Algen konnten schließlich in Wasser weiter cultivirt werden. Sowie in der Thonzelle die Zuckerlösung so weit verdünnt war, dass sie auf normale Fäden nicht mehr plasmolytisch wirkte, nahmen die Protoplasten der Zygnemen Wasser auf, wurden turgescent und zugleich wurden die neu gebildeten Zellhautschichten zu einer normalen, relativ dünnen, dafür aber festen und scharf begrenzten Zellhaut. Während des Wachstums in der Zuckerlösung haben die Protoplasten die mannigfachsten Gestaltungen angenommen; nach der Gewöhnung an Wasser im Volumen vergrößert, erfüllen sie in verschiedener Weise den alten Zellraum und üben durch erneutes Wachstumsstreben einen starken Zug auf die alte Zellhaut aus. Bei solchen Fäden, bei welchen in 12, selbst in

46% R-Zucker die Plasmolyse in relativ schwachem Grade eingetreten war, erschien nach dem Übergang in Wasser die neue Zellhaut nicht selten fast vollständig an die alte so angepresst, dass sie wie die innerste Schicht derselben aussah. Es fragte sich nun, wie solche *Zygnema*-Fäden bei dem weiteren Wachstum sich verhielten; der einzige Unterschied gegenüber normalen Fäden bestand nur darin, dass zwischen der alten äußeren Zellwand und dem Protoplasten eine neue aufgelagert war. Wenn es bei der Flächenvergrößerung der Zellhaut nur auf die rein physikalische Eigenschaft der Dehnbarkeit ankäme, so müssten solche Fäden mit doppelter Zellhaut wie die normalen Fäden wachsen. Nun zeigten sich in dem Verhalten der ersteren Fäden sehr große Verschiedenheiten. Eine Anzahl blieb selbst nach mehrwöchentlichem Aufenthalt in reinem Wasser unverändert, so dass anscheinend kein Unterschied gegenüber normalen Fäden bemerkbar war. Indessen lehrte die nähere Betrachtung, dass solche Fäden, wie das bei *Zygnemen* sehr häufig der Fall ist, nicht wuchsen, und das ließ sich leicht feststellen, da nie mehr als eine Theilung jedes Protoplasten zu beobachten war. Bei den lebhafter wachsenden Fäden bemerkte man sehr bald eine deutliche Dehnung der alten Zellhaut, welche aber niemals, so weit es sich feststellen ließ, mehr als um die Hälfte der ursprünglichen Länge dadurch verlängert wurde, meist deutlich weniger. Es erfolgte dann die Sprengung. Häufig trat in den Fäden überhaupt lebhaftere Querwandtrennung ein, die Fäden zerfielen in einzelne Zellen, welche die alte Zellhaut dann noch absprengten. Bei anderen Protoplasten wurde die alte Seitenwand zerrissen, die Protoplasten mit ihrer neuen Zellhaut brachen sich einen Weg ins Freie. Nun kann dieser Sprengungsprozess sehr regelmäßig vor sich gehen, indem die alte Zellwand ringförmig zerreißt, ihre Theile mit der jungen Zellwand verkleben, so dass trotz der Sprengung der Zusammenhalt des wachsenden Fadens bewahrt bleibt, genau so, wie es auch in 40% R-Zuckerlösung stattfinden kann. Diese Fälle sind höchst instructiv, insofern sie klar veranschaulichen, wie ein *Zygnema*-Faden in die Länge wachsen kann durch zweifellose Apposition neuer Zellwandschichten und bloße Dehnung, schließlich Sprengung der alten.

Indessen zeigt sich doch bei dem Wachstum solcher *Zygnema*-Fäden gegenüber den normalen Erscheinungen ein Unterschied, der wohl zu berücksichtigen ist. Bei den aus Zuckerculturen herrührenden Fäden erfolgt eine Sprengung der alten Zellwand auch nach jeder Theilung, bez. jeder bemerkbaren Streckung der Protoplasten, und das entspricht auch dem, was wir über die ganz begrenzte Dehnungsfähigkeit der Zellwand wissen. Bei den normalen Fäden muss diese Dehnbarkeit bei Richtigkeit der Appositionstheorie sehr viel größer sein; sonst kann man nicht verstehen, dass im Verhältnis zu den so leicht zu beobachtenden Sprengungen an einem wachsenden *Zygnema*-Faden doch so wenig davon zu sehen ist, und die Annahme, dass man sie nicht sieht (S. 520), bleibt immer ein schwacher

Punkt, um so mehr hier, wo die Sprengungen an den in Zucker cultivirten Fäden jedesmal so leicht zu beobachten sind. Man wird eher zu der Auffassung sich genöthigt sehen, dass die Zellwand in directer Beziehung mit dem Protoplasma dehnbarer ist, als von demselben getrennt, mögen auch die sonstigen Bedingungen für Wachstum erfüllt sein. Werden dann durch Neuauflagerung jüngerer Schichten die älteren immer weiter vom Protoplasma entfernt, so werden sie schließlich zerrissen.

Es ergibt sich dieselbe Anschauung aus dem Verhalten jener Zygmenen, welche in Cultur mit 4% Zucker-Congoroth auf die ursprüngliche Zellwand neue sehr wasserreiche Celluloseschichten gelagert haben (vergl. S. 546, Taf. VI, Fig. 17). Bringt man diese Fäden wieder in reines Wasser, so treten im wesentlichen dieselben Erscheinungen ein wie bei den aus concentrirten Zuckerlösungen herstammenden Fäden mit den oben beschriebenen Variationen. Die Dehnfähigkeit der alten Zellwand ist eine noch beschränktere, die Protoplasten mit der neuen Zellhaut zersprengen die alte, um frei auszuwachsen zu können. Allerdings kann bei dieser geringen Dehnfähigkeit der Zellhaut das Congoroth eine besondere Rolle spielen. Es wurde schon betont, dass bei Einlagerung des Farbstoffes das Längenwachstum der *Zygnema*-Zellen aufhört (S. 546), und zwar geschieht dies nur deshalb, weil es die Dehnfähigkeit der Zellhaut fast ganz beschränkt, während die anderen Eigenschaften unberührt bleiben. Das geht sogar so weit, dass eine länger dauernde Einlagerung dahin wirkt, dass selbst nach Auslaugen des Farbstoffs die frühere Dehnfähigkeit nicht mehr wiederkehrt. Wenigstens kann ich mir nicht anders folgende Erscheinung erklären. Jene Zygmenen, welche in 20% R-Zucker und Congoroth wochenlang cultivirt wurden, besitzen Protoplasten mit dicken, neuen Zellwandschichten (S. 503). Wenn man diese Zygmenen allmählich an reines Wasser gewöhnt, und den Farbstoff auswäscht, so dass die alten Zellwände vollkommen normal farblos aussehen, so beginnen die eingeschlossenen Protoplasten zu wachsen. Es gelingt ihnen aber nicht die alte Zellhaut zu dehnen, was an der unveränderten Dicke derselben deutlich ist. Infolge des Widerstandes, andererseits des Wachstumsstrebens der Protoplasten tritt hohe Spannung ein, die schließlich zu einer plötzlichen Zerreißung der alten Zellwand führt, wobei der Protoplast ein Stück durch das Loch herausgepresst wird, aber in den weitaus meisten Fällen zugleich platzt und zu Grunde geht.

Die Annahme, dass für das gewöhnliche Flächenwachstum, z. B. bei den *Zygnema*-Fäden, eine spezifische Wirkung des die Wand berührenden Cytoplasmas nothwendig sei, hat STRASBURGER¹⁾ zur Erklärung einiger besonderer Wachstumserscheinungen bei alten Zellen, z. B. bei *Cladophora*, bereits herangezogen. Sehr instructiv ist in der That in dieser Rich-

1) STRASBURGER, Bau und Wachstum. S. 479.

tung das Wachstum von *Cladophora fracta* in concentrirten Zuckerlösungen, und der Hinweis darauf möge hier gleich gemacht werden. Die Zellen von *Cladophora fracta* werden in 20—25% R-Zucker größtentheils plasmolysirt; die Protoplasten bilden neue Zellhautschichten, beginnen zu wachsen, so dass sie nicht selten schließlich wieder den alten Zellraum ausfüllen. Der frühere Zustand ist mit Ausnahme der neu eingeschobenen Zellhautschichten normal erreicht. Selbst ganz alte Zellen eines Zweigsystems werden durch den Aufenthalt in der Zuckerlösung angereizt, neue Zweige zu bilden, welche auch am vorderen Ende in der bekannten Weise als Ausstülpungen hervortreten. Die Erwartung, dass hierbei die alten Zellwandschichten gesprengt würden, wurde nicht verwirklicht, vielmehr sah man, dass an diesen alten Zellen mit an und für sich schon sehr dicken Zellwänden der junge Zweig dieselben vor sich ausdehnte, ebenso wie die nach der Plasmolyse neugebildeten¹⁾. Es ist hier, wo von einem Wachstum der alten peripherischen Schichten keine Rede sein kann, nur die Möglichkeit offen, dass vom Protoplasten des jungen Zweiges aus eine Veränderung der alten Schichten bewirkt wird, infolge deren sie dehnbarer werden. In der That lässt sich auch die Veränderung beobachten, die alten Zellschichten werden an der Verzweigungsstelle weicher, quellbarer, und zerfallen in einzelnen Fällen bei dem weiteren Vordringen der Zweige in kugelige Tropfen von wasserreicher Substanz. Wenn sich nun bei den weiteren Untersuchungen allgemeiner die Nothwendigkeit der Annahme herausstellen würde, dass das Cytoplasma für ein ausgiebiges Flächenwachstum auf die Dehnbarkeit der Zellhaut einwirkt, so führen wir damit in die Theorie einen Factor ein, der nach Quantität und Qualität seiner Wirkung unbekannt ist und noch lange bleiben wird, weil er in dem Protoplasma wurzelt. Infolgedessen wird die Erfüllung jener Hoffnung in weitere Ferne gerückt, alle Wachstumserscheinungen der Zellhaut durch eine exakt begründete Theorie zu erklären. Das ist um so mehr der Fall, als wir auf ebenso dunkle Probleme stoßen bei der Frage nach den eigentlichen Ursachen des Wachstums überhaupt, von denen ein einzelnes Moment, der Turgor der Zelle, bisher ausschließlich berücksichtigt worden ist, welches, wie wir weiter unten sehen werden, jedenfalls allein nicht ausreicht für die Erklärung.

Die Vertheidigung der Annahme von dem Einfluss des Protoplasten auf Eigenschaften der Zellhaut könnte vielleicht als eine Bestätigung der WIESNER'schen²⁾ Anschauung aufgefasst werden, nach welcher die pflanzliche Zellhaut ein lebendes Organ der Zelle sei. Diese Ansicht hat WIESNER nicht aus Beobachtungen gewonnen, nach welchen die Zellhaut im todten

1) Vergl. auch STRASBURGER l. c. Taf. IV. Fig. 54.

2) WIESNER, Untersuchungen über die Organisation der vegetabilischen Zellhaut. 1886. S. 62.

Zustande der Zelle wesentlich andere Eigenschaften besitzt als bei dem Leben derselben, denn seine Arbeit liefert dafür keinen Anhaltspunkt. Vielmehr ist die Ansicht eine Folgerung der Voraussetzung, dass die Zellhaut Protoplasma besitzt, welches dann auch ihr Wachsthum in nicht näher aufgeklärter Weise bewirken soll. Schon an anderer Stelle ¹⁾ ist von mir darauf hingewiesen worden, dass diese Voraussetzung auf sehr schwachen Füßen steht. Jetzt muss ich noch hervorheben, dass alles, was ich über Neubildung von Zellhaut speciell bei *Vaucheria* und *Zygnema* beobachtet habe, diese Voraussetzung als unwahrscheinlich, mindestens sehr unbegründet erscheinen lässt. Schon die jüngsten Zellhäute, welche nach WIESNER fast größtentheils aus lebendem Eiweiß bestehen sollen, zeigen sich als die reinsten Cellulosehäute, die eben erst später durch Einlagerungen verschiedenartiger Substanzen ihre Qualität in mancher Beziehung ändern; für die Annahme eines Protoplasmagehaltes liegt kein Grund vor. Ferner ist zu betonen, dass alle diejenigen Eigenschaften, welche wir für Charaktere des Lebens zum Unterschiede vom todten Zustande ansehen, welche wir aus den Beobachtungen an Protoplasma, Kern, Chromatophoren erschlossen haben, für die Zellhaut keine Bedeutung haben. Sie bewahrt, ob bei todten oder lebendigen Zellen, dieselben chemischen Eigenschaften, dasselbe Verhalten zu Farbstoffen, Quellungsmitteln etc. Nun allerdings scheint sich herauszustellen, dass in Bezug auf die Dehnbarkeit der Zellhaut sich Unterschiede zwischen todten und lebenden Zellen vorfinden und von großer Wichtigkeit sind. Deshalb aber in jedem solchen Falle ein lebendes Protoplasma in der Zellhaut anzunehmen, würde zu in jedem Falle sehr hypothetischen Vorstellungen führen, die außerdem auch nichts erklären, weil dann doch dieselbe Frage, wie macht es das in der Zellhaut lebende Protoplasma, wieder sich aufdrängt und Antwort fordert.

II. Über Wachsthum und Theilung.

Die mitzutheilenden Beobachtungen beziehen sich ausschließlich auf das Wachsthum und die Theilung von Zellen unter der bestimmten Bedingung, dass durch Plasmolyse der Protoplast von seiner ursprünglichen Zellhaut getrennt ist. Wir haben gesehen, wie bei den verschiedensten Pflanzen eine Neubildung von Zellhaut um die plasmolytischen Zellkörper erfolgt; es fragt sich, in welchem Umfange und in welcher Art und Weise die eben genannten Lebensprozesse dabei zur Erscheinung kommen.

Im Gegensatz zu der Zellhautbildung zeigt sich nach meinen bisherigen Erfahrungen das Wachsthum unter den bezeichneten Umständen viel sel-

1) KLEBS, Einige kritische Bemerkungen zu der Arbeit von WIESNER etc. Biologisches Centralblatt. IV. 1886. No. 45.

tener und beschränkter; eigentlich nur bei einigen Algen. Die genauere Untersuchung der stattfindenden Vorgänge geschah hauptsächlich an den *Zygnemen*, welche für die Frage das beste Material lieferten. In 46% R-Zucker oder 40% Glycose tritt bei *Zygnema C.* in allen Zellen Plasmolyse ein, bei den kurzelligen breiteren Fäden in schwächerem Grade als bei den langzelligen schmälere. Nach Erreichung des Gleichgewichtszustandes sind die Protoplasten entweder kugelig oder in den schmalen Zellen auch wohl ellipsoidisch. Nach 3—4 Tagen machen sich in den am Licht stehenden Zuckerculturen Formveränderungen der contrahirten Protoplasten bemerkbar, welche im Allgemeinen in einer Längsstreckung bestehen, während die einmal nach Plasmolyse gewonnene Breite resp. Dicke kaum verändert, höchstens in der Mitte oft noch verringert wird. Diese Ausdehnung, constant in der Richtung der ursprünglichen Längsaxe der Zelle, kann nicht anders als der Anfang eines wirklichen Längenwachsthums aufgefasst werden, da die Annahme, dass bloß ein höherer osmotischer Druck im Zellsaft entstanden ist, zur Erklärung der bestimmten Längsstreckung nicht genügt. Ein solcher Druck würde gleichmäßig den Protoplasten nach allen Richtungen des Raumes ausdehnen, wie die Wasseraufnahme nach Verdünnung der Zuckerlösung auch sehr anschaulich beweist. Es ist hier gleich voraus zu nehmen, dass ein Eindringen von Zucker in den Zellsaft bei sonst normalen Verhältnissen nicht festzustellen ist, dass bei Behinderung des Wachsthums durch Dunkelheit der contrahirte Protoplast im Zucker wochenlang unverändert bleibt.

In dem ersten Stadium des Längenwachsthums ist in vielen Fällen bei *Zygnema C.* noch keine neue Zellhaut gebildet worden. Da diese Thatsache für die Theorie des Wachsthums von großer Bedeutung ist, so kommt es darauf an, sie möglichst sorgfältig zu prüfen, da der Einwand berechtigt ist, dass das erste sehr zarte Häutchen leicht übersehen werden könnte.

Für den Mangel einer Zellhaut spricht die nicht seltene Erscheinung, dass bei dem Beginn des Längenwachsthums an den Enden die dabei mitwirkenden Druckkräfte Plasmamassen aus der zerreißen Hautschicht nach außen pressen (Taf. VI, Fig. 5). Diese Plasmatheile können von verschiedenster Größe sein, können sich isoliren, bleiben aber sehr häufig mit dem Protoplasten in Verbindung und werden später von Zellhaut umkleidet. Sowie nun diese entstanden ist, der Protoplast an ihr trotz ihrer anfänglichen Weichheit eine gewisse Widerlage gewinnen kann, geschieht ein solches Hervorpressen von Plasmatheilen nicht mehr. Häufiger als in reiner Zuckerlösung zeigte sich übrigens die Erscheinung, wenn ein Zusatz von 0,05 Knop'scher Nährlösung, 0,05 saurem weinsaurem Kali der Cultur gegeben wurde.

Wichtig für den Nachweis des Mangels einer Zellhaut im ersten Stadium des Längenwachsthums ist die Einwirkung von Salpeterlösung (gesättigt angewandt), welche den Protoplasten stärker plasmolytisch macht und im

Fälle des Vorhandenseins einer Zellhaut dieselbe deutlicher hervortreten lässt. Bei allen solchen plasmolytischen Versuchen macht sich eine Erscheinung bemerkbar, welche die Folge einer sehr allgemeinen Eigenschaft lebender Protoplastkörper ist, und die darin besteht, dass derselbe bei Contraction infolge Wasserverlustes dicke oder dünne Plasmafäden an seiner Peripherie bildet. Schon PRINGSHEIM¹⁾ und NÄGELI¹⁾ haben bei der Plasmolyse von Pflanzenzellen diese Plasmafäden gesehen; BOWER²⁾ hat bei sehr verschiedenen höheren Pflanzen dieselben nachgewiesen. Während für alle diese Fälle angenommen wird, dass die Fäden, welche ich im Folgenden als Pseudopodien bezeichnen will, dadurch zu Stande kommen, dass das Plasma an gewissen Stellen der Zellwand stärker adhärirt, fällt diese Erklärung fort für alle nackten, frei schwimmenden Plasmamassen, die dasselbe Verhalten aufweisen. Es wäre möglich, dass auch hierfür der von BERTHOLD neuerdings gegebene Erklärungsversuch richtig wäre, welcher für die Pseudopodienbildung der Amöben gelten soll. Jedenfalls hat BERTHOLD³⁾ wohl in der Behauptung Recht, dass die meisten Pseudopodien nicht ausgestreckt, sondern ausgezogen werden. Bei der ersten Plasmolyse von *Zygnema*-Zellen in concentrirten Zuckerlösungen sind sehr zahlreiche zarte Pseudopodien vorhanden, welche bis zur Zellwand gehen. Schon nach 24 Stunden sind sie verschwunden, augenscheinlich eingezogen, weil keine Spur von Plasma-theilchen oder Körnchen sich später vorfindet; bisweilen allerdings können die Pseudopodien sich mehrere Tage erhalten.

Wenn man nun auf die vollständig glatt abgerundete Kugel des contrahirten Protoplasten concentrirte Salpeterlösung einwirken lässt, so erfolgt eine stärkere Contraction und wieder eine Neubildung von Pseudopodien, welche diesmal aber frei endigen (Taf. VI, Fig. 48). Dabei werden häufig außerdem Inhaltsbestandtheile der Protoplasten herausgepresst, besonders kleine Gerbstoffbläschen, welche entweder an den Fäden sitzen bleiben, oder frei umher tanzen. Gerade durch die freie Bewegung solcher Bläschen wie die freie Endigung der Pseudopodien lässt sich nachweisen, dass bei schon beginnender Längsstreckung häufig noch keine Zellhaut vorhanden ist.

Am beweisendsten aber für das Wachsthum der nackten *Zygnema*-Protoplasten sind Culturen in Rohrzucker-Congoroth. Sowie nur das erste Zellhäutchen ins Dasein tritt, wird es roth gefärbt und hebt sich scharf von dem grünen Zellkörper ab. Eine besondere Eigenthümlichkeit, welche für die vorliegende Frage bedeutungsvoll ist, macht sich bemerkbar. Bei denjenigen Protoplasten, welche in die Länge zu wachsen beginnen, werden

1) PRINGSHEIM, Untersuchungen über den Bau und die Bildung der Pflanzenzelle. 1854. S. 12—13; NÄGELI in NÄGELI und CRAMER, Pflanzenphysiolog. Untersuch. I. S. 2.

2) BOWER, On Plasmolysis and its bearing upon the Relations between Cell Wall and Protoplasm. Quart. Journ. of microsc. Sc. XXIII. 1885; vergl. auch mein Referat darüber Bot. Zeitg. 1885. S. 588.

3) BERTHOLD, Studien etc. S. 103.

die ersten Zellhautschichten zuerst und allein an den Seitenwänden gebildet, während gerade die wachsenden Enden vollkommen zellhautfrei sind (Taf. V, Fig. 15). Dieses lässt sich noch klarer nachweisen durch erneute Plasmolyse, bei welcher die freien Enden deutliche Pseudopodien bilden, während die rothen Zellhautschichten im engsten Zusammenhange mit dem Cytoplasma verharren (Taf. V, Fig. 14). Schon während dieser Wachstumsanfänge kann bei manchen Protoplasten eine seitliche Einschnürung derselben stattfinden, welche durch neue Zellhautschichten ausgefüllt wird, die aber noch nicht die beiden Enden einschließen. Erst allmählich werden auch diese mit Zellwänden umkleidet, welche an die Seitenwandschichten sich ansetzen. Gewöhnlich wird in den Zucker-Congoroth-Culturen damit das Wachstum sehr bald verlangsamt, schließlich ganz verhindert.

Aus allen den geschilderten Beobachtungen lässt sich wohl mit Recht folgern, dass bei *Zygnema* ein Längenwachstum möglich ist, ohne dass der Protoplastkörper von einer Zellhaut umschlossen ist, d. h. ohne dass Turgor besteht, wenn wir darunter mit SACHS die Spannung zwischen dem hydrostatischen Druck der Zellsäfte und der Elastizität der gedehnten Zellwand verstehen. Bevor aber auf die Wachstumstheorie näher einzugehen ist, möge zuerst das weitere Verhalten der *Zygnema*-Protoplasten in Betracht gezogen werden. Nachdem die Zellhaut in wechselnder Dicke neugebildet worden ist, geht das Längenwachstum lebhaft fort. Eine regelmäßige cylindrische Form wie bei der normalen Zelle ist relativ selten das Resultat der Veränderungen; sie trifft dann besonders zu, wenn die Plasmolyse nur gering war, so dass der Protoplast mit seinen neuen Zellwandschichten ganz oder größtentheils der alten Zellhaut anliegt. Nach stärker vorangegangener Plasmolyse nehmen dagegen die wachsenden Protoplasten abnorme und sehr mannigfache Gestaltungen an, von denen aber eine vorzugsweise häufig ist, nämlich die spiralig gedrehte (Taf. VI, Fig. 12). Einestheils sind diese Formen die unmittelbare Folge davon, dass der von der alten Zellwand umschlossene Raum für den wachsenden Protoplasten zu enge wird, derselbe an beide Querwände anstößt, welche an und für sich schon seinem Weiterdringen Widerstand entgegensetzen können, selbst wenn die Nachbarzellen abgestorben sind, um so mehr aber, wenn dieselben gleichfalls lebende Zellkörper besitzen. Dazu kommt, dass wegen der geringeren Breite des Protoplasten noch Raum genug ist für ein Wachstum, wenn er eben sich demselben anzupassen versteht. Schließlich füllt er dann den ganzen früheren Zellraum aus und sucht nun durch Wirkung auf die alte Zellwand ins Freie zu treten, wobei es zweifelhaft ist, ob die leicht zu beobachtende Thatsache der starken Verdünnung dieser Zellwand auf mechanische Dehnung oder chemische Wirkung bez. auf beides zurück zu führen ist (S. 519; Taf. VI, Fig. 20, eine Zelle mit lebendem Protoplasten neben je einer Nachbarzelle mit todtem). Indessen müssen bei den abnor-

men Gestaltungen der in Zuckerlösung verlängerten Protoplasten noch innere unbekannte Ursachen eine Rolle spielen. Denn das Streben nach schraubenförmigem Wachstum prägt sich bisweilen ganz früh in einem Stadium aus, in welchem noch keine deutliche Zellhaut sich nachweisen lässt (Taf. VI, Fig. 23), und wird selbst sehr lebhaft, wenn auch die Protoplasten noch keinen erheblichen Widerstand durch die alten Zellwände erfahren (Taf. VI, Fig. 25).

Abweichende Formen kommen bei den Zygneimen noch auf eine dritte Art und Weise zu Stande. Es wurde vorhin betont, wie vielfach am Anfang des Längenwachstums Plasmablasen herausgedrückt werden, welche aber mit der Hauptmasse des Zellkörpers in Verbindung bleiben. Bei der Zellhautbildung entsteht, entsprechend der dem Außenmedium zugewendeten Oberfläche, Zellhaut auch an diesen verschieden gestalteten Plasmablasen, welche bei dem weiteren Wachstum durch den Widerstand der alten Zellwand stark gedrückt und als besondere zellhautumgebene Kammern der Protoplasten erscheinen, da man die Verbindungsstelle mit dem Hauptkörper nicht sieht (Taf. VI, Fig. 24, die alte Zellwand ist nicht mitgezeichnet, ferner Taf. VI, Fig. 42, vergl. die Fig.-Erklärung).

Wenn man versucht, für die mancherlei abweichenden Gestalten, welche *Zygnema*-Zellen in concentrirten Zuckerlösungen annehmen, eine Erklärung zu finden, so wird man immer auf die Hauptfrage hingeführt, wie geht denn im normalen Leben das Wachstum vor sich? Da offenbart es sich nun, dass wir von einer Erkenntnis der Wachstumsursachen noch sehr weit entfernt sind. Die scharfsinnigen Untersuchungen NÄGELI's über die Wachstumsmechanik von Stärkekörnern geben keinen direkten Aufschluss über das Wachstum des Protoplasmas, abgesehen davon, dass die Grundlagen seiner Theorie selbst für die Stärke doch sehr erschüttert sind. Auf NÄGELI aufbauend, hat SACHS eine Theorie des Längenwachstums geschaffen, welche bisher die herrschende gewesen ist, welche im wesentlichen sich beschränkt auf den Versuch, das Flächenwachstum der Zellhaut zu erklären unter der Voraussetzung der Intussusceptionstheorie. Nach SACHS ¹⁾ ist die Turgescenz der Zelle, wenn auch nicht die einzige, doch eine der wesentlichsten Wachstumsursachen. Die durch den osmotischen Druck des Zellsaftes gedehnte elastische Zellhaut gleicht durch Einlagerung neuer fester Cellulosetheile die Spannung aus, infolge dessen eine Erhöhung des Druckes und eine neue Dehnung, damit eine erneute Spannungsausgleichung und so fort möglich wird. Besonders hat DE VRIES ²⁾ in mehreren Arbeiten die Theorie von SACHS weiter ausgearbeitet, die Ur-

1) SACHS, Lehrbuch der Botanik. 4. Aufl. 1874. S. 762; id. Vorlesungen über Pflanzenphysiologie. 1882. S. 689.

2) DE VRIES, Untersuchungen über die mechanischen Ursachen der Zellstreckung. Leipzig 1877; id. Eine Methode zur Analyse der Turgorkraft. Physiologischer Theil. PRINGSHEIM's Jahrb. f. wiss. Bot. XIV. 1884.

sachen der Turgescenz näher zu erforschen gesucht und den allgemeinen Satz ausgesprochen ¹⁾: »das Längenwachsthum beruht auf einer stetigen Production osmotisch wirksamer Stoffe im Saft der Zellen«. Der einzige, welcher bisher die Theorie schärfer angegriffen hat, ist KRABBE ²⁾, der jedenfalls mit Recht auf das geringe Beweismaterial hinweist, welches der Anschauung von SACHS-DE VRIES zu Grunde liegt. Er behauptet sogar, dass die Theorie unhaltbar sei, wobei er sich z. B. auf das Wachsthum der jungen Gefäße beruft, bei welchen ein höherer Druck als in den Nachbarzellen sich nicht nachweisen ließe, obwohl sie viel lebhafter als diese wachsen. Unter der Voraussetzung ferner, dass die Zellmembranen der Gefäßwände überall die gleichen Eigenschaften, speciell die gleiche Dehnbarkeit besitzen, kann es in der That für unmöglich gehalten werden, die verschiedenen Gefäßformen zu erklären. Indessen geht KRABBE dabei wohl zu einseitig vor, denn aus dem bloßen Anschauen kann man doch nicht auf Gleichheit oder Ungleichheit der Eigenschaften schließen, und es lässt sich nicht einsehen, wie überhaupt eine Zellenform zu erklären ist ohne Annahme verschiedener Dehnbarkeit der Zellhaut an den einzelnen Stellen, je nach ihren verschiedenen Richtungen im Raum. KRABBE spricht von einem activen Flächenwachsthum der Zellhaut, ohne aber vorläufig eine Vorstellung, wie dasselbe erfolgen soll, anzugeben.

Aus meinen oben mitgetheilten Beobachtungen (S. 526) lässt sich zunächst der Schluss ziehen, dass Wachsthum überhaupt ohne Turgor möglich sein muss, da eine nackte Protoplasmamasse aus der kugligen Form in eine langgestreckte aus inneren Ursachen übergeht, von einem Zustand aus, in welchem ein Gleichgewicht der Druckkräfte des Außenmediums und des Protoplasmas herrscht. Eine Zunahme des osmotischen Druckes im Zellsaft kann nicht die Hauptursache davon sein, da durch dieselbe nur eine gleichmäßige Volumvergrößerung, aber keine Formveränderung herbeigeführt wird, wie es sich auch thatsächlich bei künstlicher Erhöhung des Druckes durch Verdünnung der Zuckerlösung zeigt. Es müssen ganz specifische, vorzugsweise an den Polen der ursprünglichen Längsaxe des Protoplasten wirksame Prozesse sich abspielen, damit die Längsstreckung erfolgt. Man kann sich natürlich vorstellen, dass hierbei die Erhöhung des Zellsaftdruckes mitwirkt, ja man wird es für wahrscheinlich halten, weil man das Hervorpressen der Plasmablasen beobachtet, aber es ist auch denkbar, dass allein in dem Protoplasma an den Enden locale Druckwirkungen hervorgerufen werden, und auch im ersteren Falle müsste noch eine besondere Veränderung des Plasma, speciell an der Oberfläche der Enden, stattfinden,

1) DE VRIES, Über die inneren Vorgänge bei den Wachsthumsvorgängen mehrzelliger Organe. Bot. Zeitg. 1879. S. 837.

2) KRABBE, Das gleitende Wachsthum bei der Gewebebildung der Gefäßpflanzen. Berlin 1886. S. 66—73.

um zu erklären, dass es nur hier sich nach außen streckt. Was für Prozesse nun thätig sind, darüber können wir uns keine Vorstellung machen; nur darf man nicht vergessen, dass es sich hier, bei dem Wachsthum der *Zygnema*-Protoplasten, um sehr geringe Kräfte handelt; eine minimale Druckkraft muss bei dem Gleichgewichtszustande zwischen Zellsaft und Protoplasma einerseits und andererseits dem ganzen Protoplasten und dem Außenmedium schon zu Formveränderungen der ersteren führen.¹⁾

Wenn der Protoplast von *Zygnema* sich in der Zuckerlösung mit Zellwand unkleidet, so wird man eher geneigt sein, dem Turgor eine größere Bedeutung zuzuschreiben. Indessen ist doch im wesentlichen nicht viel geändert, eine hohe Spannung zwischen Zellhaut und Zellsaft existirt nicht. Die neuen Zellwandschichten sind weich, wasserreich, erscheinen vielmehr schleimartig, so dass nur eine geringe Erhöhung des Druckes im Protoplasten nothwendig ist, um den gegenüber der Zuckerlösung etwas größeren Widerstand ebenso leicht zu überwinden, und das aus inneren Ursachen an den Polenden des Protoplasten sich geltend machende Streben nach Verlängerung ungehindert zur Ausführung gelangt. Wenn wir jetzt die *Zygnemen* aus der Zuckerlösung an reines Wasser durch allmähliche Anpassung gewöhnen, so betrifft die Hauptveränderung wohl zunächst den Zellsaft, der durch Wasseraufnahme einen stärkeren Druck auszuüben im Stande ist. Theils infolge dieses Druckes, theils aber auch aus in ihr selbst liegenden Ursachen²⁾ wird die Zellhaut im Wasser dichter, fester, weniger leicht dehnbar und kann deshalb dem höheren Druck das Gleichgewicht halten. Sie wird, entsprechend der Höhe des Druckes, plastisch gedehnt, bis ein Gleichgewichtszustand erreicht ist. Es ist wichtig hier zu betonen, dass die elastische Dehnung einer wachsenden Zellhaut wenigstens bei *Zygnema* eine sehr geringe sein muss.³⁾ Fehlen auch genauere experimentelle Untersuchungen, so folgt das schon daraus, dass nach Aufhebung des Turgors es mir nicht gelang, eine messbare Verkürzung der Zellhaut nachzuweisen.³⁾ Will die Zelle sich weiter verlängern, so müssen genau wie bei dem nackten Protoplasten in Zucker die specifischen Wachsthumsprozesse in den Enden thätig sein, um das Gleichgewicht zwischen Zellhaut und Zellsaft zu stören, indem das Protoplasma sich zu verlängern sucht, und damit eine Druckwirkung ausübt. Dieselbe wird eine Verlängerung der ganzen Zelle, damit eine Dehnung der Zellhaut dann zu Stande bringen, wenn gleichzeitig auch der osmotische Druck des Zellsaftes um die gleiche Größe wie im Plasma erhöht würde. Diese Annahme wäre aber nicht einmal nothwendig, wenn die aus anderen Gründen sich aufdrängende Ansicht richtig ist, dass

1) Vergl. darüber auch PFEFFER, Osmotische Untersuchungen. S. 472.

2) Ich schließe dies daraus, dass die neuen Zellwände abgestorbener Protoplasten in Wasser eine so scharfe Begrenzung und ein dichteres Aussehen annehmen.

3) Darauf hat übrigens schon NÄGELI hingewiesen in: NÄGELI und CRAMER, Pflanzenphysiologische Untersuch. I. S. 22.

das Cytoplasma noch die specifische Fähigkeit besitzt, die Zellhaut dehnbarer zu machen infolge einer chemischen Wirkung.

Nach meiner Anschauung hat allerdings der Turgor eine große Bedeutung für das Wachsthum, so dass unter normalen Verhältnissen ohne ihn eine *Zygnema*-Zelle nicht wachsen kann. Er ist nothwendig, um den Widerstand der Zellhaut gegen eine Zugkraft überwinden zu helfen, welcher für die im Protoplasma thätigen Kräfte viel zu groß ist, um demselben eine Verlängerung zu gestatten. Die im Verhältnis zum Plasma geringe Dehnbarkeit der Zellhaut hängt mit der Hauptrolle derselben als schützende Hülle um das Protoplasma aufs engste zusammen. Man kann geradezu sagen, dass der höhere Druck im Zellsaft zum Theil deshalb nothwendig wurde, um die aus anderen Gründen geforderte Festigkeit in ihren sonstigen schädlichen Einflüssen zu compensiren. Der Turgor ist keine Ursache des Wachsthum; sie liegt vorzugsweise in dem Protoplasma. Er ist nur eine Bedingung zum Zustandekommen desselben, ebenso wie Nahrungszufuhr, Sauerstoff, Temperatur etc.; ja er ist nicht einmal so bedeutungsvoll, wie diese Verhältnisse, weil er nur für den speciellen, wenn auch sehr verbreiteten Fall gilt, dass die Zelle mit einer Zellhaut umkleidet ist, und vor allem auch deshalb, weil es selbst bei normal behüteten Zellen, wie denjenigen von *Zygnema*, gelingt, ihn zu eliminiren, ohne dass das Wachsthum deshalb unmöglich wäre. So muss man auch behaupten, dass die wahren Wachsthumursachen dem Wesen nach dieselben sind, ob es sich um das Wachsthum einer mit Cellulosehaut umgebenen Pflanzenzelle oder um das Wachsthum eines Myxomycetenplasmodiums oder einer Amöbe handelt. Wenn wir nun diese Ursachen in das Protoplasma verlegen, so heißt das nichts anderes, als dass wir über dieselben nichts wissen; für eine Wachsthumstheorie sind noch nicht die ersten Anfänge vorhanden. Bevor wir uns in ausführliche Speculationen über die Wachsthummechanik einlassen, wird es nöthig sein, einen gewissen Einblick in diese Ursachen zu gewinnen, vor allem zu versuchen, Angriffspunkte für die experimentelle Entscheidung der hier auftauchenden Probleme zu gewinnen.

Kehren wir jetzt zu der weiteren Entwicklung zurück, welche die *Zygnema*-Protoplasten in der concentrirten Zuckerlösung durchmachen, so ist noch hervorzuheben, dass gegenüber dem ausgesprochenen Längenwachsthum ein Dickenwachsthum des Protoplasten selbst in viel geringerem Maße, wenn überhaupt, stattfindet. Je nach dem Grade, in welchem die Plasmolyse bei den einzelnen Zellen eingetreten ist, haben die Protoplasten verschiedene Dicke; die einmal erreichte bewahren sie im ganzen bei, kleinere Abweichungen abgerechnet und abgesehen von dem lebhaften Dickenwachsthum der Zellhaut. Nicht selten scheint sogar eine Verringerung der Dickendimension sich bemerklich zu machen, denn manche lebhaft gewachsene Protoplasten machten mehr den Eindruck von bandartigen, als cylindrischen Körpern. Doch ist die Sache bisher nicht näher untersucht.

Allmählich hört in der Zuckerlösung das Wachstum überhaupt auf; in Glycose, wie früher beschrieben, findet vorher häufiger als in Rohrzucker ein Herausbreehen der Protoplasten aus der alten Zellwand statt. Die ins Freie tretenden Zellen gleichen häufig die schraubenförmige Drehung aus (Taf. VI, Fig. 6) oder bleiben mannigfach gekrümmt, können auch noch ein wenig wachsen und anormal lange schmale Zellen mit breiter geschichteter Zellhaut bilden. Die frei gewordenen wie die noch eingeschlossenen gehen dann mit der Zeit in einen Ruhezustand über und häufen in sich fettartige Substanzen auf. Ich habe Zygmenen bis zu einem Jahr in der ursprünglichen Zuckerlösung gehalten; die Protoplasten bestanden schließlich der Hauptmasse nach aus farblosem Öl. Wenn man dagegen die Zygmenen aus der Zuckerlösung in Wasser überführt, so beginnt ein erneutes Wachstum, wie früher geschildert wurde. Bei den ursprünglich in 20 % R-Zucker stark plasmolytischen Protoplasten bildeten sich einzelne kurze Zellfäden aus, welche nur die Hälfte des normalen Breitendurchmessers besaßen.

Der Wachstumsstillstand in der Zuckerlösung ist erklärlich, weil in den meisten Versuchen nichts anderes zugesetzt wurde, so dass schließlich auch wohl Mangel an Nährsalzen, speciell an stickstoffhaltigen Verbindungen sich bemerkbar machte. In 46 % R-Zucker, 0,2 Asparagin, 0,2 Salicin konnte ich allerdings keinen wesentlichen Unterschied gegenüber reinen Zuckerculturen beobachten. Bei den Versuchen mit Zucker und Knop'scher Nährlösung, in denen anfangs sehr lebhaftes Längenwachstum eintrat, hörte dasselbe dort auch auf, weil das beigefügte chromsaure Kali bei längerer Versuchsdauer etwas schädlich eingreift.

Was die Theilungsfähigkeit anbetrifft, so ist dieselbe bei der Cultur in Zucker sehr viel beschränkter als in Wasser. Bei *Zygnema C.* habe ich eine lebhaftere Theilungsfähigkeit in 46—20 % R-Zucker nie beobachtet; es sind vereinzelte Fälle, wo eine Zweitheilung bemerkbar wird. Häufiger findet sich dieselbe nach schwächerer Plasmolyse, z. B. in 10 % Zucker (vergl. Taf. VI, Fig. 4). Ziemlich regelmäßige Theilung sah ich auch an einer sehr schmalen *Zygnema*-Art, deren stark gewachsene schraubig gedrehte Protoplasten lebhaft sich theilten (Taf. V, Fig. 44).

Eine besondere Eigenthümlichkeit bot sich in einer Cultur der *Zygnema C.* in 46 % R-Zucker und Congoroth dar, indem hier der mir sonst im Pflanzenreich¹⁾ überhaupt nicht bekannte Fall eintrat, dass eine Zelle sich ohne directe äußere Eingriffe und ohne eine wahre, mit Kerntheilung

1) Bei Infusorien, besonders *Opalina*, ist eine lebhaftere Zertheilung beobachtet worden, die bis zu einer starken Zersplitterung der ursprünglichen Zelle führte; indessen enthielten die Splitter gewöhnlich noch einen Kern und waren lebensfähig; vergl. ZELLER, Untersuchungen über die Fortpflanzung und Entwicklung der *Opalinen*. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 29. Wir haben es hier also mit einer normalen Fortpflanzungsweise zu thun.

verbundene Zweitheilung in mehrere Stücke fragmentirte (Taf. V, Fig. 10). Wie die Färbungsmethode zeigte, besitzt nur ein einziges dieser Stücke den Kern, die andern enthalten keinen. Die kernlosen Stücke erhielten sich eine Zeit lang lebend, gingen aber meistens früher zu Grunde, als das kernhaltige, jedes für sich, unabhängig von einander. Wie früher bemerkt (S. 523), hört in Zucker-Congoroth das anfängliche Längenwachsthum auf, und die Protoplasten nehmen verschiedene Formen an, übrigens niemals deutlich schraubenförmig gedrehte. Es wurde ferner darauf aufmerksam gemacht, dass sehr häufig an den Längswänden eine Einschnürung des Protoplasten erfolgt (Taf. VI, Fig. 15). In einer von solchen Culturen ging dieser Einschnürungsprozess ungemein lebhaft vor sich, so dass der Protoplast in der That in 2 Hälften zerfiel oder noch häufiger in 3, ja 4 Stücke. Es macht vollkommen den Eindruck, als wenn entsprechend wie in den wachsenden, so auch in diesen nicht wachsenden Protoplasten in den Enden Zugkräfte erzeugt werden, welche dahin führen, nach beiden Seiten das Plasma auszudehnen. So strebt jedes Ende des Protoplasten nach seiner Seite vorwärts und rückt thatsächlich vor, aber die Folge dieser nach entgegengesetzten Seiten gerichteten Zugkräfte ist das allmähliche Ausziehen des Protoplasten in der Mitte, die Einschnürung bis zur Zertheilung. In dem Maße, als durch dieselbe der Protoplast von der innersten Zellhautschicht sich zurückzieht, bildet er neue Zellwandschichten und zwar bis zum letzten Moment an der Verdünnungsstelle, so lange noch ein Plasmafaden vorhanden ist, so dass nach dem Reißen desselben die Zellhautschichten gegenüberliegender Seiten sich berühren (Taf. V, Fig. 10). In der betreffenden Cultur war diese Zertheilung bei sehr vielen *Zygnema*-Fäden an den meisten Protoplasten eingetreten; die näheren Ursachen hierfür sind mir nicht bekannt; allerdings müssen besondere Umstände hier stattgefunden haben, da eine Zersetzung des Congoroth geschehen, die Culturflüssigkeit schwarz-violett gefärbt war. Doch weiß ich nicht, ob das in irgend einem Zusammenhang mit der Zertheilung gestanden hat.

Von anderen Algen, welche in plasmolytisch wirkenden Zuckerlösungen noch Wachstum zeigen, sind noch einige *Spirogyra*- und *Mesocarpus*-Arten hervorzuheben, welche im wesentlichen sich wie *Zygnema* verhalten. Die *Spirogyra*-Arten weisen übrigens mancherlei Variationen auf, die ich aber nicht näher in Betracht ziehen will, weil die Arten nicht sicher bestimmt wurden. Bei mehreren sah ich in 46 % Rohrzucker sehr lebhaftes schraubenförmiges Wachstum, dann auch Heraustreten der Protoplasten aus der aufgesprengten alten Zellhaut. Bei schwächerer Plasmolyse, z. B. in 40 % R-Zucker, erfüllt sich der Raum zwischen der alten Zellwand und dem Protoplasten mit weicher, lichtbrechender Zellhautmasse; durch das Wachstum werden die mannigfachsten Hin- und Herkrümmungen herbeigeführt. Dasselbe geschah auch bei zarten *Mesocarpus*-Arten (vergl. Taf. VI, Fig. 10). Die letzteren wachsen nach Plasmolyse überhaupt sehr schnell

und leicht, nehmen ebenfalls spiralige Drehung an und zeichnen sich ferner dadurch aus, dass sie sich lebhaft theilen (Taf. VI, Fig. 44).

Abweichender von den Conjugaten haben sich die *Oedogonium*-Arten gezeigt. Ein deutlich ausgesprochenes Wachstum habe ich bisher in reinen Zuekerculturen bei keiner Art beobachtet. Die contrahirten Protoplasten bilden lebhaft Zellhaut (S. 503); anfangs muss selbst eine Erhöhung des Zellsaftdruckes stattfinden, so dass gar nicht selten Plasmablasen hervorgepresst werden (Taf. VI, Fig. 34, 37). Hin und wieder haben auch manche Protoplasten eine abweichende Gestalt angenommen. Jedoch ein ausgiebiges, zweifelloses Längenwachsthum konnte bisher nicht festgestellt werden. Um so auffallender ist es, dass Theilungen nicht so selten sind, wenigstens bei einigen nicht näher bestimmten Arten. Dieselbe verläuft gegenüber den normalen Erscheinungen¹⁾ in vereinfachter Weise, insofern sich statt der Ringbildung, der Aufspaltung der Zellwand eine einfache Querwand (Taf. VI, Fig. 34, 33) ausbildet, welche, wie Zwischenstadien darlegen, allmählich, wie etwa bei *Cladophora*, von der Peripherie nach innen vordringt (Taf. VI, Fig. 34). Bemerkenswerth ist aber, dass der sich theilende Protoplast doch wenigstens Versuche macht, den seine Gattung beherrschenden Typus zur Geltung zu bringen. Man sieht solche Versuche der Ringbildung an der der Fadenspitze zugewendeten oberen Zelle, indem hier häufig eine Einschnürung des Protoplasten mit entsprechender Neubildung von Zellhaut deutlich ist (Taf. VI, Fig. 37). Ferner ist es auch nicht selten, dass durch die neue Querwand ungleich große Zellen abgetrennt werden, wobei dann die kleinere meist die obere Stelle einnimmt. Bald hört auch bei *Oedogonium* die Theilung auf, und die Protoplasten gehen in einen richtigen Ruhezustand über, verdicken noch ihre Zellhaut, füllen sich mit Stärke, Öl und färben sich bisweilen sogar roth. Bringt man solche *Oedogonium*-Fäden wieder in reines Wasser, so beginnt eine neue Lebensthätigkeit, die in sehr vielen Fällen in einer Bildung von Schwärmsporen besteht. Dieselben können aus der alten Zelle nicht heraus und kommen zur Ruhe; der Zellkörper wandelt sich von Neuem in eine Schwärmspore um, welche wieder in Ruhe übergeht. So kann dieselbe Zelle 4—5 mal den Prozess durchmachen (Taf. VI, Fig. 36) und geht dann zu Grunde. Andere Protoplasten wachsen in die Länge, theilen sich, sprengen die alte Zellhaut und wachsen zu typischen *Oedogonium*-Fäden heran, welche auch hier von den normalen Fäden derselben Species durch geringere Breite sich auszeichnen.

Eine *Conferva*-Spec. bildete in 46 % Rohrzucker eine neue, relativ dicke Zellhaut und streckte sich in die Länge, wobei vielfach die Zellhaut in

1) Vergl. PRINGSHEIM, Beiträge zur Morphologie und Systematik der Algen. PRINGSHEIM's Jahrb. f. wiss. Bot. I. S. 42—46; STRASBURGER, Zellbildung und Zelltheilung. 3. Aufl. S. 488—494.

die schon mehrfach beschriebenen **I**-förmigen Stücke getrennt wurde, namentlich nach der nicht selten erfolgten Zweitheilung.¹⁾

Bei einer ganzen Anzahl Pflanzen findet nach Plasmolyse in concentrirten Zuckerlösungen weder Wachstum noch Theilung statt. Hierzu gehören alle diejenigen, welche wie die Desmidiaceen, Diatomeen etc. überhaupt nicht einmal fähig sind, Zellhaut neu zu bilden, ferner auch solche, welche das letztere noch im Stande sind, wie Zellen von Prothallien, *Fumarica hygrometrica*, *Eloдея canadensis*.

Sehen wir nun, dass im allgemeinen durch stärkere Wasserentziehung die Ausübung wesentlicher Lebensprozesse bei vielen Pflanzen beschränkt resp. ganz verhindert wird, so giebt es andere Fälle, in denen im Gegentheil dieselben Lebensprozesse selbst lebhafter als unter normalen Verhältnissen vor sich gehen können. So beobachtet man diese Erscheinung nach Plasmolyse der Zellen von der gemeinen *Cladophora fracta*. Diese Alge wächst vorzugsweise durch Theilung der oberen Zellen jedes Zweiges und verzweigt sich durch Neubildung von Ästen an denselben Zellen. Allerdings ist wohl bekannt,²⁾ dass neben einem geringen intercalaren Wachstum auch ältere Zellen junge Zweige zu bilden vermögen: aber in jedem Falle tritt dieses erneute Wachstum doch nur vereinzelt gegenüber der großen Masse der Zellen auf, und auch die Zweitheilung ist relativ selten. In 16 % Rohrucker werden die meisten Zellen der *Cladophora*, wenn auch nicht in sehr hohem Grade plasmolytisch; in wenigen Tagen haben die Protoplasten sich mit neuen geschichteten Zellhäuten umgeben, und wachsen und füllen in vielen Zellen den alten Zellraum vollständig wieder aus. Nach Ausfüllung des alten Raumes kommt es zu einer Zweitheilung selbst in ganz alten, dicken, keulenförmig angeschwollenen Zellen, nach dem bekannten Modus verlaufend. Ferner findet aber auch eine lebhaftere Neubildung von Zweigen statt (vergl. S. 524), je einer am oberen Ende. Der Unterschied gegenüber normal cultivirten Fäden liegt häufig darin, dass der neue Zweig sich von der Mutterzelle nicht wie gewöhnlich nahe seiner Ursprungsstelle durch eine Zellwand abtrennt, sondern durch eine solche, welche noch das obere Stück der Mutterzelle von derselben abtrennt und dem Zweige zuertheilt. Diese Tendenz zur Zweigbildung kann soweit gehen, dass eine ältere Zelle sich zuerst in zwei theilt, von denen dann noch jede einen neuen Zweig bildet. Allerdings hört das Wachstum in der Zuckerlösung überhaupt bald auf, die Zweige bleiben kurz, besitzen übrigens durch mancherlei Biegungen

1) Vergl. BERTHOLD, Studien etc. S. 273. Von früheren Arbeiten vergl. FAMINTZIN, Die anorganischen Salze als Hülfsmittel zum Studium der Entwicklung niederer chlorophyllhaltiger Organismen. Mélang. biolog. 1874; KOLDERUP-ROSENINGE, Slaegt Ulothrix og Conferva. Botanisk Tidsskrift. 3 R. 3. Bd. 1879; WILLE, Om Hoileceller hos Conferva. Ofversigt af K. Vetens. Akad. Förhandl. 1884.

2) BERTHOLD, Untersuchungen über den Aufbau einiger Algen. Inaug.-Diss. 1878. S. 20; STRASBURGER, Bau und Wachstum der Zellhaut. S. 179.

häufig unregelmäßige Gestaltungen. In 20 % verläuft der Vorgang nicht ganz in derselben Weise. In 25 % R-Zucker wird die Zweigbildung schon etwas seltener, doch kommt sie noch bei ganz alten Zellen vor. Häufiger dagegen ist die Zweitheilung, nur dass sie nicht selten dadurch in unregelmäßiger Weise verläuft, dass ganz kurze cubische Stücke abgetrennt werden, oder dass die Querwand nicht vollständig ausgebildet wird. Bei stärkerer Plasmolyse der *Cladophora*-Zellen muss übrigens vor der Zellhautbildung ziemlich viel Plasma ausgestoßen werden. Häufig sah man zwischen dem mit neuer Haut umkleideten Protoplasten und der alten Querwand eine körnige vacuolige Plasmamasse, welche mehrere Tage anscheinend sich lebend erhielt.

Zuckerlösung kann auch in anderen Fällen der Theilungsthätigkeit förderlich sein, in einer Concentration, welche an und für sich noch keine deutliche Plasmolyse bewirkt. Desmidiaceen, darunter auch *Euastrum verrucosum*, zeigen plasmolysirt weder Wachstum noch Theilung. Die genannte Art cultivirte ich auf einem Objectträger in 40 % R-Zucker in einem feuchten Raum, aus dem die Zuckerlösung allmählich Wasser an sich zog und sich verdünnte. Eine Plasmolyse der Zellen von *Euastrum* kam nicht zu Stande; auffallenderweise fingen dieselben an sich zu theilen, und die Tendenz hierzu war so lebhaft, bez. das eigentliche Wachstum behindert, dass bevor noch die Tochterhälfte ausgebildet war, die Tochterzellen sich weiter theilten, die dadurch entstehende Generation dasselbe ausführte. So entstanden ganz abnorme Zellen von *Euastrum*, welche von dem Arttypus sehr wesentlich abwichen, viel mehr als manche der andern Species; ja welche, wie das Beispiel auf Taf. VI, Fig. 43 a, überhaupt nicht mehr die Charaktere der Gattung aufwiesen. Als Endprodukte kamen schließlich Formen wie Fig. 43 b zum Vorschein, welche dann nicht lange lebensfähig waren.

Eine entsprechende Beschleunigung der Theilung bei verzögertem Wachstum zeigte auch eine sehr schmale zarte *Spirogyra* in 40 % R-Zucker-Congoroth, wobei wahrscheinlich das letztere die Ursache der Wachstumsbehinderung war. Die Zellen bewahrten ihre ursprüngliche Länge, theilten sich aber mehrmals, so dass abnorm kurze Tochterzellen entstanden, bei welchen bisweilen die neugebildeten Querwände ganz schief gerichtet waren (Taf. VI, Fig. 9 nach erneuter Plasmolyse).

III. Über die Abhängigkeit der Zellhaut-Stärkebildung und des Wachstums vom Licht und von äußeren Culturbedingungen.

Von den äußeren Einflüssen, welche in das Leben der Zelle eingreifen und ihre Lebensthätigkeiten oft in bestimmte Richtungen lenken können, wird im Folgenden vorzugsweise die Bedeutung des Lichtes für die in den vorigen Abschnitten mitgetheilten Lebenserscheinungen hier näher in Be-

tracht gezogen werden. Die naheliegende Frage nach dem Einfluss der Temperatur habe ich bei Seite gelassen; denn Vorversuche zeigten, dass dieselbe in der aus zahlreichen anderen Arbeiten bekannten Weise auf die Lebensprozesse, die nach Plasmolyse in Zuckerlösung sich abspielen, einwirkt. Für die Algen, z. B. für *Zygnema*, sind die Temperaturgrenzen zwischen Minimum und Maximum ziemlich weit gesteckt; noch bei 10° über dem Gefrierpunkt, ja bei diesem selbst, wachsen die Zygneten in den Zuckerculturen. Dagegen gelten alle bisher geschilderten Beobachtungen über Zellhautbildung, Wachstum, Theilung nur für den Fall, dass die Zuckerculturen im Licht stehen.

Wenn Zygneten in Wasser im Dunkeln¹⁾ cultivirt werden, so findet anfangs Wachstum statt, sehr spärlich, soweit es sich beurtheilen lässt, Theilung. Beides hört bald ganz auf, die Zellen begnügen sich, das vorhandene Nahrungsmaterial langsam zu verzehren. Allmählich schwindet sämtliche Stärke, bei der Mehrzahl der Fäden nach 7—8 Tagen, langsamer bei den breiten kurzcelligen Fäden; das Protoplasma vermindert sich bis auf eine ganz dünne peripherische Schicht, die Chlorophyllkörper verlieren ihre normale Gestalt, vereinigen sich zu einer in der Peripherie liegenden Platte (Taf. VI, Fig. 22). So allmählich aushungernd, können sich Zygneten zur Winterszeit²⁾ 14 Tage bis 3 Wochen lebend erhalten; nur einige widerstandsfähige Fäden bleiben selbst 4 Wochen lebendig.

In Zuckerlösungen gewinnen nun die Zygneten sehr bedeutend an Lebensfähigkeit gegenüber den schädlichen Einflüssen der Dunkelheit. In Rohrzucker von 45% hält die Mehrzahl der Fäden 3 Monate aus, einige kräftigere sogar 4 Monate. Ein wesentlicher Grund für diese lange Lebensdauer chlorophyllhaltiger Zellen nach Entziehung des Lichtes liegt wohl darin, dass infolge der Wasserentziehung die Stoffwechselprozesse, speciell die Athmung, verlangsamt sind, der Verbrauch des Nahrungsmaterials daher ein sehr allmählicher ist. Während sich die meisten Fäden von *Zyg-*

1) Es ist seit lange bekannt, dass Wachstum und Theilung im Dunkeln vor sich gehen kann; vergl. z. B. BRAUN, Erscheinungen der Verjüngung. S. 244; SACHS, Lehrbuch der Botanik. 4. Aufl. S. 47. SACHS meinte sogar, dass diese Lebensprozesse vorzugsweise bei Lichtabschluss erfolgen. Das ist nicht allgemein richtig, wie FAMIŦZIN für *Spirogyra* nachwies. *Zygnema* scheint sich wie diese zu verhalten, zeigt anfänglich noch Wachstum und Theilung, hört dann mit beiden bald auf, trotz vorhandener Nährstoffe, so dass noch andere, vom Licht abhängige Verhältnisse für dieselben nothwendig sind. FAMIŦZIN, Die Wirkung des Lichtes auf Algen. PRINGSHEIM's Jahrb. Bd. VI; id. Die Wirkung des Lichtes auf die Zelltheilung. Mélanges biologiques de l'Acad. de Pétersbourg. T. IX. 1875. Vergl. ferner auch KNY, Das Wachstum des Thallus von *Coleochaete scutata* in seinen Beziehungen zur Schwerkraft und zum Licht. Ber. d. bot. Gesellsch. II. 1884.

2) Zur Sommerzeit bei der höheren täglichen Durchschnittstemperatur halten die Zygneten kürzere Zeit den Lichtabschluss aus, gehen meist schon nach 6—8 Tagen vollständig zu Grunde. Wesentlich mitwirken dabei Bacterien, Amöben, Flagellaten.

nema C. in 8 Tagen in Wasser entzucker, verlieren sie in Zuckerlösung ihre Stärke erst nach 4 Wochen. Indessen kann diese Verlangsamung des Stoffwechsels nicht die einzige Ursache sein; denn schon eine 1 % R-Zuckerlösung mit einer sehr geringen wasserentziehenden Kraft wirkt sehr lebenserhaltend, so dass z. B. *Zygnema*-Fäden, welche bereits 12 Tage im Dunkeln in Wasser cultivirt waren, in 1 % R-Zucker noch 7 weitere Wochen bei Lichtabschluss lebend blieben. Der erste Gedanke, dieses Verhalten zu erklären, wäre die Annahme, dass die Zygneten den Zucker aufnehmen und mit seiner Hilfe sich eine Zeit lang ernähren. Dieser Gedanke erscheint um so berechtigter, als durch BÖHM¹⁾, SCHIMPER, MEYER UND PFEFFER nachgewiesen ist, dass Blätter von Moosen, selbst Blütenpflanzen vermögen, R-Zucker bez. Glycose aufzunehmen und auch daraus Stärke zu bilden. Merkwürdigerweise besitzen entzuckerte Zygneten unter sonst normalen Verhältnissen nicht diese Fähigkeit. Wegen des unerwartet sich einstellenden Resultates sind sehr zahlreiche Versuche nach dieser Richtung veranstaltet worden und zwar mit verschiedenen Concentrationen von 1, 5, 10, 15, 20 % R-Zucker.²⁾ Eine unzweifelhafte Stärkebildung konnte in den vorher entzuckerten Zygneten nicht festgestellt werden. Die oben mitgetheilten Beobachtungen über die Entzuckerung von Zygneten in Zuckerlösung beweisen ebenfalls, dass diese Algen nicht den Zucker aufnehmen, wenigstens nicht zu Stärke verarbeiten können.

Aus den sorgfältigen und sehr ausführlichen Untersuchungen von DE VRIES³⁾ ergab sich nicht bloß für Zucker, sondern auch andere organische wie unorganische Stoffe die Unmöglichkeit, ihr Eindringen in das Protoplasma bez. den Zellsaft nachzuweisen⁴⁾, und doch kann nicht der geringste Zweifel darüber herrschen, dass diese Stoffe, wie Zucker, Salpeter, von den Zellen aufgenommen werden und von einer Zelle zur andern wandern.

1) BÖHM, Über Stärkebildung aus Zucker. Bot. Zeitg. 1883; SCHIMPER, Über Bildung und Wanderung etc. Bot. Zeitg. 1885; MEYER, Bildung der Stärkekörner in den Laubblättern aus Zuckerarten. Bot. Zeitg. 1886; PFEFFER, Über Aufnahme von Anilinfarben etc. Tübinger Unters. II. S. 310.

2) Bei allen diesen Versuchen über Entstehung von Stärke im Dunkeln muss man mit möglichst viel Material arbeiten; aus in einzelnen Zellen vorhandenen Stärkeansammlungen darf man nie etwas folgern. Es giebt bei Zygneten, wie auch bei *Funaria* und *Elodea*, immer Zellen, welche nach mehreren Wochen Dunkelheit noch ihre Stärke besitzen, und ebenso sterben andere früh ab und behalten dieselbe. Der Stärkenachweis geschah stets mit der von SCHIMPER empfohlenen Jodchlorallösung, vergl. SCHIMPER, Über Bildung und Wanderung der Kohlehydrate in den Laubblättern. Bot. Zeitg. 1885. S. 739. Der Jodchloral erwies sich auch gut dafür, um die eben berührte Fehlerquelle zu vermeiden. Die abgestorbenen Zellen verquellen in der ersten Stunde, vielfach auch nach 24 Stunden nicht, während die noch lebenden vollständig durchsichtig werden.

3) DE VRIES, Sur la perméabilité du protoplasme des Betteraves rouges. Archiv. Néerl. Bd. VI. 1874; id. Plasmolytische Studien. PRINGSHEIM's Jahrb. XVI. 1885.

4) Vergl. auch PFEFFER, Pflanzenphysiologie. I. S. 44.

Eine Lösung dieses anscheinenden Widerspruches ist bisher nicht gelungen herbeizuführen. Allerdings giebt es Substanzen¹⁾, welche sofort in die lebende Zelle eindringen, wie z. B. Alkalien, Säuren; aber dieselben üben eine direct schädliche Wirkung aus, verändern, wie DE VRIES gezeigt hat²⁾, die Molekularstruktur der Hautschicht, so dass sie überhaupt viel leichter permeabel wird, nicht bloß für diese Stoffe selbst, sondern auch für andere, die vorher nicht in die Zelle gelangen. Die ersten Beobachtungen über das Eintreten von Substanzen in lebende Zellen ohne direkte Schädigung derselben verdanken wir PFEFFER,³⁾ der nachwies, dass gewisse Anilinfarben, wie Methylenblau, Methylviolett, theils den Zellsaft, theils bestimmte Körper im Protoplasma intensiv färben, indem sie von denselben allmählich aufgespeichert werden. Ein Stoff, dessen Eindringen in die Zelle sich nicht bloß aufs sicherste nachweisen lässt, sondern welcher auch von derselben verarbeitet wird, ist nach meinen Untersuchungen das Glycerin, von dem übrigens schon MEYER⁴⁾ und LAURENT zeigten, dass es von gewissen höheren Pflanzen zur Stärkebildung benutzt werden kann. Zygnumen⁵⁾, in eine Lösung von 10 % wasserfreiem Glycerin gebracht, werden sofort plasmolytisch; ganz allmählich innerhalb der ersten Stunde beobachtet man eine Wiederausdehnung der Protoplasten, bis schließlich dieselben sich wieder an die Zellwand anlegen, der normale Zustand erreicht ist. Mehrere Monate lang lassen sich nun die Zygnumen in der Glycerinlösung weiter cultiviren. Wenn man die Zygnumen aus 10 % in 20 % Glycerin überführt, so tritt wieder Plasmolyse ein, später Zurückgang derselben, und selbst in einer zwanzigprocentigen Lösung leben die Zygnumen viele Wochen. Es folgt aus diesen Beobachtungen, dass Glycerin in den Zellsaft der Zygnumen durch die Hautschicht eindringen kann, und zwar geschieht es in einem solchen Maße, dass dieser Glyceringehalt im Zellsaft und im Außenmedium der gleiche ist, die absolute Größe des Turgors nicht verändert wird. Gegenüber anderen wasserentziehenden Mitteln, wie Salpeter, Zucker, verhalten sich die glycerinhaltigen Zygnumen wie normale, d. h. zeigen Plasmolyse je nach dem Grade der Wasserentziehung.

Das Glycerin wird aber auch unstreitig von den Zygnumen verarbeitet. In 5 % Glycerin, welches anfänglich schwach plasmolytisch wirkt, beginnen später, nach Erreichung des normalen Zustandes, die Zygnumen sehr leb-

1) PFEFFER, Osmotische Untersuchungen. S. 440. Übrigens hat Pf. neuerdings gezeigt, dass eine sehr verdünnte Citronensäure in die lebende Zelle eindringen kann, ohne bleibenden Schaden hervorzurufen. Tübinger Unters. II. S. 264.

2) DE VRIES, Plasmolyt. Studien. S. 562.

3) PFEFFER, Über Aufnahme von Anilinfarben in lebende Zellen. Tübinger Unters. II.

4) MEYER, Bot. Zeitg. 1886. S. 432; LAURENT, Stärkebildung aus Glycerin. Bot. Zeitg. 1886. S. 454.

5) Andere Algen verhalten sich dem Glycerin gegenüber durchaus nicht gleich; doch will ich an anderer Stelle darauf zurückkommen.

haft zu wachsen, wie sonst nicht in den gewöhnlichen Wasserculturen. Wird die Glycerincultur im Dunkeln gehalten, so zeigt sich hier ebenfalls das lebhafteste Wachstum; die früher geschilderten Veränderungen, welche durch den Lichtabschluss veranlasst werden, machen sich nicht bemerkbar. Nach 6 Wochen noch sahen in der Cultur von 5 % Glycerin die dem Licht entzogenen Zygneten vollkommen frisch und normal aus, ja ihre Chlorophyllkörper hatten eine so schön und reich ausgebildete sternförmige Gestalt, wie ich sie sonst in Wasserculturen überhaupt noch nie gesehen habe, und waren dabei an ihren Pyrenoiden dicht mit Stärkekörnern versehen. Die in Jodchloral hervortretenden Stärkemassen waren häufig nicht kuglig, wie sonst bei den Zygneten, sondern oft langgestreckt. Aus allen diesen Erscheinungen folgt schon, dass die Zelle das aufgenommene Glycerin verarbeiten muss, sich von ihm zu ernähren fähig ist. Der beste Beweis hierfür wurde ebenfalls geliefert, d. h. ent stärkte Zygneten bildeten in 5 % Glycerin große Mengen von Stärke.

Wachstum und Stärkebildung sind bei Gegenwart des Glycerins bis zu einer gewissen Grenze unabhängig vom Licht. In den Zuckerlösungen dagegen sind überhaupt sämmtliche nach Plasmolyse noch eintretenden Lebensprozesse, wie Stärke- und Zellhautbildung, Wachstum, Theilung vom Licht anscheinend durchaus nothwendig bedingt. Obwohl die Protoplasten von *Zygnema* in 16—20 % R-Zucker monatelang im Dunkeln sich lebend erhalten, bleiben sie in ihrer Form und ihrem Bau unverändert, so wie sie gleich nach Eintritt der Plasmolyse sich gestaltet haben, abgesehen von der allmählichen Verzehrerung des Nährmaterials in ihnen. Schließlich, bei sehr langem Aufenthalt, machen sich pathologische Veränderungen bemerkbar, welche zum Tode führen; es scheint, dass eine gewisse stärkere Contraction sich vorher häufig zeigt, ohne dass aber genauere Angaben sich darüber gewinnen ließen. Allerdings giebt es Ausnahmefälle, in denen z. B. eine Zellhautbildung um den kugligen Protoplasten stattfindet. In reinen Zuckerculturen habe ich dieselbe sehr selten beobachtet, während dagegen in Zucker-Congoroth in jeder größeren Cultur von *Zygnema* C. eine Anzahl Protoplasten mit rother Zellhaut umgeben waren. Dabei muss abgesehen werden von der nicht seltenen Erscheinung in den Dunkelculturen, dass manche Protoplasten eine eigenthümliche, sehr unregelmäßig geformte und abstehende weiße, oft etwas körnige Hülle um sich ausscheiden, welche nicht aus Cellulose besteht, sondern möglicherweise von ausgeschiedenen verquollenen Gerbstoffbläschen herrührt (vergl. weiter unten S. 561). Man findet ferner auch Formveränderungen der Protoplasten, Abweichungen von der kugligen oder cylindrischen Gestalt, wie solche übrigens nach jeder Plasmolyse auftreten; es mögen auch hier und dort wirklich erste Anfänge von Längenwachstum sein, ohne dass sich Sicheres darüber entscheiden lässt. In allen Fällen bleibt der Unterschied zwischen einer sonst vollkommen gleich behandelten Lichtcultur und Dunkelcultur der Zygneten in

Zucker schon nach 8 Tagen ein in so hohem Grade auffallender, dass eine wesentliche Ursache ihm zu Grunde liegen muss.

Worauf beruht nun der mächtige Einfluss des Lichtes? Wir wissen, dass dasselbe in mannigfacher Weise die Lebensvorgänge der Pflanzen beeinflusst, dass vor allem dasselbe für die Ernährung der chlorophyllhaltigen Zellen nothwendig ist. Es liegt daher auch zunächst die Frage, ob Zellhautbildung und Wachstum plasmolytischer Zygmenen in irgend welcher Beziehung zu dem vom Licht angeregten Assimilationsprozess steht. In der That lehrten die Versuche, dass die Wachstumsvorgänge der Zygmenen im Zucker nur dann stattfinden, wenn dieselben assimiliren, und um so lebhafter, je stärker der Ernährungsprozess vor sich geht. In einem diffusen sehr schwachen Licht, in welchem Rapskeimlinge sich zwar noch heliotropisch krümmen, aber nicht zu assimiliren fähig sind und zu Grunde gehen, ist ein sehr langsames Wachstum der *Zygnema*-Protoplasten im Zucker noch möglich, aber, wie vorher entstärkte Fäden darlegten, auch eine schwache Assimilation. Der sicherste Weg, den Zusammenhang nachzuweisen, besteht darin, die Assimilation auszuschließen und dennoch Licht zu den Culturen dringen zu lassen. Die gewöhnliche Methode hierfür ¹⁾, die Cultur im kohlenstofffreien Raume, lieferte für die Zygmenen keine prägnanten Resultate. ²⁾ Besser gelang es auf die Weise, dass die Zuckerlösung (16 %) einen Zusatz von c. 0,006 Kalkhydrat erhielt, welcher, wie Vorversuche zeigten, unschädlich ist. und dass dann nur Luft zu dem Culturegefäß treten konnte, welche vorher durch ein Kalirohr gegangen war. In einer solchen am Licht gehaltenen Cultur entstärkten sich die plasmolytischen Zygmenen in 8 Tagen, ein deutlicher Beweis für den Mangel jedweder Assimilation. Im Zusammenhange damit blieben auch die Protoplasten unverändert contrahirt, bildeten auch keine Zellhaut. Bei längerer Cultur trat Zellhautbildung und Wachstum allerdings ein, deshalb weil, wie auch das Vorhandensein von Stärke bewies, Assimilation sich einstellte. Durch die Athmung der lebenden Zellen, den Zersetzungsprozess der abgestorbenen wird das Kalkhydrat mehr und mehr in kohlenstoffsauren Kalk umgewandelt, hieraus das saure Salz gebildet, aus welchem dann am Tage die Zygmenen einen Theil der Kohlensäure entziehen und in sich verarbeiten können,

1) Vergl. PFEFFER, Pflanzenphysiologie. I. S. 494.

2) Ebensowenig die Versuche, in welchen die Zuckerculturen unter sonst ganz gleichen Bedingungen unter blauer, rother und weißer Glocke gleichzeitig am Südfenster gehalten wurden. Der Unterschied bestand nur darin, dass der Wachstumsvorgang im weißen Licht am schnellsten, dann wenig langsamer im rothen Licht, am langsamsten im blauen Licht erfolgte; doch ließ sich Genaueres nicht daraus entnehmen, nur soviel feststellen, dass die Zygmenen in der Zuckerlösung im blauen Licht 3½ Monate aushielten, gewachsen waren und reichlich Stärke enthielten, ebenso wie die gleichaltrigen Culturen in reinem Wasser. Die Behauptung von FAMINTZIN, dass Spirogyren im blauen Licht nicht assimiliren, hat jedenfalls für *Zygnema* keine Richtigkeit. FAMINTZIN, Die Wirkung des Lichtes auf die Algen. PRINGSHEIM'S Jahrb. VI. S. 36.

während in der Nacht wieder Regeneration der sauren Verbindung statt hatte. Das allmähliche Schwinden der alkalischen Reaction wurde dadurch sehr sichtbar, dass die Zucker-Kalkcultur durch Phenolphthalein beim Beginn der Versuche intensiv roth gefärbt worden war, und diese Färbung mehr und mehr verblasste.

Dasselbe Resultat wurde erhalten in entsprechenden Versuchen, in denen statt des Kalkes Magnesiumoxyd angewandt wurde, welches seiner geringen Schädlichkeit wegen bis zur Sättigung in der Zuckercultur gelöst wurde. Auch hier fand in der ersten Woche bei einem solchen Versuche im Licht Entstärkung statt, und es zeigte sich der Mangel der Zellhautbildung und des deutlichen Längenwachstums. Noch schneller als beim Kalk beginnt aber die Assimilation, und bringt man zur Vermeidung derselben überschüssiges Magnesiumoxyd, das die jedesmal frei werdende Kohlensäure sofort bindet, in die Cultur, so tritt, wenn auch sehr langsam, eine Schädigung ein. Augenscheinlich muss Magnesiumoxyd etwas in die Zelle eindringen können, weil selbst in 20 % R-Zucker bei seiner Gegenwart, wenigstens bei vielen Protoplasten, die Plasmolyse vollständig zurückging. Solche Zellen können sich übrigens bis zu einem Monat in der betreffenden Cultur halten, ohne Stärkebildung zu zeigen. Die meisten Fäden gehen früher zu Grunde.

Aus den Versuchen ergibt sich so viel, dass bei den in Zucker cultivirten Zygnumen die Wachstumsvorgänge von der Assimilation abhängen. Nun ist es von vornherein klar, dass diese Abhängigkeit nicht an dem Ernährungsprozess bez. der Stärkebildung an und für sich liegen kann. Denn Nahrungsmaterial ist in den ins Dunkle gebrachten Zygnumen anfangs überreichlich vorhanden, wie auch die lange Lebensdauer unter solchen Umständen beweist. Überhaupt ist unter normalen Verhältnissen im Wasser sowohl Zellhautbildung und Wachstum wenigstens in der ersten Zeit vom Licht, speciell von der Assimilation, zweifellos unabhängig. Wenn also nach Plasmolyse in Zuckerlösung eine Abhängigkeit vom Licht sich bemerkbar macht, so kann das nur darin seinen Grund finden, dass infolge der Wasserentziehung in den Protoplasten gewisse Veränderungen hervorgerufen worden sind, die einen Stillstand des Wachstums herbeiführen, und dass dann infolge der Assimilation im Lichte diese Veränderungen wieder rückgängig gemacht werden, so dass der normale, für das Wachstum nothwendige Zustand wieder erreicht ist. Es fragt sich, worin diese Veränderungen bestehen? Denkbar wäre es, dass bei der Assimilation neben dem Kohlehydrat noch etwa specifische Stoffe erzeugt würden, welche infolge der Plasmolyse unwirksam geworden waren. An und für sich schon unwahrscheinlich, lässt diese Ansicht sich auch als unberechtigt erweisen. Man wird doch jedenfalls behaupten können, dass, wenn Zygnumen 8—10 Wochen plasmolysirt im Dunkeln gelebt haben, die fraglichen Stoffe vollständig zerstört sein müssten. Jetzt versucht man dieselben Zygnumen langsam wieder

an reines Wasser zu gewöhnen. Allerdings konnte es trotz aller Sorgfalt nicht vermieden werden, dass die meisten Protoplasten dabei zu Grunde gingen. Indessen blieb immerhin eine Anzahl lebendig, und dieselben bildeten bei dem sehr allmählichen Rückgang ihrer Plasmolyse in verdünnterer Zuckerlösung im Dunkeln nicht selten eine neue Zellhaut, bevor sie ihre alte erreicht hatten. Es liegt also augenscheinlich an dem Grade der Wasserentziehung, ob die Wachstumsvorgänge stattfinden oder nicht, und wir werden uns vorstellen müssen, dass durch die Assimilation die unmittelbare Folge der Plasmolyse, der Mangel an Wasser in dem Protoplasten, wieder gut gemacht wird. Ist diese Vorstellung richtig, so muss es auch — folgerte ich — möglich sein, diesen indirecten Einfluss des Lichtes durch andere Mittel zu ersetzen und die plasmolytischen Zygneten auch im Dunkeln zum Wachstum zu bringen. Unter dem Einfluss der SACHS-DE VRIES'schen Theorie vom Längenwachstum suchte ich meine Absicht dadurch zu erreichen, dass ich den Zuckerculturen die verschiedensten Stoffe zufügte in der Hoffnung, einen zu finden, der eindringt und den Zellsaft osmotisch wirksamer macht. Solche Versuche wurden z. B. angestellt mit 16 % R-Zucker und Asparagin (0,1 %), Lencin, Tyrosin (0,2 %), Quercitrin, salpeters. Strychnin, chlorsaurem Cocain, Coffein (0,05 %), weinsaurem Ammoniak (0,1 %), Chinasäure (0,1 %), Knor'scher Nährlösung (0,05 %), Eisenweinstein.

Ohne weiter hier auf den Einfluss dieser Substanzen einzugehen, will ich nur hervorheben, dass es mir gelang, in dem Eisenweinstein, welcher schon in früheren Arbeiten mir gute Dienste gethan hatte, den gesuchten Stoff zu finden. In 16 oder 20 % Rohrzucker mit 0,05—0,1 % des Eisenweinsteins verhielten sich die Zygneten in den ersten Wochen nicht anders, als in reinen Zuckerculturen, wenn auch eine größere Anzahl Zellen zu Grunde ging und sich schwarz färbte. Allmählich wurde es aber unzweifelhaft, dass die Protoplasten sich in die Länge streckten, mit einer meist sehr zarten Zellhaut umgaben und, was mir immer für das beweisendste galt, auch die schraubenförmige Drehung wie bei Lichtculturen zeigten. Die höchste Lebensdauer, welche überhaupt bisher bei Zygneten nach Abschluss des Lichtes beobachtet wurde, besaß eine kleine Anzahl Protoplasten in Zucker-Eisenweinstein, indem sie noch nach 5 Monaten lebten, frisch grün aussahen, Stärke besaßen und nicht einmal als Ruhezustände zu bezeichnen waren. Dabei war der betreffenden Cultur keine weitere Sorgfalt gewidmet; die Fäden waren die ersten 4 Monate unverändert in derselben Flüssigkeit geblieben. Es ist kaum zweifelhaft, dass es gelingen muss, bei geeigneter Ausarbeitung der Culturmethoden die chlorophyllhaltigen Zygneten überhaupt vom Licht vollständig zu entwöhnen und sie zu saprophytischer Lebensweise zu gewöhnen¹⁾.

1) Die ersten Versuche nach dieser Richtung, allerdings ohne bestimmten Erfolg,

Die Wirkung des Eisenweinsteins zu erklären ist eine sehr schwierige und vorläufig nicht gelöste Frage. Zu den Versuchen wurde der officinelle Eisenweinstein benutzt, dessen genaue chemische Natur¹⁾ noch nicht ganz klar ist, der aber wahrscheinlich weinsaures Eisenoxydalkalium ist. Sehr möglich ist es, dass seine Wirksamkeit erst dann zu Tage tritt, wenn seine Zersetzung erfolgt ist, welche im Licht sehr viel schneller als im Dunkeln, aber schließlich auch hier geschieht. Dabei spielen augenscheinlich die lebenden Zellen eine Rolle, weil krystallinische Ausscheidungen²⁾ an der Innenseite der Zellhaut, sogar in dieser selbst, bei den plasmolysirten Zygomen auftreten, in Lichtculturen in größerer Menge als im Dunkeln. Was für Stoffe aber entstehen, welche von denselben für das Wachsthum im Dunkeln thätig sind, bin ich nicht im Stande anzugeben.

Bezüglich der Frage nach der Art der Wirksamkeit des Eisenweinsteins könnte man annehmen, dass die Substanz in geringer Menge in den Protoplasten eindringt und hier auf unbekanntem Wege die durch die Wasserentziehung hervorgerufene Veränderung, sei es in den Imbibitionsverhältnissen des Cytoplasmas, sei es hinsichtlich der endosmotischen Kraft des Zellsaftes, wieder rückgängig macht. Indessen die Beobachtung, dass nach mehrmonatlichem Aufenthalt im Dunkeln die lebenden Protoplasten noch Stärke besitzen, führt auf eine andere Annahme hin, welche überhaupt für das ganze Problem der Stoffwanderung vielleicht noch von Bedeutung sein wird. Der Eisenweinstein könnte eine Veränderung in der Permeabilität des Cytoplasmas bez. seiner Hautschicht bewirken, insofern die vorher nicht diffusionsfähigen Stoffe in den Protoplasten gelangen können, also für unsern speciellen Fall der Zucker. DE VRIES³⁾ beobachtete an den isolirten Plasmavacuolen, dass nach Einwirkung von schädlichen Substanzen, z. B. Salzsäure, Ammoniak, Jod etc., die Vacuolenwände für andere vorher nicht eindringende Verbindungen, wie z. B. Salpeter, permeabel wurden. In diesen Versuchen handelt es sich nun ohne Zweifel, wie schon DE VRIES betont, um eine Giftwirkung, welche mit dem Tode endet, und bei Anwendung des hier interessirenden Zuckers ist aus näher bei DE VRIES ausgeführten Gründen sogar eine Zunahme der Contraction beobachtet worden. Man könnte sich aber vorstellen, dass die pathologische Veränderung der Hautschicht zwar in ähnlicher Weise stattfindet, dass aber das Protoplasma nicht gleich abstirbt, sondern die eindringenden Substanzen noch verarbeiten kann. Auf diese Art erkläre ich mir die folgende Beobachtung. In

haben LOEW und BOKORNY angestellt; vergl. die Arbeit »Die chemischen Kraftquellen im lebenden Protoplasma«. 2. Aufl. 1882. S. 56.

1) BEILSTEIN, Organische Chemie. S. 637.

2) Besonders enorme Massen davon zeigten sich in Spirogyren- und *Cladophora*-Zellen bei ihrer Cultur in 20% R-Zucker und 0,4 Eisenweinstein im Dunkeln.

3) DE VRIES, Plasmolytische Studien. S. 566.

einer R-Zuckercultur (15%), welche im Dunkeln stand, waren nach 4 Wochen die Zygmenen entstärkt; nach 12 Wochen jedoch fanden sich eine ganze Anzahl Fäden, deren Protoplasten dicht voller Stärke waren. Hier musste Zucker eingedrungen sein, was auch daraus hervorging, dass an den betreffenden Zellen die Plasmolyse zurückgegangen war, übrigens ein klarer Beweis dafür, dass eine einfache Erhöhung des osmotischen Druckes im Zellsaft noch nicht nothwendig zum Wachsthum führt, wie es in Zucker-Eisenweinstein erfolgt war. Gegenüber allen anderen Versuchen mit reinen Zuckerlösungen musste bei jenen Zygmenen eine krankhafte Veränderung der Hautschicht angenommen werden, welche aber noch die Stärkebildung gestattete. In kurzer Zeit ging die ganze Cultur überhaupt zu Grunde. Die mitgetheilte Beobachtung in Verbindung mit der über den Einfluss des Eisenweinsteins veranlasste nun eine Untersuchung der angeregten Frage, ob es nicht möglich ist, den Eintritt von Zucker in den Protoplasten durch gewisse Substanzen zu bewirken und dabei das Leben selbst ungeschädigt zu erhalten. Zu den Versuchen wurden entstärkte Zygmenen benutzt. So wurde festgestellt, dass dieselben in 20% R-Zucker und 0,4 Eisenweinstein in der That Stärke bildeten, während in reiner Zuckerlösung, ebenso in 0,4 Eisenweinstein dasselbe nicht geschah. Ferner wurde beobachtet, dass entstärkte Zygmenen in 20% R-Zucker und 0,05 Knop'scher Nährlösung (außerdem 0,05 chromsaures Kali) eine große Anzahl Protoplasten viel Stärke erzeugten und auch Wachsthumerscheinungen darboten. Diese Versuche sind noch nicht abgeschlossen, und die gewonnenen Resultate entbehren der wünschenswerthen Sicherheit. Denn es zeigte sich hierbei eine so große Verschiedenheit bei den einzelnen Versuchen, in demselben Versuche bei den einzelnen Fäden, dass man nur sagen darf, es kann Zucker mit Hilfe anderer Stoffe in die Zellen eintreten, aber zugleich hängt der Eintritt noch von anderen unbekanntem Verhältnissen ab. Die Zygmenen sind für die Entscheidung dieser Frage wohl nicht das beste Object; sie entstärken sich langsam, so dass man sie 10—12 Tage im Dunkeln halten muss. Dadurch werden sie kränklich und empfindlich und gehen leicht zu Grunde. Diese Verschiedenheit der Fäden war auch in dem Verhalten dem Glycerin gegenüber sehr merkbar. Bisher geht ausnahmslos diese Substanz in die Zellen, wie der Rückgang der Plasmolyse beweist. Zweifellos sind die Fäden fähig, aus dem Glycerin Stärke zu bilden, und trotzdem findet man in einem Versuch mit entstärkten Zygmenen in 5% Glycerin nach 5 Wochen im Dunkeln neben Fäden mit riesigen Stärkemassen eine große Anzahl ohne Spuren davon. Ebenso war es in Versuchen mit Eisenweinstein, Knop'scher Nährlösung, und in einem Versuch mit entstärkten Zygmenen in 10% R-Zucker und 0,05 Nährlösung habe ich nach einem Monat noch keine Neubildung von Stärke gesehen. Es muss also weiteren Untersuchungen überlassen werden, nachzuweisen, in welchem Umfang die Beeinflussung der Permeabilität des lebenden Plasmakörpers durch gewisse

Substanzen möglich ist, und welche Bedeutung dieser Vorgang für die Prozesse des Stoffwechsels und der Stoffwanderung gewinnen wird.

Diejenige Frage, von der wir ausgingen, wovon es herrührt, dass *Zygnema C.* nach Plasmolyse vorzugsweise nur im Licht, nicht im Dunkeln Wachstumserscheinungen zeigt, lässt sich nun dahin beantworten, dass infolge der Assimilation, vielleicht mit Hülfe der dabei entstehenden Glycose¹⁾, der durch die Plasmolyse hervorgerufene Wasserverlust wieder ersetzt wird und dadurch ein normaler Zustand in dem Protoplasten wiederhergestellt wird, welcher für das Wachstum nothwendig ist. Denselben Einfluss wie der Assimilationsprozess hat verdünnter Eisenweinstein. Sicher entscheiden lässt es sich dagegen nicht, ob im Cytoplasma oder im Zellsaft der Wasserverlust bez. der Wasserersatz die Hauptrolle spielt. Der Zellsaft allein kann aus mehrfach angegebenen Gründen nicht dabei betheilt sein; wir werden am einfachsten annehmen, dass gleichzeitig beide Theile des Protoplasten in Mitleidenschaft gezogen werden.

Während *Mesocarpus* und *Spirogyra*-Arten nach wenigen Versuchen sich wie *Zygnema C.* verhalten, sind andere unabhängiger vom Licht, d. h. der Wasserentziehung. Schon eine schmale, leicht contrahirbare *Zygnema* (D.) bildete im Dunkeln in 10 % R-Zucker reichlich neue Zellhaut. Ebenso entstand im Licht wie im Dunkeln die Zellhaut um die plasmolytischen Zellen von *Cladophora*, von Prothallien, *Funaria*, *Elodea*; während ein Wachstum nicht beobachtet wurde, was aber nur für *Cladophora* allein bemerkenswerth ist, da die andern Pflanzen plasmolytisch überhaupt nicht wachsen.

Eine mittlere Stellung nehmen die *Oedogonium*-Arten ein. Einige derselben bilden im Dunkeln ebenso wie im Licht die neue Zellhaut, andere nur im Licht. Am eigenartigsten verhielt sich eine leider nicht bestimmte Art, bei welcher in 10 % Glycose im Dunkeln die meisten Protoplasten keine Zellhaut erzeugten, mit Ausnahme solcher, welche vorher in Schwärmsporen sich umwandelten. Dieser Prozess geht anscheinend in derselben Weise vor sich, wie bei normalen Zellen. Der plasmolytische Plasmakörper contrahirt sich noch ein wenig stärker, wird dunkelgrün, bildet einen farblosen, lichtbrechenden Mundfleck, der sich schuabelförmig verlängert, und an dem der wohl ausgebildete Cilienkranz sitzt. Indessen vermag die Schwärmspore in der Glycose nicht aus dem Zellraum her auszutreten, sie begnügt sich, eine Zeit lang sehr langsam auf der Stelle ein wenig hin und her zu schwanken und kommt bald zur Ruhe. Dabei stößt sie ihren Cilienkranz ab, der noch lange erhalten bleibt²⁾, umhüllt sich mit

1) Dass die Glycose höchst wahrscheinlich überall im Pflanzenreich bei der Assimilation entsteht und aus ihr erst die Stärke, darauf hat SCHUMPER hingewiesen; vergl. Bot. Zeitg. 1885. S. 787.

2) Bei *Vaucheria*-Schwärmsporen sollen nach STRASBURGER die Cilien eingezogen werden; Zellbildung und Zelltheilung. 8. Aufl. S. 87.

einer Zellhaut und treibt auch an der Basis rhizoidähnliche Auswüchse. Ein weiteres Längenwachsthum trat aber nicht ein; vielmehr contrahirte sich die Zelle und bildete dementsprechend mehrere ineinander geschachtelte Zellhäute.

Nach der Darlegung der Erscheinungen, welche dieselben Zellen in den Zuckerlösungen bei sonst wechselnden äußeren Verhältnissen, andererseits verschiedene Pflanzenzellen bei den gleichen Umständen darbieten, erscheint es nothwendig, noch einen Blick auf den Einfluss der Zuckerlösung selbst zu werfen. Es wurde schon darauf hingewiesen, dass durch die Wasserentziehung von Seiten des Zuckers der Stoffwechselprozess, der osmotische Austausch zwischen Zellinnerem und Außenmedium, verlangsamt wird, dass jedoch dieses Moment wohl nicht allein genügt, den günstigen Einfluss der Zuckerlösung zu erklären, welcher selbst bei geringer Concentration von ihr ausgeübt wird, was schon von anderen Forschern¹⁾ mehrfach benutzt worden ist. Der andere Gedanke, dass der Zucker zugleich als Nahrungsmaterial dient, konnte bisher nicht für normale Fälle sicher festgestellt werden, wenn auch die Annahme, dass trotzdem Zucker, wenn auch in äußerst geringer Menge, von der Zelle aufgenommen wird, nicht unwahrscheinlich ist. Vielleicht ließe sich die Frage auf einem andern Wege entscheiden, indem man nämlich sehr differente chemische Substanzen als äußeres Medium für die Pflanzenzellen anwendet. Meine eigenen Erfahrungen sind noch zu wenig ausgedehnt, um ein bestimmtes Urtheil zu gestatten. Am häufigsten wurde Rohrzucker und Glycose benutzt, beide wesentlich gleich wirkend mit kleinen Unterschieden (S. 519); im allgemeinen treten nach Plasmolyse die Wachsthumsvorgänge in Glycose etwas rascher und lebhafter ein, als im Rohrzucker, andererseits gehen in ersterer die Culturen leichter zu Grunde als in letzterem. Wie Rohrzucker verhalten sich Milchzucker (15 %) und Mannit (12 %); in beiden wurde Zellhautbildung und Wachsthum der contrahirten *Zygnema*-Protoplasten festgestellt. Von anderen organischen Stoffen ist nur noch Glycocoll (12 %) versucht, in welchem die Zygmenen, stark plasmolytisch, sich 3—4 Wochen am Licht lebend erhielten, aber weder Zellhäute bildeten, noch wuchsen. In Substanzen wie 20 % arabischem Gummi leben die Zygmenen beliebig lange, ohne überhaupt plasmolytisch zu werden. In allen Versuchen mit Salpeter, Chlornatrium gehen nach wenigen Tagen die Zygmenen zu Grunde, und das Gleiche hat auch DE VRIES bei seinen zahlreichen Versuchen beobachtet.

1) Vergl. z. B. STRASBURGER, Zellbildung und Zelltheilung. S. 101, 110; LUNDSTRÖM, Zelltheilung an lebendem Material. Just, Jahresbericht. 1880. VIII, 1. S. 48. Eine noch nicht gelöste Frage ist auch die Bedeutung der Zuckerlösung für das Wachsthum der Pollenschläuche, welche je nach der Pflanzenspecies eine so sehr verschiedene Concentration nöthig haben; STRASBURGER, Botanisches Practicum. 1884. S. 514.

Aus diesen, wenn auch spärlichen Thatsachen scheint hervorzugehen, dass nur in solchen Substanzen, welche zugleich einen Nährwerth besitzen, nach Plasmolyse die Wachsthumsvorgänge möglich sind, obwohl besonders in Lichtculturen derselbe eigentlich keine große Bedeutung haben kann. Möglicherweise spielen ganz andere noch unbekannte Einwirkungen des äußeren Mediums eine Rolle.

In jedem Falle beruht die wesentlichste Wirkung der Zuckerlösung auf der Wasserentziehung des Cytoplasmakörpers. Dieser Eingriff ist ein verhältnismäßig sehr einfacher Prozess, von dem es aber ohne weiteres zu erwarten ist, dass seine Folgen verschieden sein werden, je nach dem Grade, in welchem er erfolgt. Wenn wir das Verhalten einer einzigen Form, wie der *Zygnema C.* ins Auge fassen, so sehen wir, dass, je nach der wechselnden Höhe der Concentration der Zuckerlösung, nicht bloß die Intensität der gesammten Lebenserscheinungen einer Zelle eine ungleiche ist, sondern dass auch die einzelnen Lebensfunctionen für sich durch denselben Grad der Concentration in verschiedenem Maße beeinflusst werden. Die allgemeinste, so zu sagen von äußeren Bedingungen unabhängigste Lebensfunction ist die Athmung, von der wir annehmen müssen, wenigstens es zu thun pflegen, dass sie stattfindet, so lange überhaupt noch Merkmale des Lebens vorhanden sind. So wird sie, wenn auch nur äußerst schwach, in jenen *Zygnema*-Zellen sich abspielen, welche 3—4 Tage in 50 % Rohrucker sich noch lebend erhalten. Diejenige Function, welche in Bezug auf die Unabhängigkeit von der Concentration am nächsten der Athmung steht, ist die Stärkebildung, resp. die Assimilation, welche an ersterer allein bemessen wurde. Noch in 40 % R-Zucker muss dieselbe stattfinden, weil *Zygnemen*, die vorher in 20, dann in 40 % gebracht wurden, im Licht besonders massenhaft große Stärkekörner bildeten. Im Übrigen waren die Protoplasten vielfach eigenartig geformt, sie folgten nicht mehr dem Abrundungsstreben halbflüssiger Plasmamassen, sondern sahen aus wie erstarrte Amöben, welche aber unzweifelhaft lebend waren, wie das Aussehen der Gerbstoffbläschen, und die Fähigkeit, bei stärkerer Salzlösung sich noch etwas zu contrahiren, bewiesen. Erst bei 30 % R-Zucker treten deutliche Anfänge von Zellhautbildung und auch von Längenwachsthum auf. Bisher haben sich bei *Zygnema C.* diese beiden Functionen nicht sehr scharf trennen lassen, denn bei den einen Zellen ist die Zellhautbildung das erste, bei den anderen das Wachsthum. Doch fehlen speciellere Versuche, welche vielleicht auch zwischen den beiden Functionen eine verschiedene Abhängigkeit von der Wasserentziehung nachweisen. Bei 20 % schien mir die Zellhautbildung stets dem Wachsthum voranzugehen. Je mehr wir von 30 % zu geringeren Concentrationen herabgehen, desto lebhafter wird die Intensität aller der genannten Lebensprozesse sein. Erst bei 46 % finden sich, wenn auch sehr spärlich, die ersten Spuren der Theilung, welche bei 40 % schon häufiger, aber jedenfalls diejenige Function ist, welche am abhängigsten von

Concentration des äußeren Mediums sowie von anderen äußeren Bedingungen, wie z. B. dem Licht etc. erscheint. So entfaltet sich das Bild einer Stufenleiter der verschiedenen Lebensfunctionen, wenn wir sie ordnen nach ihrer Abhängigkeit von dem Grade der Wasserentziehung bez. des Wassergehaltes des Cytoplasmas. Während alle Versuche, morphologisch gesonderte Glieder in demselben zu erkennen, abgesehen von den Kern- und Chlorophyllkörpern, gescheitert sind, so können wir jetzt doch die physiologische Einheit, als welche eine lebende Zelle uns entgegentritt, zerlegen in die sie zusammensetzenden Theile, die einzelnen von einander gleichsam loslösen, und wir können einen Blick in das Räderwerk des Zellorganismus thun, dessen geheimste Triebfedern uns wohl noch lange verschlossen bleiben werden. Vergleichen wir nun die verschiedenartigsten Pflanzenzellen in ihrem Verhältnis zu einem ungefähr gleichen Grade der Concentration der Zuckerlösung, z. B. zu 20 %, so erhalten wir in gewisser Weise ein gleiches Resultat, d. h. es gelingt, die einzelnen Lebensfunctionen dadurch zu trennen, dass die Zellen je nach ihren Speciescharakteren nur die einen Functionen zeigen, die anderen dagegen nicht.

Eine Zelle aus dem Fruchtfleisch von *Symphoricarpus* lebt mehrere Wochen in der Zuckerlösung plasmolysirt, ohne weitere Veränderung als dass gewisse Stoffwechselprozesse, vorzugsweise Athmung, in ihr vor sich gehen. Eine Zelle eines *Vallisneria*-Blattes zeigt neben der Athmung im plasmolytischen Zustand auch Assimilation und Stärkebildung. Zu diesen Functionen tritt Zellhautbildung bei den Blattzellen von *Elodea*, von *Funaria*, es kommt hinzu Längenwachsthum bei *Zygnema*, schließlich Theilung bei *Mesocarpus*, bei *Cladophora*, ja bei letzteren auch Zweigbildung, während bei *Oedogonium* zwar kein Wachsthum, aber Theilung und Schwärmsporenbildung sich ereignen kann. Zugleich scheint aus dieser Mannigfaltigkeit in dem Verhalten der Pflanzenarten die allgemeine Regel hervorzugehen, dass, eine je höhere Stelle dieselben im Entwicklungsgange des Pflanzenreiches einnehmen, um so mehr die nach der Plasmolyse sich noch abspielenden Lebensfunctionen sich verringern, bis vielleicht bei den höchsten Pflanzen nur die Athmung übrig bleibt. Die Reihenfolge, in welcher die Functionen nach einander schwinden, entspricht im wesentlichen jener Reihenfolge, in welcher sie bei derselben Pflanze wie *Zygnema* mit Zunahme der Wasserentziehung ebenfalls schwinden. Bei den niedrigen Pflanzen sind die einzelnen Functionen der Zelle schärfer von einander geschieden und gesondert, man kann sogar von einem gewissen Standpunkt aus sagen, dass sie sehr hoch organisirt sind, wenn man die Höhe nach dem Maßstabe der Gliederung bemisst. Je höher wir im Pflanzensystem uns erheben, desto inniger wird der Zusammenhang aller Functionen, ebenso wie derjenige aller Zellen ein und derselben Pflanze; das Einzelne verliert an Individualität, um einem höheren Ganzen zu dienen.

Das bisher vorliegende Beobachtungsmaterial ist noch ein zu spärliches, um auf diese Betrachtungen, so verlockend es auch erscheint, sich ihnen hinzugeben, schon näher einzugehen. Es sollte hiermit nur der Hinweis gemacht werden, dass ein großes Gebiet für weitere Untersuchungen sich eröffnet. Denn es wird sich nicht bloß darum handeln, möglichst verschiedene Pflanzen auf ihr Verhalten nach Eintritt der Plasmolyse und nach dem Grade derselben zu prüfen, sondern, was wichtiger ist, die Ursachen aufzudecken, warum bei derselben Pflanze die eine Function möglich, die andere es nicht ist, und experimentell die Bedingungen herzustellen, mit welchen die Pflanzenzellen gezwungen werden, auch die anscheinend nicht möglichen Functionen zur Ausführung zu bringen.

IV. Über den Einfluss des Kernes in der Zelle. ¹⁾

Die moderne Histologie in Botanik und Zoologie hat sich mit sehr großem Eifer der Erforschung des Zellkernes gewidmet, und zahllose Arbeiten sind darüber erschienen. Als das Hauptergebnis dieser Forschungen können wir die Thatsache ansehen, dass abgesehen von einigen niederen Organismen überall in den pflanzlichen und thierischen Zellen mindestens ein Zellkern vorhanden ist, und ferner, dass dieser bei der Theilung bestimmte, wesentlich gleich verlaufende Formveränderungen durchmacht. Zugleich hat sich die durch zahlreiche Beobachtungen gestützte Anschauung entwickelt, sogar schon als eine Art Dogma geltend gemacht, dass der Kern niemals durch Neubildung, sondern nur durch Theilung eines schon vorhandenen Mutterkernes hervorgehe. ²⁾

Die Frage dagegen nach der physiologischen Function des Kernes ist völlig ungelöst, überhaupt kaum in Angriff genommen, und nur unbestimmte Vermuthungen sind aufgestellt worden. Auch die neueren Untersuchungen über die bedeutungsvolle Rolle des Zellkernes für die geschlechtliche Befruchtung im Thier- und Pflanzenreich haben mehr zu geistreichen anregenden Speculationen, als zu einer wirklichen Aufklärung geführt, und die letztere ist nur möglich auf physiologischem Wege. Den ersten Anfang zu einer experimentellen Behandlung der Frage haben die

1) Dieses Capitel ist in wenig veränderter Form bereits im Biologischen Centralblatt 1887 erschienen.

2) HENKING hat von zoologischer Seite sich gegen die Gültigkeit dieses Dogmas gewendet und behauptet, dass eine Neubildung von Kernen besonders bei thierischen Eiern eine allgemeinere Erscheinung sei. Indessen kann die von ihm angewandte Methode nie einen direkten unwiderleglichen Beweis liefern, und ein solcher wäre doch gegenüber so zahlreichen Beobachtungen über die Theilung des Kernes zum Sturze des Dogmas nothwendig. HENKING, Untersuchungen über die Entwicklung der Phalangiden. Zeitschr. f. wiss. Zoolog. XLV. 1886.

Zoologen NUSSBAUM¹⁾ und gleich darauf GRUBER²⁾ gemacht, indem sie künstliche Theilungsversuche bei Infusorien anstellten. Ihre Beobachtungen stimmen der Hauptsache nach darin überein, dass nur diejenigen Theilstücke der Infusorienzelle, welche einen Kern oder wenigstens ein Stück eines solchen besitzen, fähig sind, sich zu einer normalen Zelle zu regenerieren, während die kernlosen Stücke das nicht vermögen, wohl sich noch bewegen können, aber nach wenigen Tagen zu Grunde gehen. Schon früher hatte GRUBER übrigens eine Mittheilung gemacht, welche die Rolle des Kernes viel weniger bedeutungsvoll erscheinen ließ, insofern aus derselben hervorging, dass kernlose Exemplare von *Actinophrys Sol* vorkommen, welche trotz des Kernmangels sich bewegen, ernähren, sogar wachsen. Eine ausführlichere Bestätigung dieser sehr auffallenden Beobachtung würde wohl nicht unerwünscht sein.³⁾

Auf botanischem Gebiete liegt nur eine kurze Notiz von SCHMITZ⁴⁾ vor, welche angiebt, dass diejenigen herausgedrückten Plasmaballen von *Valonia* und *Siphonocladus*, welche eine Zellhaut gebildet hatten, mindestens einen Kern besaßen, während die kernlosen Stücke stets zu Grunde gingen. So günstig die Siphoneen, speciell die *Vaucheria*-Arten wegen ihrer großen Regenerationsfähigkeit für künstliche Theilungsversuche sind, so bietet für die Frage nach der Rolle des Kernes sich die große Schwierigkeit dar wegen der außerordentlichen Kleinheit derselben, infolge dessen ein negativer Befund keinen sicheren Schluss erlaubt. Nach dieser Hinsicht erwiesen sich Zygnoemen und Spirogyren als ausgezeichnete Objekte, weil der Kern ganz leicht jeden Augenblick sichtbar gemacht werden kann, und derselbe überdies in der Zelle nur in der Einzahl vorhanden ist. Bei *Zygnema*-Arten ist es mir bisher nie gelungen, in einer Zelle mehr als einen Kern zu beobachten, selbst in jenen nicht, welche in 5 % Glycerin oder 6 % R-Zucker eine anormale Länge erreicht hatten, während Zellen von *Spirogyra orthospira* nicht selten 2 Kerne enthalten⁵⁾. Unter dem Faden-

1) NUSSBAUM, Über spontane und künstliche Theilung. Sitzber. d. Niederrhein. Ges. Bonn 1884; ausführlicher in: Über die Theilbarkeit der lebendigen Materie. Archiv f. mikrosk. Anat. XXVI. 1886.

2) GRUBER, Über künstliche Theilung bei Infusorien. I. Biolog. Centralblatt. IV. 1885; II. ebenda. V. 1886; id. Zur Physiologie und Biologie der Protozoen. Ber. d. naturf. Gesellsch. Freiburg. I, 2. 1886.

3) GRUBER, Über die Einflusslosigkeit des Kernes auf die Bewegung, die Ernährung und das Wachsthum einzelliger Thiere. Biolog. Centralblatt. III. S. 584. Die Behauptung GRUBER'S, dass das kernlose Individuum auch wächst, ist nicht direct nachgewiesen, sondern nur aus dem Dasein eines einzigen auffallend großen kernlosen Stückes erschlossen worden, und das genügt wohl nicht für eine so wichtige Behauptung.

4) SCHMITZ, Beobachtungen über die vielkernigen Zellen der Siphonocladaceen. Festschrift. Halle 1879. S. 305.

5) Schon NÄGELI hat an dieser Art bisweilen 2 Zellkerne in einer Zelle beobachtet, in: NÄGELI und CRAMER, Pflanzenphysiol. Unters. I. 1885. S. 43.

gemenge von *Zygnema* C. an einer einzigen Localität fanden sich besonders langgestreckte schmalere Fäden, die vielleicht eine besondere Art vorstellen, und eben solche zeigten sich bei einer selbständigen Form, welche der *Zygnema* C. sehr nahe stand, deren Fäden aber viel schmaler und länger waren und durch eigenthümliche, von sehr dicken Querwänden herrührende Zellstoffringe von Strecke zu Strecke unterbrochen waren; ich will sie als *Zygnema* C.¹ kurz bezeichnen. Bei diesen Zygnemen geschah es nun häufig, dass infolge der Wasserentziehung in concentrirter Zuckerlösung (16—20 %) der lang cylindrische Protoplast in zwei Hälften zerfiel, eine schon häufiger bei anderen Zellen beschriebene Erscheinung, welche BERTHOLD¹⁾ treffend erklärt hat. Diese Hälften (vgl. Taf. VI, Fig. 32) sind anscheinend an Größe und Aussehen einander vollkommen gleich und zeigen nur den bedeutungsvollen Unterschied, dass die eine Hälfte den einzigen Zellkern, die andere keinen solchen besitzt. In dem weiteren Verhalten der Zygnemen, welche in den Zuckerculturen am Licht standen, ergab sich sehr bald eine vollständig durchgreifende Verschiedenheit beider Zellhälften. Das kernhaltige Stück umgab sich mit neuer Zellhaut, theilte seinen Chlorophyllkörper, und fing dann auch an, in die Länge zu wachsen, und nahm bisweilen dabei eine spiralige Form an (Taf. VI, Fig. 26). Allerdings ist das Wachsthum nicht ein so ausgiebiges wie das der ungetheilten Protoplasten; bisweilen hörte es bald ganz auf, und das Protoplasma contrahirte sich successive und bildete theils ringsum, theils an bevorzugten Stellen neue Zellwandschichten (Taf. V, Fig. 12 n).

Diese Beobachtungen stimmen also in ihrem Resultat mit den von NUSSBAUM und GRUBER gemachten darin überein, dass ein kernhaltiges Theilstück die ganze Zelle wieder herstellen kann. Wichtiger erscheint vorläufig für die Frage nach der Rolle des Kernes das Verhalten der kernlosen Zellstücke. Denn aus der Regeneration des kernhaltigen ergibt sich nichts weiter, als was sonst schon aus anderen Thatsachen erschlossen war, dass nämlich der Kern ein höchst wichtiges Glied des Zellorganismus ist; andererseits bleiben die Verhältnisse in der regenerirten Zelle so verwickelt und unauflöslich, dass wir nicht vorwärts dringen können. Die kernlosen Stücke müssen uns dagegen zeigen, welche Lebensfunktionen in jedem Falle von dem Zellkern unabhängig sind. Bei den bisherigen Versuchen mit Infusorien sind die kernlosen Stücke in wenigen Tagen zu Grunde gegangen. Bei den Zygnemen erhalten sich dieselben bis zu 6 Wochen lebendig. Es ist zweifellos, dass während dieser Zeit gewisse Stoffwechselprozesse vor sich gehen, vor allem Athmung. Am klarsten bewiesen wurde es durch zarte Spirogyren (wahrscheinlich *Weberi*), welche bei Plasmolyse in 3 — 6 Stücke zerfielen, die während des Aufenthalts im Dunkeln sich alle entstärkten, gleichviel ob sie einen Kern be-

1) BERTHOLD, Studien etc. S. 89.

saßen oder nicht. Vor allem bedeutungsvoll ist aber die Thatsache, dass die kernlosen Zellstücke fähig sind, im Licht zu assimiliren und Stärke zu bilden. Die vorher entstärkten Spirogyren, die durch Zucker plasmolytisch gemacht worden waren, wurden ans Licht gestellt. Selbst die kleinsten Theilstücke, welche von dem einzigen Chlorophyllband nur einen Fetzen miterhalten hatten, erfüllten sich im Licht mit Stärke. Es trat sogar eine bemerkenswerthe Correlationserscheinung auf, insofern die kernlosen Stücke sehr viel reichlicher Stärke bildeten als die von der gleichen Zelle abstammenden kernhaltigen Stücke. Bei den Zygnumen bestand schließlich die kernlose Zellhälfte fast ganz aus sehr großen Stärkekörnern, wie sie sich sonst bei den Zygnumen nur im Ruhezustande einfinden. Bei den Spirogyren wurde das ganze Chlorophyllband der kernlosen Hälfte dicht von Stärke durchlagert (Taf. VI, Fig. 9 o).

Diese Aufsammlung des Nährmaterials von Seiten der kernlosen Zellstücke ist von vornherein sehr verständlich, da dieselben außer für den geringen Bedarf, den die Erhaltung des Lebens, die Athmung fordert, in ihren sonstigen Lebensfunctionen sehr beschränkt sind. Denn bisher gelang es niemals nachzuweisen, dass die kernlosen Zellstücke eine Zellhaut um sich zu bilden fähig sind, weder bei *Zygnema*, noch *Spirogyra*, noch *Oedogonium*. Die Abhängigkeit der Zellhautbildung von dem Vorhandensein des Zellkernes ging auch sehr klar aus jenen Fällen hervor, in denen der Protoplast sich nicht vollständig in zwei Hälften trennte, diese vielmehr durch ein ganz schmales kurzes Verbindungsstück im Zusammenhange blieben. Sowie dasselbe vorhanden war, bildete sich um die kernlose Hälfte genau ebenso Zellhaut, wie um die kernhaltige, und beide wurden an dem Isthmus durch Zellhaut verbunden (Taf. VI, Fig. 7; die Zelle rechts, während die links liegende Zelle vollständig zertheilt war, und infolge dessen nur um die eine Hälfte sich Zellhaut ausgebildet hatte). Ebenso auffallend war dieselbe Erscheinung auch bei den Oedogonien zu sehen, bei welchen, wie früher bemerkt, anfänglich nach Eintritt der Plasmolyse Plasmablasen ausgestoßen wurden. Trennten sich dieselben gänzlich von dem Protoplasten, so erhielten sie sich wohl noch einige Zeit, gingen schließlich stets zu Grunde. Diejenigen, welche mit dem Plasmakörper in Verbindung blieben und sei es auch nur mit einem ganz engen Loche, umkleideten sich dagegen mit einer Zellhaut (Taf. VI, Fig. 37). Es konnte dann allerdings sich ereignen, dass bei der Anlage der nächsten Zellwandschicht von Seiten des Protoplasten das Loch verschlossen wurde, so dass die Blase isolirt und zu Grunde gerichtet wurde (Taf. VI, Fig. 34).

Wie die Zellhautbildung, so hängt auch das Wachsthum von dem Dasein des Kernes ab. Die kernlosen Zellstücke zeigten niemals eine Andeutung von Längenwachsthum, sondern blieben bei *Zygnema* vollständig kuglig, und wenn sie vielleicht ein wenig an Gesamtvolumen zuzunehmen schienen, so erklärt sich das wohl ausreichend durch das große in ihnen aufgespei-

eherte Stärkematerial. Wenn der Zuckerlösung Congoroth zugefügt worden war, so traten die geschilderten Unterschiede der kernlosen und kernhaltigen Zellhälften überraschend hervor, die ersteren kuglig, dunkelgrün, grobkörnig, nackt, die letzteren in die Länge gestreckt, hellgrün, mit rother Zellhaut umkleidet (Taf. V, Fig. 42). Bisher ist es nicht gelungen, die kernlosen Stücke länger als 4—6 Wochen am Licht lebend zu erhalten, aber es ist auch noch nicht speciell versucht worden. Die Ueberführung aus Zucker in reines Wasser gelang nicht, weil in diesem Falle das kernhaltige Stück so lebhaft zu wachsen begann, dass es die kernlose Schwesterhälfte, selbst wenn sie sich lebend erhielt, einfach zerdrückte.

Wenn man den Zellkern mit einem analogen Zellorgan von bekannter physiologischer Function, den Chlorophyllkörpern, vergleicht und beachtet, dass von den niedersten bis höchsten Pflanzenklassen die Function dieselbe bleibt, so wird man von vornherein der Ansicht zuneigen, dass auch der Kern überall ein und dieselbe Bedeutung im Leben der Zelle besitze. Indessen selbst bei meinen noch sehr eng begrenzten Beobachtungen bestätigte sich nicht diese Voraussetzung. Genauer geprüft wurden außer den genannten Algen die Blattzellen von *Funaria hygrometrica*. Die basalen Zellen des Moosblattes sind lang gestreckt, so dass der Protoplast bei Plasmolyse in 20—25 % R-Zucker in zwei, häufig sehr ungleich große Stücke zerfällt. Nur die kernhaltigen umgeben sich mit neuer Zellhaut, sie allein auch vermögen im Licht zu assimiliren und Stärke zu bilden. Die kernlosen Zellstücke sind dagegen nicht mehr dessen fähig. Vielmehr verathmen sie auch im Licht die in ihren Chlorophyllkörpern vor der Plasmolyse abgelagerte Stärke und werden ganz hellgrün, homogen, während der kernhaltige Schwestertheil sich mit den Stärkekörnern anfüllt (Taf. V, Fig. 43). Auch erscheinen die kernlosen Zellstücke in dem Cytoplasma etwas verändert, insofern dasselbe heller, durchsichtiger, freier an Körnchen geworden ist; im übrigen halten sie sich bis 6 Wochen lang vollständig lebend, und es wäre wohl möglich, dass doch eine schwache Assimilation stattfindet, welche nur zu keiner Stärkebildung führt. Das Vorhandensein bez. der Mangel des Kerns lässt sich leicht durch Reagentien, meistens schon durch Jod nachweisen.

Bei *Funaria* steht also auch die Stärkebildung in irgend einem Zusammenhange mit der Existenz des Zellkernes, und diese Thatsache stützt die von SCHIMPER¹⁾ für die höheren Pflanzen ausgesprochene Anschauung, dass die Chlorophyllkörper derselben eine engere Beziehung zu dem Zellkern haben. Bei dem Vergleich des Verhaltens von Zygneten, Spirogyren, andererseits von *Funaria* drängt sich der Gedanke auf, dass die bei den

1) SCHIMPER, Untersuchungen über die Chlorophyllkörper. PRINGSHEIM'S Jahrb. f. wiss. Bot. XVI. 1883. S. 206; SCH. beschränkt vorzugsweise diese Abhängigkeit der Stärkebildung vom Kern auf die nicht assimilirenden Zellen.

ersteren vorhandenen Pyrenoide die Wirkung des Zellkernes bei der letzteren Pflanze zu ersetzen fähig wären, so dass die von SCHMITZ¹⁾ erwähnte Ansicht, nach welcher eine gewisse chemische Analogie zwischen Pyrenoiden und Zellkernen herrsche, möglicherweise einen richtigen Gedanken enthält. Für die Entscheidung der Fragen müsste man andere Algen ohne Pyrenoide untersuchen, was bisher nicht geschehen ist; die zunächst liegende *Vaucheria* ist wegen des Mangels eines kenntlichen Assimilationsproduktes und der schwierigen Sichtbarkeit der Zellkerne kaum als Versuchsmaterial zu gebrauchen.

Aus den mitgetheilten Beobachtungen ergibt sich vorläufig nichts, was das Dunkel, welches über der physiologischen Rolle des Kerns schwebt, erhellt, da die bloße Thatsache, dass nur bei seiner Gegenwart das Ganze einer Zelle aus einem ihrer Theilstücke wieder hergestellt werden kann, dass ferner Zellhautbildung, Wachstum davon abhängig ist, nicht weiter zu erklären ist, da die verbindende Kette von Erscheinungen zwischen Kernthätigkeit und Cytoplasmathätigkeit unbekannt ist. Aus der relativ langen Lebensdauer der kernlosen Theilstücke, aus ihrer Fähigkeit, bei Zyg-nemen, Spirogyren zu assimiliren, Stärke zu bilden, folgt aber, dass jene in neuerer Zeit mehrfach aufgetauchte Meinung nicht allgemein richtig sein kann, dass der Kern den nothwendigen Mittelpunkt darstellt, von dem aus alle Lebensprozesse geleitet werden, wie von einem Gehirn aus. Der Kern wird eine ganz specifisch physiologische Function spielen, und dieselbe braucht nicht einmal in allen Zellen die gleiche zu sein, wie schon der Unterschied von Algen und dem Moose klar genug beweist.

Wenn die GRUBER'sche Beobachtung richtig ist, dass die kernlosen Individuen von *Actinophrys Sol.* selbst wachsthumsfähig sind, so offenbart sich auch in der Abhängigkeit der einzelnen Lebensfunctionen vom Kern wie in derjenigen von dem Grade der Wasserentziehung nach Plasmolyse eine immer enger werdende Verknüpfung aller Lebensprozesse, wenn wir von den niedrig organisirten Wesen zu den höheren heraufsteigen. Für die weitere Forschung wird es auch hier nöthig sein, solche künstliche Theilungsversuche an andern Pflanzenzellen zu machen, besonders bei den kernlosen Zellstücken den Einfluss des Kernes durch bekannte Bedingungen zu ersetzen und dadurch einen Einblick in seine Thätigkeit zu gewinnen.

1) SCHMITZ, Die Chromatophoren der Algen. 1882. S. 169; SCHIMPER l. c. S. 84 spricht sich gegen die Ansicht von SCHMITZ aus, dass die Pyrenoide in chemischer Beziehung der Chromatinsubstanz vergleichbar wären, und hat darin wohl Recht, weil wir von beiden noch sehr wenig wissen, um einen solchen Vergleich fruchtbringend zu machen.

V. Über Chlorophyllkörper und Gerbstoffbläschen.

Bei Gelegenheit der vorhergehenden Untersuchungen sind mehr beiläufig einige wenige Beobachtungen über die Chlorophyllkörper und die Gerbstoffbläschen gemacht worden, welche hier angefügt werden mögen.

Die Chlorophyllkörper sind durch die Arbeiten von SCHIMPER¹⁾, SCHMITZ, MEYER wieder in den Vordergrund des Interesses getreten, da sie sich als dem Kern analoge, selbständige Zellorgane erweisen, sich wie dieser durch Zweitheilung vermehren. Auf Bau und Function gehe ich nicht weiter ein, es soll nur auf einige Veränderungen aufmerksam gemacht werden, die an den Chlorophyllkörpern infolge bestimmter äußerer Verhältnisse bemerkbar werden. Im allgemeinen sind die beiden bekannten sternförmigen Chlorophyllkörper von *Zygnema* um so reicher und schöner ausgebildet, je lebhafter alle Lebensthätigkeiten im Gange sind, so besonders in 5% Glycerin, sei es im Licht, sei es im Dunkeln (vergl. S. 544). Hier sprossen zahllose grüne Strahlen nach allen Richtungen von dem Mittelstück ab, einzelne schwellen an der Spitze an zu rundlichen, bisweilen sternförmigen Stücken, welche selbständig neue Stärkeherde erzeugen²⁾. Je ungünstiger die äußeren Verhältnisse sind, um so compacter, weniger gegliedert erscheinen die Chlorophyllkörper; sie werden zu rundlichen dicken Massen in der ersten Zeit nach Plasmolyse und später wieder nach Aufhören der Wachstumserscheinungen in der Zuckerpflanzung. Schließlich kann jeder Chlorophyllkörper zu einer Kugel werden, welche größtentheils nur aus Stärke besteht, so z. B. in Cultur von R-Zucker und 0,05 chromsaurem Kali. Die größte Veränderung erleiden sie aber bei langsamer Verhungering nach Lichtabschluss; sie fließen schließlich beide zusammen zu einer dünnen peripherischen rundlichen Scheibe (Taf. VI, Fig. 22). Sehr starke Veränderungen gehen auch an den Spiralbändern von *Spirogyra orthospira*³⁾ vor sich, welche sich im Dunkeln sehr stark verkürzen zu ganz unregelmäßig geformten, fein runzlig aussehenden Klumpen, an welchen aber, soweit ich bisher gesehen, bis zum letzten Moment des Lebens durch Reagentien die Pyrenoide sich nachweisen lassen. Besondere Formveränderungen sind blasenförmige Anschwellungen, die vereinzelt bei den Chlorophyllkörpern von Zygmenen in Culturen von 0,4 saurem chromsaurem Kali, bei Spirogyren⁴⁾ in 10% R-Zucker und 0,05 KNOP'scher Nährlösung sich zeigen. Eine bemerkenswerthe Lageänderung

1) Vergl. die ausführliche Monographie von SCHIMPER, Untersuchungen über die Chlorophyllkörper. PRINGSHEIM's Jahrb. XVI. 1885.

2) SCHMITZ, Über die Chromatophoren. S. 74.

3) Vergl. darüber auch FAMINTZIN, Wirkung des Lichtes. PRINGSHEIM's Jahrb. Bd. VI. S. 39; LOEW und BOKORNY, Die Kraftquelle des Lebens. S. 64; PRINGSHEIM, Über Lichtwirkung und Chlorophyllfunction. PRINGSHEIM's Jahrb. XII. S. 357.

4) Ähnliche blasige Bildungen an den Chlorophyllbändern hat PRINGSHEIM beobachtet; l. c. S. 306. Taf. XXII, Fig. 4.

der Chlorophyllkörper bei *Zygnema* beobachtet man bei verschiedenen Culturen, z. B. in 10 % Glycerin, bei sehr langem Aufenthalt in 0,4 Congoroth. Die beiden Chlorophyllkörper wandern aus der Längsachse in die Diagonale der Zelle, den Kern mit sich ziehend.

In den Dunkelculturen von *Zygnema* erhält sich selbst nach 5 Monaten der Chlorophyllfarbstoff frisch, so lange überhaupt das Leben währt. Anders verhalten sich die scheibenförmigen Chlorophyllkörper von *Elodea canadensis*. Junge, etwas etiolirte Triebe wurden bei einer durchschnittlichen Temperatur von 28° im Dunkeln in Wasser cultivirt. Neben der sehr starken Verringerung des Protoplasmas war die auffälligste Erscheinung, dass die Chlorophyllkörper degenerirten, indem sie kleiner und kleiner wurden, ihre gelblichgrüne Farbe verloren und schließlich zu ganz kleinen rothen Pünktchen sich veränderten, welche gewöhnlich zu kleinen Häufchen in dem noch lebhaft bewegenden Plasma sich ansammelten. Der Kern solcher Zellen war anscheinend unverändert.

Eine ganz entsprechende Degeneration der Chlorophyllkörper wird in Zuckerlösung von 16—20 % erreicht mit Zusatz von 0,05 chromsaurem Kali bei gewöhnlicher Zimmertemperatur. Schon in den ersten Wochen der Cultur beginnt die Verkleinerung der grünen Scheiben und die Umwandlung ihrer Farbe, so dass auch hier die Chlorophyllkörper zu ganz kleinen rothen Partikelchen werden, welche meist noch ein Stärkekorn mit sich schleppen (vergl. Taf. V, Fig. 16, *a* normale Chlorophyllkörper, *b* degenerirte nach 6 Wochen der Cultur). Sonst ist die Zelle normal; sie hat eine neue zarte Zellhaut gebildet, besitzt reichliches, strömendes, körniges Protoplasma und einen durch seine Lichtbrechung auffallenden Kern, welcher in manchen Fällen unzweifelhaft anormal angeschwollen erscheint. Diese Veränderungen der plasmolytischen Blattzellen von *Elodea* gehen im Licht ebenso wie im Dunkeln vor sich, im ersteren höchstens etwas schneller.

Sehr ähnliche Vorgänge ereignen sich auch in den Blattzellen von *Funaria hygrometrica*, wenn sie in 20—25 % R-Zucker und 0,05 chromsaurem Kali cultivirt werden. Die normalen Blattzellen besitzen scheibenförmige Chlorophyllkörper und, um das hier gleich anzufügen, auch eine eigenartige Struktur des Protoplasmas, insofern stark lichtbrechende, in verschiedener Weise hin und her gebogene Plasmastränge den Zellsaft durchziehen, welche von den gewöhnlichen Plasmafäden wohl zu unterscheiden sind; sie bilden manchmal einen verwickelten Knäuel. In den Culturen mit Zucker-chromsaurem Kali gehen sehr bald Veränderungen in dem Protoplasma vor sich. Die Chlorophyllkörper verkleinern sich und werden zu kleinen röthlichen Punkten (vergl. Taf. VI, Fig. 29, Taf. V, Fig. 8), die Plasmastränge treten mit großer Schärfe hervor, entweder den Zellsaft durchsetzend und zu einem sehr regelmäßigen Netzwerk vereinigt (Taf. VI, Fig. 27), oder im peripherischen Plasma zu einem dichten Streifensystem zusammengedrängt. An den Strängen sitzen Körner, welche, je länger die

Cultur andauert, immer mehr und mehr an Zahl zunehmen und schließlich die ganze Zelle erfüllen, so dass sie ein tief bräunliches Aussehen gewinnt. Eine sehr häufige Erscheinung ist die intensiv rothbraune Färbung der Zellhaut, welche übrigens bei den verschiedenartigsten Culturen Platz greift.

Diese Umänderungen des Zellinhaltes bei *Funaria* sind die Folgen des Zusatzes des chromsauren Kalis, denn in reiner Zuckerlösung tritt vor allem die Degeneration der Chlorophyllkörper nach 8 Wochen nicht ein. Das Licht übt keinen Einfluss dabei aus. Wenn man nun solche *Funaria*-Blätter, deren Zellen stark reducirte Chlorophyllkörper besitzen, wieder allmählich an reines Wasser gewöhnt, so bleibt die größte Anzahl der Zellen lebend, an denen man gleichzeitig in demselben Blatt alle möglichen Grade der Rückbildung beobachten kann. In Zellen mit schon gelbroth gefärbten Chlorophyllkörpern wurden die letzteren wieder grün, und ohne zuvor ihre normale Größe erreicht zu haben, theilten sie sich, so dass der Unterschied gegenüber normalen Zellen noch immer ein sehr auffallender war, um so mehr, als auch das Plasma außerordentlich reich an Körnern war (Taf. V, Fig. 7). Dagegen in jenen Zellen, in denen die Chlorophyllkörper schon zu ganz kleinen rothen Pünktchen reducirt waren, habe ich bisher eine Regeneration ¹⁾ nicht mehr beobachtet; diese Zellen hielten sich jedoch, ebenso wie in Zuckerlösung, so auch in Wasser mehrere Wochen lebendig. Einzelne Zellen übrigens machen den geschilderten Degenerationsprozess in Zucker-Kalichromat nicht durch; die Chlorophyllkörper gestalten sich zu ölartig glänzenden grünen Kugeln. Besonders häufig, aber nicht ausnahmslos, trat eine solche Veränderung in den kernlosen Stücken hervor, während in den kernhaltigen derselben Zelle die Chlorophyllkörper roth und sehr klein geworden waren.

Die Beobachtungen bei *Elodea* und *Funaria* weisen darauf hin, dass es möglich ist, gewisse Zellen ihrer wichtigen Ernährungsorgane so gut wie vollständig zu berauben, ohne dass das Leben zunächst gefährdet erscheint. Es wird darauf ankommen, ausgedehntere Versuche anzustellen, um solche Zellen weiter lebensfähig und lebensthätig zu erhalten und so auf einem anderen Wege den schon früher angeregten Gedanken zur Ausführung zu bringen, die chlorophyllhaltigen Zellen zu saprophytischer Lebensweise zu zwingen.

Ein Zellbestandtheil, der speciell für einige Conjugaten, namentlich die *Zygnema*-Arten charakteristisch ist, besteht in den Gerbstoffbläschen, welche von PRINGSHEIM ²⁾ als solche für *Mesocarpus* erkannt, deren nähere Beschaffen-

1) PRINGSHEIM hat durch intensives Sonnenlicht in lebenden Zellen einzelne Chlorophyllkörper vollständig entfärbt und beobachtete keine Regeneration des Farbstoffes. Allerdings war aber wohl die Grundmasse dabei abgestorben; l. c. S. 347.

2) PRINGSHEIM l. c. S. 355; er nimmt eine direkte Erzeugung der Bläschen durch das Chlorophyllband an, was jedenfalls nicht bewiesen und überhaupt unwahrscheinlich ist.

heit von PFEFFER¹⁾ behandelt wurde. Nach den Untersuchungen des Letzteren finden sich in den Bläschen zweierlei Bestandtheile, Gerbstoff²⁾ und ein schleimartiger, möglicherweise auch eiweißartiger Stoff, auf dessen Eigenschaft wohl die Verquellungserscheinungen beruhen, welche bei dem Tode der Zelle sich einstellen. Bei den Zygneten sind solche Gerbstoffbläschen in sehr großer Menge vorhanden im peripherischen Plasmaschlauch rings um den Kern auf der ganzen Oberfläche der Chlorophyllkörper³⁾. Was für eine physiologische Bedeutung diese Bläschen besitzen, hat sich bisher leider nicht erkennen lassen. Schon PFEFFER beobachtete, dass sie jedenfalls in den Stoffwechsel nicht eingreifen, da sie sich im Dunkeln bis zuletzt erhalten. Jedoch scheint die Menge der Bläschen bei langsamer Verhungerung etwas abzunehmen; vor allem aber zeigt sich die charakteristische Erscheinung, dass sie sich immer in einzelnen Gruppen anordnen, welche weit von einander getrennt sind (Taf. VI, Fig. 22). Das auffälligste Verhalten der Gerbstoffbläschen besteht in ihrem Heraustreten aus dem Plasma bei Einwirkung äußerer Bedingungen. In meiner früheren Arbeit⁴⁾ habe ich darauf aufmerksam gemacht, dass bei Cultur der *Zygnema C.* in Eisenweinstein an der Innenseite der Zellhaut körnige schwarze Massen hervortreten. Ich möchte jetzt die damals ausgesprochene Meinung, dass der Eisenweinstein die Ursache der Ausscheidung ist, nicht als bewiesen ansehen deshalb, weil auch bei *Zygnema C.* wie bei *Spirogyra* aus unbekanntem Gründen solche Ausscheidung auch in gewöhnlichen Wasserculturen erfolgt. Dagegen ist es unzweifelhaft, dass durch die Einlagerung von Eisen-, Blei-, Aluminiumverbindungen in die Gallertscheide eine sehr vermehrte Ausscheidung bewirkt wird. Auch noch auf anderem Wege lässt sich eine solche veranlassen. Bei der Cultur von *Zygnema* in 12 % Glycocoll trat bei einer Anzahl der contrahirten und sich sonst nicht weiter verändernden Protoplasten eine massenhafte Auswanderung der Gerbstoffbläschen ein, so dass das Cytoplasma fast vollständig frei davon wurde und um dasselbe eine körnige, verquollene, schleimartige Hülle entstand. Hier folgte bald darauf der Tod des Protoplasten.

Ein ähnliches sehr intensives Austreten der Bläschen ohne direkt schädlichen Einfluss gelingt sehr häufig, wenn auch nicht ausnahmslos, bei *Zygnema C.* zu veranlassen. Die Zygneten, welche mehrere Wochen resp. Monate in 12 % Rohrzucker cultivirt waren, wurden sehr schnell aus ihrer Lösung an reines Wasser gewöhnt, oder auch direkt darin übertragen. In beiden Fällen erfolgte bei den zahlreichen Zellen, welche den Uebergang

1) PFEFFER, Über Aufnahme von Anilinfarben. Tübinger Unters. II. S. 235.

2) Über den Gerbstoffgehalt von Zygneten vergl. auch LOEW und BOKORNY, Die chemische Kraftquelle. S. 42; *Zygnema* enthält danach einen eisenbläuenden Gerbstoff und einen andern dem Morin nahestehenden.

3) PFEFFER l. c. Taf. II, Fig. 9, 10.

4) KLEBS l. c. Tübinger Unters. II. S. 372.

erlebten, die massenhafte Ausscheidung der Gerbstoffbläschen, welche zu einzelnen rothbraunen Klumpen sich an der Innenseite der neuen Zellhaut ansetzten (vergl. Taf. VI, Fig. 16 nach erneuter Plasmolyse). In Eisenweinstein wurden diese Klumpen ganz schwarz. Unzweifelhaft muss bei dem Heraustreten der Bläschen eine chemische Veränderung vor sich gehen, da sie in unlösliche Verbindungen übergeführt werden; doch ist nicht klar einzusehen, warum sie sich so fest der Zellhaut anlegen. Ebenso sind auch die inneren Ursachen unbekannt, infolge deren auf bestimmte äußere Einwirkung hin die Ausscheidung erfolgt, und nur Möglichkeiten lassen sich angeben. Diese Gerbstoffbläschen befinden sich in der peripherischen Schicht des Plasmas jedenfalls dicht an der äußeren Begrenzung der Hautschicht. Nun ist es eine sehr allgemeine Erscheinung, dass in den Zuckerculturen von *Zygnema* bei erneuter Plasmolyse, besonders in dem ersten nackten Stadium der Protoplasten, so häufig schon Gerbstoffbläschen rein mechanisch herausgepresst werden. So könnte ja auch eine kleine Contraction des Zellkörpers im normalen Zustand, z. B. bei Anlage einer neuen Zellhautschicht, eine locale Ausscheidung der Gerbstoffbläschen nach sich ziehen. Im Ganzen wird man aber immer das Austreten als eine pathologische Erscheinung auffassen, welche vielleicht damit zusammenhängt, dass überhaupt im kränklichen Zustand, besonders im Hungerstadium, einmal die Gerbstoffbläschen sich zu Gruppen ansammeln, ferner das Cytoplasma an der Zellhaut an gewissen Stellen sehr fest adhärirt. Dieses beobachtet man bei Plasmolyse stark ausgehungelter Zellen.

Früher ¹⁾ habe ich den Gedanken ausgesprochen, dass möglicherweise die Gerbstoffbläschen bei der Bildung der Gallertscheide betheiligt sind. Eine genügende Begründung kann ich dieser Ansicht nicht geben. Vielleicht spricht dafür die eigenartige schleimartige Hülle, welche in Zuckerculturen bei Lichtabschluss um viele Protoplasten von *Zygnema* beobachtet worden ist und welche große Ähnlichkeit mit der in Glycocoll so reichlich auftretenden Hülle besitzt. Der schleimartige Bestandtheil der Gerbstoffbläschen könnte die Hülle bilden, während der Gerbstoff weggelöst bez. in der Zellhaut fixirt wird. Doch sind das alles Vermuthungen, welche ich nur anführe, um späteren Untersuchungen eine gewisse Richtung anzugeben.

Zusammenfassung.

Die wichtigsten Ergebnisse der vorliegenden Abhandlung sind folgende.

Die Zellen verschiedenartigster Pflanzen sind fähig, nach Loslösung des Cytoplasmas von der Zellwand infolge Wasserentziehung durch 16—20 % R-Zucker neue Zellhaut zu bilden. Dies wurde beobachtet bei *Zygnema*-, *Spirogyra*-, *Mesocarpus*-, *Oedogonium*-, *Vaucheria*-Arten, bei *Chaetophora*,

2) KLEBS l. c. S. 372.

Stigeoclonium, *Cladophora*, bei den Blattzellen von *Funaria hygrometrica*, den Prothallien von *Gymnogramme spec.*, den Blättern von *Elodea canadensis*.

Die Neubildung der Zellhaut nach Plasmolyse zeigten bisher nicht die Desmidiaceen, Diatomeen, die Prothallien anderer Farne, z. B. von *Ceratopteris*, die Zellen von *Vallisneria spiralis*, *Lemna minor*, des Fruchtfleisches von *Symphoricarpus racemosa*.

Die nach Plasmolyse gebildete Zellhaut erscheint entweder als eine normale, dünne, scharf umgrenzte Haut, so bei *Funaria*, *Elodea*, oder als eine sehr weiche wasserreiche Masse, welche je nach den Umständen mehr oder weniger deutlich geschichtet ist, so besonders bei *Zygnema*. Zahlreiche Zellhautschichten entstehen auch bei *Oedogonium* und *Cladophora*.

Die erste Entstehung der Zellhaut verläuft bei den an geöffneten *Vaucheria*-Schläuchen hervortretenden Plasmamassen bei Gegenwart von 4 % R-Zucker und Congoroth in der Weise, dass eine allmählich sich ausbreitende Rothfärbung der peripherischen Schicht sich bemerkbar macht, bis eine deutliche Sonderung der rothen Zellhaut vom Plasma eintritt. Die Bildung derselben kann sehr ungleichmäßig an demselben Plasmaballen erfolgen. Stets bildet sich die neue Zellhaut nur um jenes Plasma, welches durch die Verwundung seine unmittelbare Berührung mit der alten Zellhaut verloren hat. Die Umwandlung von dünneren und dickeren Plasmafäden in Zellhautsubstanz, welche zwei von einander infolge der Verwundung sonst getrennte Plasmamassen verbinden, spricht sehr für die Hypothese von SCHMITZ und STRASBURGER, nach welcher die Zellhaut ein direktes Produkt der peripherischen Plasmaschicht ist.

Dieselbe, als sog. »Hautschicht« bezeichnet, kann kein selbständiges Organ vorstellen, vergleichbar dem Kern und den Chlorophyllkörpern, vor allem aber kein besonderes Zellhaut bildendes Organ, wie DE VRIES meint. Hautschicht und nach ihr Zellhaut entsteht um jeden beliebigen Plasmaballen, sowie nur die allgemeinen Bedingungen der Membranbildung erfüllt sind.

Die Frage nach dem Wachsthum der pflanzlichen Zellhaut, ob durch Apposition oder Intussusception, ist noch ungelöst. Am besten gestützt, in einigen Fällen bewiesen ist die Appositionslehre für das Dickenwachsthum.

Vaucheria mit ausgesprochenem Flächenwachsthum der Zellhaut an der Fadenspitze wächst in 40 % R-Zucker zweifellos durch Apposition neuer Zellhautkappen und Sprengung der nächst älteren. Solche Sprengungen lassen sich auch an in Wasser oder Luft wachsenden *Vaucheria*-Spitzen nachweisen, höchst wahrscheinlich geht das Wachsthum der Zellhaut in derselben Weise vor sich, nur dass die ganze Zellhautkappe stärker gedehnt wird.

Das Dickenwachsthum von *Zygnema* geht durch Apposition neuer Zellhautschichten vor sich. An schwarzen fixirten Marken an der Innenseite der jüngsten lässt sich die Auflagerung der nächsten bemerken und das

allmähliche Herausschieben der älteren nach außen. Bei Verhinderung des Flächenwachstums durch Cultur der Zygneten in Congoroth, das in der Zellwand sich einlagert, findet sehr lebhaftes Dickenwachstum statt. Die neuen, von der alten Zellwand verschiedenen, von ihr stets leicht zu trennenden Zellhautschichten sind durch Auflagerung entstanden.

Das Flächenwachstum bei *Zygnema* kommt neben der Anlagerung neuer Zellhautschichten durch eine passive Dehnung der älteren zu Stande, welche schließlich zu einer Sprengung derselben führt, die besonders in lebhaft wachsenden Culturen in 4—5 % Glycerin nachweisbar sind. Doch ist es nicht wahrscheinlich, dass die bloße Dehnfähigkeit der Zellhautschichten ausreicht, die bis zur Sprengung sehr starke Dehnung zu erklären. Zygneten, deren Protoplasten in Zuckerlösung neue Zellhäute gebildet hatten, wurden in Wasser übergeführt, wobei die Protoplasten sich ausdehnten und sich an die neue Zellhaut mehr oder weniger anlegten. Bei dem weiteren Wachstum zeigte sich die Dehnfähigkeit der alten Zellhaut als sehr gering; sie wurde stets sehr bald deutlich gesprengt, in manchen Fällen in der Weise, dass die Protoplasten den Fadenzusammenhang behielten, indem die Fetzen der alten Zellwand in Verbindung blieben mit der neuen, ein klar veranschaulichendes Beispiel, wie ein Längenwachstum eines Algenfadens durch Apposition neuer Zellwandschichten und Dehnung und Sprengung der alten erfolgen kann. Man ist schon bei den normalen Fäden von *Zygnema* gezwungen anzunehmen, dass das lebende Protoplasma einen Einfluss auf die Zellhaut in der Weise ausübt, dass dieselbe dehnfähiger wird. Dieser Einfluss tritt besonders bei *Cladophora* hervor, deren Protoplasten nach Plasmolyse neue Zellhaut bilden, durch Wachstum sie an die alte anlegen und, ohne dieselbe zu sprengen, bei der Zweigbildung sehr stark ausdehnen. Hier lässt sich direkt die dabei eintretende Veränderung der alten Zellhaut beobachten.

Neben der Zellhautbildung tritt nach Plasmolyse in Zuckerlösung auch Längenwachstum ein, aber nur bei gewissen Algen, wie *Zygnema*-, *Mesocarpus*-, *Spirogyra*-Arten, *Conferva* spec., *Cladophora fracta*. Kein Wachstum zeigen *Oedogonium*-Arten, Zellen von Farnprothallien, Blätter von *Funaria*, *Elodea*.

Bei *Zygnema* kann der erste Anfang des Längenwachstums, die Längsstreckung, vor sich gehen, bevor eine Zellhaut gebildet worden, bevor also ein deutlicher Turgor vorhanden ist. Der Mangel der Zellhaut lässt sich am besten erweisen in Zucker-Congoroth. Dabei wird es bemerkbar, dass an der Mitte der nicht wachsenden Seitenwände zuerst allein Zellhaut auftritt, während die wachsenden Enden frei davon sind. — Die in Zucker wachsenden Protoplasten nehmen mannigfache abnorme Gestaltungen an; besonders häufig ist eine schraubenförmig gedrehte Gestalt, die zum Theil darauf zurückzuführen ist, dass die Querwände des alten Zellraums der

Längsausdehnung Widerstand entgegensetzen, zum Theil also auf inneren Ursachen beruht, wie jene Fälle erweisen, wo ein solcher Widerstand nicht vorhanden ist.

Bei längerer Cultur der Zygmenen in 40 % Glycose sprengen die Protoplasten in verschiedener Weise die alte Zellhaut, wobei neben dem mechanischen Zuge auch eine chemische Veränderung derselben wirksam zu sein scheint. Nicht so häufig findet das Austreten bei Rohrzuckerculturen statt. Schließlich gehen alle Protoplasten in einen Ruhezustand über.

Wenn die Zygmenen aus dem Zucker in Wasser übergeführt werden, so beginnen sie lebhaft zu wachsen, sprengen die alte Zellhaut und wachsen zu Fäden heran, welche in ihrem Breitendurchmesser stets schmaler sind, als die Fäden, von denen die Cultur ausgegangen ist. Eine Theilung findet bei *Zygnema C.* in 46 % Zucker nur selten statt, häufiger bei 40 %, besonders bei einer schmalen Art. *Mesocarpus*-Arten theilen sich sehr leicht nach Plasmolyse in 40 % R-Zucker.

Bei Verhinderung des Längenwachsthums durch Einlagerung von Congo-roth kann es bei den in Zucker mit neuer Zellhaut umkleideten Protoplasten von Zygmenen vorkommen, dass dieselben sich ohne Kerntheilung in 7 oder mehrere Stücke durchschnüren und in dem Maße, wie die Einschnürung erfolgt, neue Zellhautschichten bilden.

Oedogonium-Arten zeigen nach Plasmolyse zwar kein Längenwachstum, wohl aber Theilung; dieselbe verläuft in vereinfachter Weise durch Bildung einer allmählich von der Peripherie nach innen vordringenden Querwand ohne Ringbildung. Nur bisweilen sind Andeutungen der letzteren vorhanden.

Geradezu lebhafter als im normalen Zustande theilen sich die in 20 % Zucker cultivirten Zellen von *Cladophora fracta*. Selbst ganz alte Zellen theilen sich und bilden neue Zweige.

Eine besondere Beförderung der Theilungsthätigkeit bei Verlangsamung des Wachstums machte sich bei *Euastrum verrucosum* bemerkbar in 40 % Rohrzucker. Die durch Theilung entstehenden Individuen theilten sich sofort weiter, bevor sie ausgewachsen waren, infolge dessen ganz abnorme Zellbildungen zu Stande kommen.

Bezüglich der Wachstumsursachen existirt bisher keine dieselben erklärende Theorie; die von SACHS-DE VRIES vertheidigte Auffassung über Bedeutung des Turgor beim Längenwachstum kann nicht aufrecht erhalten bleiben. Der Turgor ist überhaupt keine Ursache des Wachstums, sondern nur für den speciellen Fall der mit fester Zellwand umkleideten Pflanzenzelle eine wichtige Bedingung für dasselbe. Die Wachstumsursachen liegen in unbekanntem Verhältnissen des Protoplasmas. Die bloße Zunahme des endosmotischen Druckes im Zellsaft kann auch nur als eine und nicht als die wesentlichste Ursache angesehen werden.

Die Vorgänge der Zellhautbildung, des Wachstums von *Zygnema C.* nach Plasmolyse finden hauptsächlich nur dann statt, wenn die Zuckerculturen im Licht stehen. Im Dunkeln wachsen die Zygnumen unter den Umständen nicht, erhalten sich aber bis zu mehreren Monaten lebendig. Dabei sind sie gewöhnlich nicht fähig, den Zucker aufzunehmen und Stärke zu bilden.

Das Licht erscheint nothwendig, weil die Wachstumsvorgänge von der Assimilationsthätigkeit abhängen. Dabei ist die Bildung organischer Substanz zunächst an und für sich gleichgültig. Wesentlich ist, dass in Folge der Assimilation die durch Plasmolyse veränderten physikalischen Bedingungen besonders bezüglich des Wassergehaltes des Protoplasmas wieder in normaler Weise hergestellt werden.

Der Einfluss des Lichtes resp. der Assimilation lässt sich ersetzen durch den Zusatz von 0,05 — 0,4 Eisenweinstein. Dann geht auch im Dunkeln in den Zuckerculturen Zellhautbildung und Wachstum vor sich.

Dabei muss zugleich eine Zuckeraufnahme und Stärkebildung eintreten, und die Wirkung des Eisenweinsteins muss man sich so vorstellen, dass derselbe die Hautschicht des Protoplasmas für den Durchtritt von Zucker permeabler macht.

Glycerin ist eine Substanz, welche in lebende *Zygnema*-Zellen direkt eintritt. In 40 — 20 % findet anfangs Plasmolyse statt, welche aber durch allmähliche Aufnahme des Glycerins zurückgeht, bis der normale Zustand erreicht ist. In 5 % Glycerin bleiben die Zygnumen im Dunkeln viele Wochen hindurch frisch lebendig. Entstärkte Fäden bilden aus Glycerin Stärke.

Cladophora fracta, einige *Oedogonium*-Arten, Farnprothallien, Blätter von *Funaria*, *Elodea* bilden nach Plasmolyse auch im Dunkeln Zellhaut.

Eine Theilung nach Plasmolyse wurde an Dunkelculturen bisher niemals beobachtet.

Die Wachstumsvorgänge nach Plasmolyse treten nach den bisherigen Erfahrungen hauptsächlich in einigen organischen Substanzen auf, wie Trauben-Rohrzucker, Milchzucker, Mannit, dagegen nicht in Glycocol, Salpeter, Chlornatrium.

Die physiologische Rolle der Zellkerne ist bisher unbekannt. Kernlose Zellstücke von *Zygnema*, *Spirogyra* halten sich in der Zuckerlösung bis 6 Wochen hindurch lebendig und bilden sehr reichlich Stärke im Licht, wachsen aber weder in die Länge, noch bilden sie Zellhaut. Die kernhaltigen Zellstücke können die ganze Zelle wieder herstellen.

Kernlose Zellstücke von *Funaria hygrometrica* bleiben mehrere Wochen lebensfähig, verbrauchen die in ihnen vorher aufgesammelte Stärke, sind aber nicht mehr fähig, neue Stärke im Licht zu bilden.

In Zuckerculturen von *Elodea* und *Funaria* bei Zusatz von 0,4 chromsaurem Kali findet bei sonst ungestörten Lebensverhältnissen eine vollständige Degeneration der Chlorophyllkörper statt, die schließlich zu kleinen, rothen Punkten werden. Tübingen, März 1887. ¹⁾

1) Die nach diesem Termin erschienenen Arbeiten konnten nicht mehr berücksichtigt werden.

Figurenerklärung.

Die Vergrößerung der Figuren ist durch die eingeklammerten Zahlen angegeben.

Tafel V.

- Fig. 1. (376) *Vaucheria* spec.; Zweig in 40% Rohrzucker aus einem Fadenstück erwachsen, das infolge Zerschneidens in 1% R-Zucker und Congoroth sich mit einer neuen Zellhaut umgeben hatte.
- 2. (230) *Vaucheria*; das durch den Schnitt geöffnete Ende eines Fadens; die herausgequollene Plasmamasse ist im Begriff, eine neue Zellhaut zu bilden, die aber noch nicht vollständig ist; in 1% R-Zucker und Congoroth.
 - 3. (564) *Vaucheria*; ein Fadenende wie in 2; Zellhaut nur an einer kleinen Stelle gebildet; an der andern hat eine Plasmablase sich hervorgestülpt, an deren Basis durch Zusammenfluss von Körnchen eine neue Zellhaut entsteht; in 1% Zucker und Congoroth.
 - 4. (230) *Vaucheria*; durch Zerstückelung getrennte Plasmamassen durch neu gebildete, aus den vorher vorhandenen Plasmafäden entstandene Zellhautmasse vereinigt; in 1% R-Zucker und Congoroth.
 - 5. (230) *Vaucheria*; frei herausgetretener Plasmaballen in 1% R-Zucker und Congoroth mit neuer Zellhaut umgeben.
 - 6. (230) *Vaucheria*; frei herausgetretener Plasmaballen in 1% R-Zucker und Congoroth mit breiter neuer Zellwandmasse umgeben.
 - 7. (564) *Funaria hygrometrica*; Zelle eines Blattes, das seit 24/XII. 86 in 20% R-Zucker und 0,05 chromsaurem Kali im Dunkeln cultivirt wurde; vom 2/I. 87 an wurde es allmählich an verdünntere Lösungen gewöhnt, am 14/I. in Wasser gebracht; gezeichnet am 31/I. 1887.
 - 8. (564) *Funaria hygrometrica*; Zelle eines Blattes, das seit 2/I. 87 in 12,5% R-Zucker und 9,5 Glycose, ferner 0,05 chromsaurem Kali im Dunkeln cultivirt wurde; gezeichnet am 21/I. 87.
 - 9. (376) *Spirogyra* spec. seit 7/XII. 86 in 20% R-Zucker und Congoroth hell cultivirt; gez. am 14/I. 87; o = kernlose, n = kernhaltige Hälfte der Zelle.
 - 10. (376) *Zygnema* C. seit 14/I. 87 in 16% R-Zucker und Congoroth hell cultivirt; gez. am 16/II. 87.
 - 11. (376) *Zygnema* D. seit 24/XII. 85 in 10% Glycose im Licht cultivirt; gez. am 1/I. 86.
 - 12. (376) *Zygnema* C. 14 Tage in 0,05 Congoroth, dann am 2/I. 86 in 10% Glycose im Licht cultivirt; gez. am 11/I. 86; o = kernlose, n = kernhaltige Hälfte der Zelle.

- Fig. 13. (376) *Funaria hygrometrica*; Zelle eines Blattes, welches seit 24/XII. 86 dunkel in Wasser, am 21/I. 87 in 25% R-Zucker im Licht cultivirt worden war; gez. am 2/II. 87; *o* = kernlose, *n* = kernhaltige Hälfte der Zelle.
- 14. (376) *Zygnema* C. seit 17/II. 87 in 16% R-Zucker, 0,005 Weinstein, 0,05 Congo-roth; gez. am 20/II. 87.
 - 15. (376) *Zygnema* C. wie in 14 am 21/II. 87.
 - 16. (830) *Elodea canadensis*; *a* Chlorophyllkörper aus einer normalen Blattzelle, *b* dieselben aus der Zelle eines Blattes, welches seit 29/I. 87 in 16% R-Zucker und 0,05 chromsaurem Kali im Dunkeln cultivirt worden war; gez. am 4/III. 87.

Tafel VI.

- Fig. 1. (376) *Vaucheria* spec.; ein Zweigende in Wasser mit lebhafter Zellhautbildung nach Aufhören des Wachstums.
- 2. (376) *Vaucheria*; ein Fadenende mit deutlich sichtbaren Sprengungen der Zellhaut.
 - 3. (564) *Vaucheria*; ein Fadenende mit deutlicher Sprengung der letzten Zellhautschicht und Hervortreten der eben gebildeten.
 - 4. (230) *Zygnema* C. seit 6/XII. 85 in 10% R-Zucker hell; gez. am 23/I. 86.
 - 5. (376) *Zygnema* C. seit 13/X. 86 in 10% Glycose hell; gez. am 16/X. 86.
 - 6. (230) *Zygnema* C. seit 24/XII. 85 in 10% Glycose hell; ein aus der alten Zellwand herausgetretener Protoplast; gez. am 18/II. 86.
 - 7. (230) *Zygnema* C¹ seit 16/XII. 86 in 20% R-Zucker hell; gez. am 19/I. 87.
 - 8. (230) *Zygnema* C. seit 10/X. 86 in 12% R-Zucker; am 13/XI. in einen Thoncylinder und diesen in ein Gefäß mit 5% R-Zucker gestellt, am 20/XI. mit Wasser gefüllt; am 24/XI. wurde die *Zygnema* direct in Wasser gebracht; gez. am 15/XII. 86.
 - 9. (230) *Spirogyra* spec. seit 24/XI. 86 in 10% R-Zucker mit Congoroth hell; gez. am 21/XII. 86.
 - 10. (230) *Mesocarpus* spec. seit 21/I. 87 in 10% R-Zucker; gez. am 23/II. 87.
 - 11. (230) *Mesocarpus* spec. seit 1/XII. 86 in 10% Glycose hell; gez. am 4/I. 87.
 - 12. (230) *Zygnema* C. seit 16/XII. 85 in 10% Glycose hell; gez. am 29/XII. 85, die neugebildete Zellhaut nicht mitgezeichnet; die in der einen Zelle scheinbar getrennten Stücke des alten Protoplasten hängen mit einander sehr wahrscheinlich zusammen.
 - 13. (240) *Euastrum verrucosum*; 2 abnorme Exemplare, durch Theilung unreifer Tochterzellen in Zuckerlösung (aus 10% allmählich verdünnt) gebildet.
 - 14. (230) *Zygnema* C. seit 6/XII. 85 in 10% R-Zucker hell; gez. am 29/XII. 85.
 - 15. (376) *Zygnema* C. seit 7/XII. 86 in 20% R-Zucker und Congoroth hell; gez. am 14/I. 87.
 - 16. (376) *Zygnema* C. seit 10/X. in 12% R-Zucker, seit 17/XI. in reinem Wasser mit conc. Salpeterlösung plasmolysirt; an der Innenseite der im Zucker neugebildeten Zellhaut zahlreiche ausgeschiedene Gerbstoffbläschen.
 - 17. (230) *Zygnema* C. seit 13/X. 86 in 0,02 Congo-roth; gez. am 22/II. 87; *s* = neugebildete Zellhautmasse.
 - 18. (376) *Zygnema* C. seit 13/X. 86 in 10% Glycose hell; am 17/X. mit conc. Salpeterlösung plasmolysirt.
 - 19. (376) *Zygnema* C. wie in Fig. 17; nach Plasmolyse mit Salpeterlösung; *s* = die neugebildete, deutlich geschichtete Zellwandmasse.
 - 20. (376) *Zygnema* C. seit 8/X. 86 in 10% Glycose hell; gez. am 22/X. 86.
 - 21. (564) *Zygnema* C. seit 10/X. 86 in 12% R-Zucker hell; gez. am 17/X. 86, die alte Zellhaut nicht mitgezeichnet.

Fig. 22. (376) *Zygnema* C. seit 4 Wochen im Dunkeln in Wasser.

- 23. (376) *Zygnema* C. seit 17/II. 87 in 16% R-Zucker und 0,005 Weinstein hell; gez. am 20/II. 87.
- 24. (230) *Zygnema* C. seit 24/XII. 85 in 10% Glycose hell; gez. am 18/II. 86.
- 25. (376) *Zygnema* C. seit 6/XII. 85 in 10% R-Zucker; gez. am 16/XII. 85.
- 26. (376) *Zygnema* C. seit 16/XII. 85 in 10% Glycose; gez. am 4/I. 86; *o* = kernlose, *n* = kernhaltige Hälfte der Zelle.
- 27. (564) *Funaria hygrometrica*; Zelle eines Blattes, das seit 2/I. 87 in 12,5% R-Zucker und 9,5 Glycose, ferner 0,05 chromsaurem Kali dunkel cultivirt worden war; gez. am 21/I. 87.
- 28. (153) *Zygnema* C. seit 13/X. 86 in 10% Glycose hell; gez. am 11/XI. 86.
- 29. (376) *Funaria hygrometrica*; Zellen eines Blattes, das seit 24/XII. 86 in 20% R-Zucker und 0,05 chromsaurem Kali dunkel cultivirt worden war; am 2/I. 87 von neuem plasmolysirt durch Salpeterlösung; *s* = neue Zellhautschichten.
- 30. (376) *Elodea canadensis*; Zellen eines vorher etiolirten Blattes seit 10/X. in 15% R-Zucker hell; am 19/X. 86 durch conc. Salpeterlösung plasmolysirt; *s* = neue Zellhaut.
- 31. (564) *Oedogonium* spec. seit 2/II. 86 in 15% R-Zucker hell; gez. am 18/II. 86.
- 32. (376) *Zygnema* spec. 20 Stunden in 10% Glycose.
- 33. (564) *Oedogonium* spec. seit 8/VII. 86 in 10% R-Zucker hell; gez. am 13/VII. 86.
- 34. (564) *Oedogonium* spec. seit 10/X. 86 in 12% R-Zucker hell; gez. am 4/I. 87.
- 35. (564) *Oedogonium* spec. seit 2/II. 86 in 15% R-Zucker hell; gez. am 18/II. 86.
- 36. (564) *Oedogonium* spec. seit 10/X. 86 in 12% R-Zucker; vom 4/XII. bis 12/XII. 86 allmählich an verdünntere Lösungen gewöhnt; am 12/XII. in Wasser; gez. am 21/XII. 86.
- 37. (564) *Oedogonium* spec. seit 10/X. 86 in 12% R-Zucker hell; gez. am 4/I. 87.

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Einleitung	489
I. Über die Zellhaut	492
1) Kritische Vorbetrachtungen.	492
2) Die künstliche Neubildung der Zellhaut	500
3) Die erste Entstehung der Zellhaut	506
4) Das Wachstum der Zellhaut	512
a) Das Längenwachsthum bei <i>Vaucheria</i>	512
b) Das Zellhautwachsthum bei <i>Zygnema</i>	515
II. Über Wachsthum und Theilung	525
III. Über die Abhängigkeit der Zellhaut-Stärkebildung und des Wachsthums vom Licht und von äußeren Culturbedingungen	537
IV. Über den Einfluss des Kernes in der Zelle	551
V. Über Chlorophyllkörper und Gerbstoffbläschen	557
Zusammenfassung.	561

X.

The Staining of living Nuclei.

By

Douglas H. Campbell.

It is an almost universally accepted idea that the very fact of the nucleus of a cell becoming stained is a certain indication of its death. That this is not the case may readily be proved, and a series of experiments with a number of widely different plants has shown beyond question that it is quite possible to stain the nucleus and at the same time to have every evidence that the cell is still living.

It is true that the nucleus of a dead cell colors much more readily and intensely than the living nucleus, but it by no means follows that every nucleus that becomes colored is for that reason dead.

The following observations were made in the botanical laboratory at Tübingen during the summer semester of 1887 under the supervision of Professor PFEFFER, and were suggested by PFEFFER'S ¹⁾ paper on the absorption of aniline colors by the living cell in which he showed that living protoplasm could be stained but did not record the coloring of the nucleus in the plant-cell.

After experimenting unsuccessfully for some time I succeeded in finding several colors that colored the nucleus more or less deeply without killing it, and as will be seen from the following account not only were resting nuclei stained but dividing ones as well.

So far as I am aware, there are no other accounts of the coloring of the nuclei of living vegetable cells, although in several cases those of animal

1) W. PFEFFER, »Über Aufnahme von Anilinfarben in lebende Zellen«. Unters. aus dem botan. Institut in Tübingen. 1886.

cells have been successfully colored. PFEFFER ¹⁾ mentions that HEIDENHAIN found that the epithelial cells of the urinary tubes were colored by indigo-carmin when this was injected into the blood, the nucleus especially being deeply colored. DRESER ²⁾ reached similar results in the kidneys of the frog with acid-fuchsin, Bordeaux-red and acid-violet. BRANDT ³⁾ was able to obtain a faint coloring of the nucleus in amoebae and heliozoa with haematoxylin; and La Valette ⁴⁾ succeeded with dahlia in coloring the living spermatozoids of *Bombinator igneus*, and the nucleus and para-nucleus of the living spermatocysts of *Blatta germanica*, both resting nuclei and the division-stages.

Of the various colors employed by these observers, only one, dahlia, has given satisfactory results with vegetable cells. By its use the first unquestionable coloring of the living nucleus was observed by me in the stamens-hairs of *Tradescantia Virginica*, which proved to be an excellent subject for experiment. Farther search, however, extended the number of cases very much; and it was also found that in many instances methyl-violet and mauvein, especially the latter, gave quite as good results as dahlia.

In all cases of successful coloring both the nucleus and the protoplasm appear perfectly normal, there being no distortion or contraction, and the protoplasmic streaming continuing. The intensity of the color varies much in different instances both with the state of the nucleus and the time of immersion in the staining fluid.

Of course in selecting cells for study such should be chosen that have thin, uncuticularized walls, as the penetration of walls with a thick cuticle is difficult and the walls themselves are apt to take up the color. It is also desirable, of course, to have some sure means of determining whether the cell is still alive; and as the readiest means of doing this, cells were selected in all cases in which there was evident protoplasmic streaming, or, as in the case of spermatozoids, ciliary movement. As long as unmistakable movement of the protoplasm can be detected it is of course certain that the cell is still alive.

Methods used.

As yet but three colors, dahlia, methyl-violet, and mauvein, have been found that certainly colored the nucleus in the cells examined, and these three are much alike in their color and properties, though differing materially in chemical composition. All of them are violet-purple aniline colors, readily soluble in water.

In making the experiments a solution of the coloring agent in filtered rain-water was made. For ordinary use at .4% solution was found conve-

1) l. c. page 269.

2) *ibid.*

3) *ibid.*

4) STRASBURGER, Bot. Prakt. II. edition. p. 630.

nient and this was diluted to the desired degree. For most purposes a solution of from .002% to .004% was found best, but in a few cases weaker solutions gave better results, while in others it was found that staining directly on the slide, using a small amount of a much stronger solution, was preferable.

The object to be examined is placed in this solution and allowed to remain until a satisfactory color is obtained. The time necessary for this is extremely variable; with the root-hairs of *Tradescantia zebrina*, for example, an immersion of less than half a minute in a .002% solution of any of the three colors given, is sufficient — indeed a longer submersion is generally fatal; on the other hand, where the cell is protected by a thick membrane as is the case with most aerial hairs, the cells may remain in some cases for twenty four hours or more, and then in a great majority of cases remain unstained.

More or less successful coloring was obtained with the following plants.

Nitella flexilis L., *Chara* sp., several undetermined Fern prothallia, *Lilium bulbiferum* L., *Lilium candidum* L., *Asphodelus albus* Nees., *Scilla* sp., *Tradescantia Virginica* L., *Tradescantia rosea* Mchx., *Tradescantia zebrina*, *Sagittaria sagittifolia* L., *Alisma plantago* L., *Vallisneria spiralis* L., *Elodea Canadensis* Rich., *Trianea Bogotensis* Karst., *Hyoscyamus niger* L., *Campanula latifolia* L., *Campanula rotundifolia* L., *Adenophora latifolia* Fisch., *Cucurbita pepo* L.

The greater part of the time was devoted to the study of the stamens of *Tradescantia*, as these proved to be the most convenient and satisfactory subject for the demonstration of the nuclear staining. Of the species examined *T. Virginica* was the best, but good results were also obtained with *T. ciliata* and *T. rosea*; with the first two species not only were the resting nuclei stained, but the dividing ones as well.

Tradescantia Virginica L.

This well-known plant has been long a favorite one for the demonstration of protoplasmic streaming which is particularly well marked in the cells of the purple hairs at the bases of the filaments. The nuclei of these cells are large and distinct and if young examples are selected the division of the nucleus can be readily followed in life, as was shown by STRASBURGER¹⁾. For demonstrating the staining of the nucleus young hairs should be chosen as not only is the absorption of the color more rapid, but the cell-sap in these is colorless where as in the older ones there is developed an intense violet-purple pigment.

In preparing the material young buds are taken and the floral envelopes carefully removed so as to expose the stamens which are allowed to

1) Zellbildung und Zelltheilung. 3. Edit. p. 109.

remain attached to the receptacle. The bud thus prepared is immersed in the staining fluid. Owing to the difficulty of freeing the preparation from air, it is difficult to make exact calculations as to the time necessary for coloring. The solutions used varied from .002 % to .0002 % and were for the most part dahlia or mauvein. From one to two hours was usually sufficient with the stronger solutions, .002 % to .001 %, to give with many of the cells a decided coloring of the nucleus; the hairs may be left in weaker solutions from 8 to 10 hours, or even longer without injury.

As before stated, owing probably in great part to the accumulation of air, and possibly also to the unequal cuticularisation of the walls, many of the cells remain entirely uncolored. If the solution is too concentrated there is apt to be coloring of the walls which of course interferes with a determination of the amount of nuclear coloring: the protoplasm is as a rule, but slightly stained.

When the staining has been successful, the appearance of the cell is perfectly normal and the protoplasmic streaming can easily be seen; the nucleus has assumed a more or less pronounced blue or violet color, varying a good deal with the amount of the coloring matter absorbed, but in the most favorable cases it is surprisingly deep. The nucleus remains absolutely unchanged in form and structure, in very strong contrast to the hard sharp outline and contracted appearance of the nuclei that have been killed in the process of staining. There are usually a number of such nuclei in every preparation which serve as objects of comparison. The color, too, of the living nuclei is much softer than in the dead ones, the latter being of a most intense violet purple, whereas the living nuclei are generally rather of a blue-purple.

With both dahlia and mauvein the dividing nucleus was colored a number of times, and with the first it was possible to follow through the division as the nucleus in a few cases observed continued the division after being stained. In one case in particular the division was completed in a perfectly normal manner.

In this instance the hairs had been left for $4\frac{3}{4}$ hours in a .002 % solution of dahlia and one of the nuclei was observed to be pretty well advanced in the process of division. The two parts were only slightly separated and the segments still distinct. Protoplasmic streaming could be detected, and as the nucleus was watched it was seen to be changing.

The first observation was made at 10.30 a. m. At this time the clear space between the two portions of the nucleus was scarcely to be seen and the most careful scrutiny failed to detect any sign of the formation of a division-wall, but the movement of the protoplasm appeared to be most active toward the center of the cell. Shortly after the beginning of the experiment an indistinct line, apparently formed by the aggregation of microsomes, was to be seen in the middle of the space between the daughter-

nuclei which had in the meantime moved further apart, and a little later the cell-plate was evident as a distinct line in the same place. The nuclei became more and more rounded and this was accompanied by a more uniform distribution of the chromatin, the segments appearing to separate gradually into separate microsomes. In an hour and a half from the beginning of the observation the division-wall was formed entirely across the cell, but the nuclei were still slightly flattened. Two hours later the same cell was examined and the division was found to be complete, the nuclei having assumed the form and size of the ordinary resting ones. Owing to the separation of the microsomes the nuclei were noticeably paler in color than when first seen.

A fine nuclear stain was also observed in this species in the parenchyma of the stem. The best results were had by staining directly on the slide. Rather thin longitudinal sections are made and mounted in water. Care of course must be taken to have the razor as sharp as possible so as to injure the cells as little as possible. A drop of .4 % dahlia or mauvein solution is then run under the cover glass and allowed to remain for about 10 minutes, the section can be watched under the microscope and the color regulated accordingly. The stain thus obtained is very marked and the streaming of the protoplasm only slightly checked. The streaming is usually to be seen in the protoplasmic threads running from the nucleus, or in the thin layer lining the walls.

Owing to the ease of preparation as well as to the large size and distinct outline of the nucleus, this is one of the very best objects for the demonstration of nuclear staining. The sections should be made from a rather young stem as in the older ones the accumulation of starch is somewhat troublesome.

Tradescantia rosea.

With this species which closely resembles *T. Virginica*, similar results were obtained so far as very limited observations went, and probably it would prove an equally good subject.

Tradescantia ciliata. (?)

The species grown under this name in the Tübingen botanical garden is also in habit similar to *T. Virginica*, but the flowers are much smaller. It blooms later than that species and for this reason was used after the flowering time of the other was over. Owing to the smaller size of the buds it is less convenient to handle but still answers very well.

With this species numerous experiments were made with dahlia and mauvein, and a few with methyl-violet; the deepest color was obtained with mauvein, which seemed on the whole to give better results with this species than dahlia.

As with *T. Virginica*, the best staining of the nuclei of the stamen-hairs resulted from the use of a .002 % solution and an immersion of from one to two hours. Once especially a dividing nucleus was thus stained with mauvein extraordinarily deeply, but with a $\frac{1}{16}$ oil-immersion lens protoplasmic movement was still to be seen, although during the process of division the streaming becomes very much reduced, and even where the cell is unstained is generally hard to detect. In this case the surrounding plasma was also slightly colored, but very much less deeply than the nucleus itself.

When first seen the cell-plate was just formed and the segments of the daughter-nuclei were well-differentiated and stained of an intense violet-purple, so deep in fact as to raise some doubt as to the possibility of their still being alive. The cell, however, was studied further, and the division was found to proceed until the division-wall was complete and the daughter-nuclei had assumed nearly the appearance of resting nuclei. In this stage the chromatin was more uniformly distributed and the color of the whole nucleus in consequence paler. At the end of five hours from the first observation, the movement of the protoplasm was if anything more marked than at first.

In this case the color was quite as deep as in an ordinary haematoxylin preparation.

With mauvein and dahlia the nuclei of the stem-parenchyma cells were colored as with *T. Virginica*. Treated with methyl-violet the results were also eminently satisfactory. A small drop of a .4 % solution of the latter was run under the cover-glass and allowed to remain for five minutes; at the end of this time the nuclei being well colored, the section was washed with pure water. The coloring was uniform and decided, and in many of the cells the streaming was scarcely impaired. In both this species and *T. Virginica* the cells in the neighborhood of the fibro-vascular bundles are the best as they contain almost no granular contents, and the protoplasm is reduced to a thin layer close to the wall so that the nucleus lies perfectly free.

Tradescantia zebrina.

The stamen-hairs of this species were not investigated, but the root-hairs were found to afford a very convenient and useful object.

In order to obtain good material, pieces of the stem were removed from the earth and placed in a vessel of rain-water. Here in the course of a few days roots are abundantly developed at the nodes and the root-hairs with which they are densely covered show good protoplasmic streaming and the nuclei are well-defined.

In order to color the nucleus it is only necessary to plunge the root with its attached root-hairs for about half a minute in a .002 % solution of any of the three colors mentioned. This is enough to give an evident, though not very deep stain, and at the same time does not stop the streaming of the protoplasm. The protoplasm is also somewhat colored, but as the nu-

cleus lies almost entirely free, this does not interfere seriously. Longer immersion is apt to kill the cells.

The stem-parenchyma of this species was also examined but with indifferent results.

No other plants were as fully studied as the species of *Tradescantia* already described, but as will be seen from the following, a number of widely separate forms were examined with similar results.

Nitella flexilis.

The spermatozoids of the *Characeae* being relatively large and easily obtained, and also produced in great numbers, are about the best for studying these bodies. In order to obtain them it is necessary to place a ripe antheridium upon the slide and carefully crush it in a drop of water. A glance will show whether the spermatozoids are mature or not. In case they are fully ripe, they will begin to escape from the mother-cells in about an hour—somewhat later if they are not quite mature. The first experiments with *Nitella* were made with methyl-violet.

As soon as a sufficient number of the spermatozoids had escaped, a small drop of a .4 % solution diluted with about twice as much water was run under the cover-glass and allowed to remain about a minute. At the end of this time both the swarming spermatozoids and those still in the mother-cells were colored a pure blue. Those that were free continued to move for some time, but came to rest much sooner than when unstained, the body becoming at the same time deeper colored.

Much better results are had when the solution is weaker, and the action more gradual. In this way an equally good color can be obtained with very little diminution in the rapidity of the movement which however ceases as a rule sooner than in the unstained spermatozoid.

Dahlia operated much in the same way but the movement continued somewhat longer. Here also a small amount of the staining fluid was used and allowed to act somewhat gradually.

Chara spec. (?)

An undetermined species of *Chara* growing in a pond in the Tübingen botanical garden was studied and the spermatozoids treated with mauvein and dahlia with effects similar to those described for *Nitella*. In this case the coloring agents were applied both before and after the swarming had begun, the antheridium being placed directly in a dilute solution of the staining fluid. The contained spermatozoids were quickly stained, but escaped and swarmed in a perfectly normal way. The color was the same as when they were allowed to escape before coloring.

Ferns.

Owing to lack of good material only a few experiments were made with ferns and these were confined to the sexual organs. It was found

that the spermatozoids swarmed in a dilute dahlia solution and were more or less deeply stained, but it was impossible to get a sufficient number to make more thorough investigations.

The archegonium had the nuclei of the neck-cells somewhat colored after which the neck opened in the usual manner.

With the small prothallia of the dioecious ferns undoubtedly the results would be better, but these unfortunately were not obtainable when the experiments were made.

Lilium bulbiferum L.

The bases of the perianth divisions of this lily, in common with some others, is characterized by parallel ridges fringed with hairs, some of which are unicellular, others multicellular. In the species under consideration most of these are colored by the presence of a purple-red cell-sap and yellow chromoplasts, but a number can always be found that are colorless. The nucleus is large and distinct and the streaming good. As in the case of most aërial hairs, however, the thick walls of the cells make the absorption of coloring agents difficult so that results are rather uncertain.

The colors employed were mauvein and dahlia and the solutions ranged from .004 % — .0002 %. With all the solutions a fair number of cells were found to have the nucleus colored, but it was necessary to leave them in the solutions for several hours. The best coloring was reached with a .004 % solution of mauvein in which the separated bases of the petals were allowed to remain all night. In one case an extraordinarily deep violet-purple stain was thus obtained with evident though much diminished streaming.

Asphodelus albus NEES.

The hairs fringing the broad bases of the filaments of this plant were examined with fairly good results, though owing to the thick cuticle they are not always to be relied upon. They are of large size, unicellular, and perfectly colorless. As in the case of *Lilium bulbiferum*, a long immersion is necessary and the same solutions may be used. With all of the solutions cases of stained nuclei were observed, but in no cases was the color particularly deep.

If too strong a solution is used, — and the same is true of *Lilium*, — the cell-wall colors very intensely, so as to make it impossible to determine positively whether the nucleus is colored or not.

Sagittaria sagittifolia L.

The epidermis of the base of the leaf-stalks of this plant offers an easily prepared and satisfactory subject. The cells contain very little protoplasm and chlorophyll, and the nucleus is large and distinct. Extremely fine protoplasmic threads traverse the cell-lumen and in these there is active streaming.

The first experiments were made by immersing the base of the leaf-stalk, which was generally split to facilitate the action of the fluid, in a rather strong, — .002 % to .004 % —, mauvein or dahlia solution. After being stained the epidermis was removed with a razor, or sections of the inner parenchyma were used. In this way the nucleus was satisfactorily colored, but the streaming was usually very difficult to detect. Later experiments, staining directly on the slide, were much better.

Care must be taken not to use too strong a solution as the protoplasm seems to be excessively sensitive. It was found that the color was taken up almost instantaneously and the nuclei finely colored, but unless the solution was very dilute, the movement of the protoplasm was almost instantly stopped. By using a dilute solution, however, this may be avoided.

With dahlia a small drop of a .4 % solution was diluted with three to four parts of water and then, as already described, run under the cover-glass and allowed to remain about a minute, the time being regulated by the color of the nucleus and the streaming of the protoplasm which may be watched under the microscope; the staining fluid was then replaced by pure water. In this way excellent color and pretty active streaming can be had.

With mauvein and methyl-violet used in the same way the result is almost identical.

The inner parenchyma of the leaf-stalk can also be used, but although the nucleus colors readily the difficulty of making out the protoplasmic movement is an objection. The protoplasm has almost disappeared from these cells, and even in the unstained cells it is not always easy to detect it, as the protoplasmic threads are excessively fine and the granules small and few.

Alisma plantago L.

A few experiments were made with the inner parenchyma of the base of the leaf-stalks of *Alisma* with similar but less satisfactory results to those reached with *Sagittaria*. The nuclei are not so large and seldom lie entirely free being usually partially hidden by chlorophyll granules or starch-grains. The nuclei moreover do not stain nearly so well and there is a more or less pronounced precipitate formed in the cell sap by the coloring agent. On the other hand the streaming is much easier to demonstrate as the protoplasmic threads are larger and more numerous.

Vallisneria spiralis L.

Occasionally a good nuclear stain was observed with *Vallisneria*, but it is very uncertain. In making preparations either longitudinal sections of the leaf were used, or else the thin, nearly colorless margins of the basal part of the leaf. In all of the cells, as is well known, the rotation of the protoplasm is extraordinarily well marked.

The cells take up the color slowly; with a .004 % solution of mauvein, after four hours immersion some of the large mesophyll cells had the nucleus well colored, other experiments gave negative results.

When the staining was done upon the slide, it was found that the absorption of the color was relatively slow even when strong solutions were used. A drop of .4 % dahlia or methyl-violet, was run under the cover-glass and allowed to remain for half an hour without killing many of the cells. Some of the nuclei were pretty well colored after 10 or 15 minutes; others remained completely unstained.

Elodea Canadensis Rich.

This plant acts much like *Vallisneria*, the color being absorbed with difficulty and the staining of the nucleus is uncertain.

Trianea Bogotensis Karst.

The mesophyll of the leaves of this aquatic plant contains large air-chambers separated by thin plates composed of a single layer of cells. In these cells the protoplasm circulates somewhat as in *Vallisneria*, and *Elodea*, but the nucleus is not so distinct and although a faint color could usually be obtained with the coloring agents used, the results were not entirely satisfactory.

Thin vertical sections of the leaf were mounted in water. A drop of .4 % methyl-violet in a few minutes produced a slight nuclear stain, but the cell-walls were also somewhat colored and there was formed a more or less abundant precipitate in the cell-sap.

With dahlia the results were much the same, but the color of the nucleus was somewhat better and the precipitate less abundant. Further trials with dahlia, using less of the solution and allowing it to act for a very short time, a minute or less, gave faint but unmistakable nuclear coloring, violet rather than blue, and at first no precipitate; but after standing for a short time a slight precipitate appeared. When the action of the staining fluid was short and care was taken to wash the preparation well, the circulation was but little diminished.

With mauvein the precipitate was much more abundant, and the nuclear coloring scarcely perceptible.

When the sections were allowed to remain in a weak solution for from one to three hours, the results were the same — an abundant precipitate in the cell sap and very uncertain nuclear colors.

The root-hairs of *Trianea* were repeatedly studied, but owing to the unfavorable position of the nucleus, which lies at the base of the hair surrounded by abundant protoplasm, the staining is difficult to demonstrate.

With very dilute solutions of all three colors the nucleus in many cases appeared to be certainly stained, but in order to see it clearly, longitudinal

sections of the root must be made. With stronger solutions, even when the protoplasm is not killed, the cell-wall is often stained very intensely which of course interferes seriously with the study of the nucleus.

Hyoscyamus niger L.

The stamen-hairs of *Hyoscyamus* afford a fairly good subject for our purpose. The stamens should be stripped away from the corolla taking care to remove with them as many hairs as possible, and the stamens with the attached hairs then plunged in the staining fluid. With a .04 % mauvein solution the nucleus in a number of cases was colored in two hours with distinct protoplasmic streaming. With a .005 % solution of the same the results were not good, but with a similar solution of dahlia, after remaining all night, some good examples were found.

Campanula spec.

The bases of the filaments of the different species of *Campanula* are provided with hairs much like those of *Asphodelus albus*. Owing to the very active streaming and the large nucleus, it was hoped that these would prove favorable subjects, but unfortunately the cuticle is so thick as to absolutely prevent the absorption of the coloring agents in the great majority of cases.

The first species studied, *C. latifolia* L., gave occasionally good results. The stamens were left over night in .004 % and .0005 % solutions of mauvein and dahlia, and in both cases colored nuclei were found. The best color was had with the stronger solutions, but the streaming was not so well marked as in those cells that were treated with the weaker, in which the nucleus was also pretty well colored.

Stamens of *C. medium* and *C. persicifolia*, placed in the same solutions, gave negative results.

The hairs are thinner-walled in *C. rotundifolia* and a rather larger proportion are colored than with *C. latifolia*, but as with this species, the coloring is very uncertain. With both species it was sometimes impossible to get any stain without killing the cells, the color often not being taken up at all.

Later experiments with stronger solutions of dahlia and mauvein gave similar results; possibly a little better, but not remarkably good.

Adenophora latifolia Fisch.

This plant is closely related to *Campanula*, and has similar stamen-hairs. The cuticle of these hairs is, however, thinner, and the cells take up the color somewhat better. Stamens left over night in .002 % dahlia and mauvein solutions were found in the latter case to have some of the nuclei colored. The nucleus was very well colored in these, and the movement of

the protoplasm still quite active. In the dahlia solution all the hairs were still uncolored but after leaving them for about three hours longer, several had the nuclei unmistakably stained, but not so well as with mauvein, and the cell-wall was also more or less colored.

Cucurbita pepo L.

The root-hairs of *Cucurbita* show active streaming and take up the coloring fluids readily, but the protoplasm is colored as deeply as the nucleus, and the latter not being very definite in outline is not well differentiated.

In order to obtain the hairs, the seeds were germinated in moist sawdust and then removed and placed under a bell jar in which the air was kept saturated with moisture. In this atmosphere new root-hairs are formed in great numbers.

Experiments with pollen-tubes.

A number of experiments were made with pollen-tubes, but owing to the density of the protoplasm the coloring of the nucleus could not be positively demonstrated.

The following were found to germinate freely in a 45% cane-sugar solution, to which a very small amount of dahlia or mauvein was added: — *Lilium candidum*, *Tradescantia virginica*, *Scilla* spec. In all there is well-marked streaming of the protoplasm in the pollen-tube, and the color is readily absorbed, but the protoplasm stains so deeply and the nuclei are so indistinct, that it is impossible to say whether the latter are colored or not.

Algae.

Various species of *Spirogyra* and *Zygnema* were tried, but either the cells were killed or the cell-contents were so dense as to prevent a satisfactory study of the nucleus.

Parts of the nucleus stained.

When nucleoli are present, these appear to be always stained and are conspicuous. The microsomes are often well-differentiated, but the intermediate substance appears to be little or not at all colored. Further investigations, however, are necessary to determine exactly what parts are stained and the more intimate structure of the nucleus. As far as could be determined, the living nucleus conducts itself toward these coloring agents in much the same way as nuclei fixed by alcohol or any of the ordinary hardening agents, do toward the common staining agents.

Conclusions reached.

The results of the foregoing experiments may be briefly summed up as follows.

4. That with certain violet aniline colors, viz. dahlia, mauvein, and methyl-violet, it is possible to color the nuclei of living plant-cells.
2. Both resting and dividing nuclei may be thus stained in life.
3. The nuclei of both vegetative and reproductive cells may be thus stained.

The foregoing sketch lays no claim to completeness. Owing to the very limited time at the author's disposal it was impossible to examine a number of plants, that would undoubtedly have given interesting and valuable results. Nevertheless it is hoped that the results given are sufficient to call attention to the possibilities of the subject and to stimulate others to investigate the matter further.

In conclusion I must express my grateful appreciation of the kindness and valuable assistance received during the pursuance of the work from Professor PFEFFER, under whose supervision the investigations were made.

Tübingen, August 1887.

XI.

Über chemotaktische Bewegungen von **Bakterien,** **Flagellaten und Volvocineen.**

Von

W. Pfeffer.

I. Einleitung.

In einer früheren Publikation¹⁾ führte ich den Nachweis, dass manche mit Locomotion begabte Organismen durch verschiedene Stoffe in spezifischer Weise angelockt werden. So wurde als Reizmittel für die Samenfäden von Farnkräutern und von *Selaginella* Äpfelsäure erkannt, während sich für **Bakterien** eine Anlockung durch verschiedene Stoffe ergab. Eine nähere Prüfung dieser Reizbarkeit der **Bakterien**, welche damals unterblieb, bringen die folgenden Untersuchungen, in welchen auch eine ähnliche chemotaktische Reizbarkeit für einige farblose Flagellaten und einige chlorophyllführende Volvocineen nachgewiesen wird. Zunächst dürfte es sich aber empfehlen, zur vorläufigen Orientirung hier auf einige allgemeine Resultate hinzuweisen.

Die anlockbaren Organismen sind zwar in sehr verschiedenem Grade empfindlich, doch wirken, trotz aller Abweichungen im einzelnen, im allgemeinen dieselben Stoffe reizend auf **Bakterien**, Flagellaten und Volvocineen ein. Und zwar reagiren die reizbarsten Organismen sogar auf die Mehrzahl der löslichen anorganischen und organischen Körper, doch zum Theil in nur geringem Grade. Gegenüber den nicht stark reizenden Körpern ließen aber die weniger empfindlichen Organismen häufig eine anlockende Wirkung nicht erkennen.

Von anorganischen Salzen erwiesen sich im allgemeinen Kalisalze als die wirksamsten, doch wurden wenigstens die empfindlichsten Organismen

1) Untersuch. a. d. bot. Institut in Tübingen. Bd. I. p. 363.

durch alle neutral reagirenden Salze der übrigen Alkalien und der alkalischen Erden mehr oder weniger angezogen, während auf viele dieser Salze die nur sehr wenig reizbaren Arten nicht merklich reagierten.

Unter den organischen Stoffen wurden sowohl mit stickstofffreien, als stickstoffhaltigen positive Erfolge erzielt. So lernte ich z. B. Pepton als starkes, Asparagin als schwächeres, Kreatin, Taurin, Sarkin, Carnin, Harnstoff als noch schwächere Reizmittel kennen. In Dextrin fand ich für einzelne Arten ein starkes, für andere ein schwächeres Reizmittel, während sich Traubenzucker weniger wirksam erwies und mit Glycerin überhaupt eine anlockende Wirkung nicht erzielt wurde.

Wie nicht jeder organische Körper, also nicht jede Verbindung des Kohlenstoffs in gleicher Weise reizend wirkt, kommt dem Kalium kein constanter, vielmehr ein mit der Natur der Verbindung veränderlicher Reizwerth zu. Dass dieser auch nicht nach dem Nährwerth der Verbindung bemessen ist, ergibt sich schon aus der Wirkungslosigkeit des Glycerins, das auch diejenigen Bacterien nicht anlockt, welche mit Glycerin sehr gut gedeihen. Auch können sogar Gifte, wie salicylsaures Natrium oder Morphinum, Lockmittel sein, also Stoffe, welche in der Natur gewöhnlich ebenso wenig den Organismen geboten werden, wie Rubidium, dessen Salze ein gutes Reizmittel abgeben.

Es giebt aber nicht nur anlockende, sondern auch abstoßende Reizwirkung. Diese tritt vielfach, wie auch schon in meiner früheren Arbeit gezeigt wurde, an Stelle der bisherigen Anziehung, wenn die Concentration einer Lösung über ein gewisses Maß hinaus gesteigert wird. Außerdem bringen bestimmte Stoffe, wie freie Säuren und Alkalien, ebenso Alkohol, eine abstoßende Wirkung hervor. Übrigens besitzen unsere Organismen keineswegs die Fähigkeit, einen jeden für sie schädlichen Stoff zu fliehen.

Wie ein positiver und negativer Heliotropismus oder positive und negative Phototaxis ist also auch positive und negative Chemotaxis zu unterscheiden. Wenn ich hier diese Bezeichnung¹⁾ benutze, so habe ich doch auch nichts dagegen einzuwenden, wenn man, im Anschluss an STAHL'S²⁾ Trophotropismus, von Trophotaxis reden will, obgleich thatsächlich der Nährwerth der Körper nicht bestimmend für ihre Reizwirkung ist.

Die historische Entwicklung unseres Themas ist an früherer Stelle mit Rücksicht auf alle frei beweglichen Organismen behandelt³⁾. Speziell für Bacterien und einige andere niedere Organismen war vor meinen Untersuchungen die Anziehung durch Sauerstoff (durch ENGELMANN), nicht aber durch andere Stoffe bekannt. Inzwischen hat STAHL⁴⁾ für die Plasmodien der Myxomyceten anziehende und abstoßende Wirkungen nachgewiesen.

1) Vergl. PFEFFER l. c. p. 474.

2) Botan. Zeitung. 1884, p. 465.

3) Vergl. PFEFFER l. c. p. 365, 448, 449.

4) L. c. p. 455.

STAHL scheint anzunehmen, dass alle Nährstoffe reizend wirken. Diese thatsächlich nicht zutreffende Ansicht sprach auch ich ¹⁾ früher mit dem Hinzufügen aus, dass indess keineswegs die Reizwirkung eines Stoffes proportional seinem Nährwerth sei.

Bei der engen Anlehnung dieser Untersuchungen an meine frühere Arbeit, muss ich auf diese natürlich vielfach verweisen, doch dürfte es zur Ermöglichung einer zusammenhängenden Darstellung geboten sein, hier manches früher Gesagte zu wiederholen oder nach Bedürfnis weiter auszumalen.

II. Methodisches.

Die Untersuchungsmethode war dieselbe wie früher, d. h. es wurde eine Lösung des zu prüfenden Stoffes in eine einseitig zugeschmolzene Capillare gebracht und diese zu den im Wasser vertheilten Organismen auf den Objektträger geschoben. Die Organismen eilen dann, bei anziehender Wirkung, nach dem Capillarmund hin und können sich, je nach der Reizwirkung, in größerer oder geringerer Menge in der Capillare ansammeln. Eine auffällige Ansammlung kann z. B. jederzeit leicht beobachtet werden, indem man die gewöhnlichen Fäulnisbakterien und eine Capillare mit 2—4-prozentiger Fleischextraktlösung verwendet. Bei guter Versuchsanstellung ist schon nach wenigen Sekunden eine deutliche Ansammlung um den Capillarmund und nach 1 bis 2 Minuten eine dichte Anhäufung im vorderen Theil der Capillare zu bemerken.

Meine frühere Darstellung dieses Einschwärmens ²⁾ von *Bacterium termo*, *Spirillum undula*, Samenfäden der Farne u. s. w. macht eine weitere Schilderung unnöthig, da sich die chemotaktischen Bewegungen anderer Organismen in analoger Weise abspielen. Ebenso ist früher der Repulsion gedacht, die z. B. vielfach durch zu hohe Concentration erzielt wird. Die Organismen steuern dann in die vom Capillarmund ausgehende Diffusionszone und prallen zurück oder machen Halt, sobald mit der Annäherung an den Capillarmund die Lösung diejenige Concentration erreicht, welche repulsive Wirkung geltend macht. Auch wurde u. a. die veränderte Gestaltung der Ansammlung beschrieben, welche z. B. bei Bakterien sich dadurch ergibt, dass mit der Zeit die Capillarflüssigkeit verdünnter und ärmer an Sauerstoff wird.

So leicht es ist, eine stärkere Reizwirkung zu constatiren, so können doch bei schwacher Anziehung Zweifel über Existenz einer Attraction entstehen und solche zweifelhaften Fälle stoßen bei näherer Prüfung der hier behandelten Organismen weit häufiger auf, als etwa bei Untersuchung der Samenfäden von Farnen. Denn manche dieser Organismen werden über-

1) L. c. p. 459, 462.

2) L. c. p. 367, 454.

haupt oder doch durch gewisse Stoffe nur in geringem Grade gereizt; ferner geht bei oft geringerer Bewegungsschnelligkeit die Ansammlung langsamer von statten und wird damit um so weniger auffallend, als man bei winzigen Organismen weniger gut ein einzelnes Individuum verfolgen kann, also aus der Massenanhäufung zu schließen hat, und zudem mit der Zeit durch Diffusion in die Umgebung die Wirkung der Capillarflüssigkeit herabgedrückt wird. Auch werden sehr kleine Objekte leichter durch mechanische Bewegung in der Flüssigkeit fortgerissen und so am Einschwärmen gehindert oder auch gelegentlich in die Capillare getrieben.

Die Beobachtung fordert also oft mehr Kritik, als es bei den früher am eingehendsten untersuchten Samenfäden der Fall war, und dieserhalb ist hier eine kurze Besprechung der Methode und ihrer Fehlerquellen geboten. Zunächst will ich aber auf die als vortheilhaft erkannte Ausführung der Versuche hinweisen, mit dem Bemerken, dass bei genügender Sorgfalt eine jede nennenswerthe Anziehung immer sicher zu erkennen ist.

Bei kleineren Bacterien verwandte ich Capillaren von 0,03—0,06 mm, bei größeren Bacterien von 0,05—0,08 mm und bei größeren Organismen von 0,06—0,12 mm Weite. Diese 4—7 mm langen Capillaren wurden nach dem Einlegen in die Flüssigkeit durch partielles Evacuiren unter der Luftpumpe derart mit der Versuchsflüssigkeit gefüllt, dass am abgeschmolzenen Ende ein luftefüllter Raum von 2—4 mm Länge blieb. Auf Reinheit der Capillare wurde sorgfältig geachtet und zudem wurde die Capillare ausgewaschen, indem die Versuchsflüssigkeit, durch entsprechendes Evacuiren, ein bis zweimal ausgesaugt wurde. Dieses Evacuiren wurde nicht weiter getrieben, als gerade nöthig war, um der Versuchsflüssigkeit den Sauerstoff nicht zu rauben.

Nach schnellem Abschnellen in Wasser schob ich die Capillare sofort mit ihrem offenen Ende in den die Organismen enthaltenden Flüssigkeitstropfen. Zumeist befand sich dieser Tropfen auf offenem Objektträger, doch kann es sich unter Umständen auch empfehlen, wie ich es früher¹⁾ that, ein Deckgläschen auf Papierstreifen zu legen und die Capillare zuzuschieben. In beiden Fällen wurde dafür Sorge getragen, dass die Temperatur der Flüssigkeit auf dem Objektträger und in der Capillare annähernd übereinstimmte (ich arbeitete bei 15—20° C.) und dass in der Flüssigkeit auf dem Objektträger Wasserströmungen nicht bestanden. Hielten diese einige Zeit an, so wurde der Versuch, wenigstens für Grenzbestimmungen der Reizbarkeit, verworfen. Der Einfluss von Erschütterungen war durch Aufstellen des Mikroskopes auf einem zitterfreien Tische vermieden.

Die Dichte kleiner Bacterien in dem Beobachtungstropfen wird am besten derart gewählt, dass in kurzer Zeit eine auffällige Ansammlung in der Capillare möglich ist. Zu dem Ende müssen also langsamere Arten in

1) L. c. p. 451.

größerer Zahl vorhanden sein, als flinkere Arten. Bei größeren und flinken Organismen, die man leicht einzeln verfolgen kann, fand ich es vortheilhaft, die Verdünnung so weit zu treiben, dass nur einzelne Individuen gleichzeitig im Gesichtsfeld sich befanden. Ich wandte dabei eine 30—70fache Vergrößerung, bei kleineren Organismen eine 100—200fache Vergrößerung zur Beobachtung an.

Kam es auf Vergleichung oder Bestimmung der Reizgrenze u. s. w. an, so wurde immer dafür gesorgt, dass die Beobachtung in kurzer Zeit vollendet war. Bei so kurzer Versuchsdauer war es nicht nöthig, die Verdampfung aus dem Beobachtungstropfen zu verhüten. Für längere Versuchsdauer aber empfiehlt es sich, die Objektträger in einer Feuchtkammer zu halten, oder auch in dem Hängetropfen einer Feuchtkammer zu operiren. Mit Vermeidung der Transpiration wird auch die Ansammlung nach dem Tropfenrand vermieden, welche sich bei manchen Organismen andernfalls in auffälliger Weise einstellt.

Bei Beobachtung aller Vorsichtsmaßregeln ist übrigens eine ausreichende Genauigkeit zu erzielen; auch für vergleichende Versuche, in denen natürlich für Herstellung gleichartiger Bedingungen zu sorgen ist.

Mit Rücksicht auf die Diffusion des in der Capillarflüssigkeit gelösten Körpers ist bei schwacher Reizwirkung die Entscheidung thunlichst bald nach Zuschieben der Capillare zu erledigen. Denn mit der Ausbreitung des gelösten Körpers wird in der erweiterten Diffusionszone ein weniger starker Abfall der Concentration hergestellt und damit die Reizwirkung d. h. die Lockung der gereizten Organismen in die Capillare herabgedrückt¹⁾. Dieserhalb verschwindet nicht selten nach einiger Zeit eine zunächst eben merklich gewordene Reaktion.

Übrigens kann, bei etwas weiteren Capillaren, das Ausfließen der spezifisch schwereren Flüssigkeit in erheblicher Weise in Betracht kommen und zugleich ein Einschwemmen kleinerer Organismen herbeiführen. Ein solches Ausfließen der Salzlösung und ein entsprechendes Nachströmen von Wasser in die obere Hälfte geht schnell von statten, wenn man z. B. ein Reagensrohr mit gefärbter Salzlösung in horizontaler Lage unter Wasser bringt und dann den verschließenden Finger abhebt. Die gleiche Erscheinung beobachtet man in Capillaren, die in horizontaler Lage auf dem Objektträger zu einem Flüssigkeitstropfen geschoben werden, welcher durch Aufkochen getödtetes *Bacterium termo* oder etwas Tusche enthält. Bei Anwendung einer Capillare von 0,24 mm Durchmesser wurde z. B. todtes *Bacterium termo* in der zenithwärts gewandten Längshälfte der Capillare während 4½ Minuten bis 0,8 mm Tiefe eingeführt, als eine 40prozentige

1) Näheres vergl. PFEFFER l. c. p. 376. — Die immerhin ziemlich schnelle Verminderung der Concentration im Munde der Capillare ist leicht zu übersehen, indem man eine tief gefärbte Lösung von Indigearmin in die Capillare füllt.

Lösung von Chlorkalium eingefüllt worden war. Auch bei 2prozentiger Lösung dieses Salzes trat dieses mechanische Einströmen noch deutlich, bei Einfüllung von 0,2prozentiger Lösung von Chlorkalium dagegen nicht mehr merklich hervor. Bei Operation mit einer Capillare von 0,052 mm Durchmesser kam dieses Einströmen durch 10prozentige Lösung von Chlorkalium nur andeutungsweise, durch 2prozentige Lösung gar nicht mehr zu Stande.

Während größere und bewegungskräftige Organismen diese mechanischen Wasserströme wohl überwinden, werden durch diese selbst lebhaft bewegte kleine Bakterien mit in die Capillare geführt. Übrigens ist dieses Hineinschwemmen zumeist gut von einem durch Reizwirkung veranlassten Zusammenwandern zu unterscheiden. Doch ist zu beachten, dass in diesen wie in anderen Fällen eine scheinbare Anhäufung in der Capillare zu Stande kommen kann, indem in dieser die Bakterien in der zunächst gebotenen Dichte sich einfinden, während die umgebende Flüssigkeit allmählich viel ärmer an Bakterien (oder anderen Organismen) wird, wenn diese sich mit der Zeit am Rande des Flüssigkeitstropfens anhäufen.

In weiteren Capillaren bringt freilich das mechanische Ausfließen eine schnellere Verdünnung der Versuchsflüssigkeit im Capillarmunde zu Stande, doch hatte ich für meine Zwecke keine Veranlassung, etwa durch Verticalstellung der Capillare diesen Fehler zu vermeiden.

Ein mechanisches Hervortreiben resp. Einsaugen von Flüssigkeit in die Capillare würden auch Temperaturdifferenzen erzielen, die indess leicht so weit zu vermeiden sind, dass Fehler von Bedeutung nicht entstehen.

Bei Übereinstimmung der in der Capillare befindlichen Flüssigkeit mit dem Außenmedium dringen manche Organismen leicht und so lange in die Capillare ein, bis sie innerhalb und außerhalb gleich dicht gesät sind, während andere Organismen nur vereinzelt und theilweise mit gewissem Widerstreben ihren Weg in die Capillare nehmen. Diese Unterschiede, deren ich schon früher¹⁾ gedachte, bieten auch die hier benutzten Objekte. So dringen z. B. *Bacterium termo*, *Chlamydomonas*, *Bodo saltans* leicht in eine Capillare, etwas weniger leicht tritt *Spirillum udula* ein und *Euglena hyalina* gelangt, ohne Reizmittel, kaum einmal in eine Capillare. Da dieser Eintritt im allgemeinen mit Verengung der Capillare erschwert wird, ist es dieserhalb (aber auch mit Rücksicht auf den Austritt des gelösten Stoffes) geboten, bei vergleichenden Versuchen auf annähernd gleichen Durchmesser der Capillaren zu achten.

Macht Ein- und Austritt keine Schwierigkeiten, so kommt natürlich eine Anhäufung in der Capillare zu Wege, sobald nur der Austritt gehemmt wird, mag dieses nun durch Festhaften, durch anderweitige Hemmung der Bewegung, oder durch Tödtung erzielt werden. Der Anhäufung durch solche Ursachen, die übrigens von ausgesprochener Reizlockung zumeist leicht zu

1) L. c. p. 435, 454.

unterscheiden ist, wurde schon in meiner früheren Arbeit mehrfach gedacht¹⁾. Dieserhalb müssen übrigens auch die Wände der Glascapillaren rein gehalten werden, insbesondere bei Organismen, die, wie z. B. *Bodo saltans*, leichter haften bleiben.

Von wesentlicher Bedeutung für die Reaktion ist das Vorhandensein von reizend wirkenden Stoffen in der Außenflüssigkeit. Diese kann aber bei Bacterien nicht ganz frei von Nährstoffen sein, da bei Mangel an Nahrung die Bewegung verlangsamt und damit die Reaktionsfähigkeit herabgedrückt wird. Immerhin kann oft, z. B. bei *Bacterium termo*, der Nährstoffgehalt in der Außenflüssigkeit auf ein Minimum herabgedrückt werden, so dass schon sehr verdünnte Reizmittel (z. B. 0,001 % Fleischextrakt) eine Anlockung erzielen. In anderen Fällen, wie z. B. bei den Cholerabacillen, ist etwas mehr Nährmaterial geboten, oder es bringen auch die Culturbedingungen mit sich, dass sich die Organismen in einer nährstoffreicheren Flüssigkeit befinden. Je mehr Reizwirkung diese Stoffe ausüben, um so höher ist die Concentration der Capillarflüssigkeit zu wählen, um eine merkliche Anlockung zu erhalten.

Dieser Schwellenwerth wird also, bei Gegenwart von reizenden Stoffen in der Außenflüssigkeit, etwas zu hoch gefunden²⁾ und es ist natürlich für vergleichende Beobachtungen von Bedeutung, dass die umgebende Flüssigkeit immer dieselbe Reizwirkung auf die Organismen ausübt. Eine solche Übereinstimmung ist durch Ermittlung des Schwellenwerthes gegen eine bestimmte Lösung zu controliren und umgekehrt kann man auf die von einer Flüssigkeit ausgehende Reizwirkung schließen, indem man Organismen bekannter Reizbarkeit hinzufügt und für diese den Schwellenwerth gegen einen bestimmten Reizstoff ermittelt. Überall wo es Interesse hatte, ist auf diese Weise die übereinstimmende Qualität der zu verschiedener Zeit benutzten Culturen controlirt oder der Reizwerth einer Culturflüssigkeit bestimmt.

Für die Bestimmung der Anziehung und des Schwellenwerthes ist es aber von keiner Bedeutung, dass nach Anhäufung von Bacterien u. s. w. in der Capillare sich mit der Zeit der Sauerstoffmangel der Lösung in der Vertheilung der Organismen geltend macht.

Einer näheren Aufhellung bedarf noch eine Erscheinung, welche ich öfters an *Bacterium termo*, nicht aber an anderen Organismen beobachtete. Gleich nach Zusehien einer mit Wasser oder auch mit einem nicht anlockenden Stoff gefüllten Capillare trat sehr gewöhnlich eine geringe und sehr bald verschwindende Ansammlung um den Capillarmund ein. Mit einer nachhaltigeren Anziehung durch Reizwirkung ist diese vorübergehende Anziehung nicht wohl zu verwechseln, doch erschwert sie immer-

1) L. c. p. 435, 442.

2) Übrigens bringt auch schon die Diffusion mit sich, dass zu merklicher Reaktion eine höhere Concentration nöthig ist, als es bei Mangel einer Diffusionszone, also bei unvermitteltem Abfall der Concentration auf Null der Fall wäre.

hin etwas die Bestimmung der Reizschwelle, eine Bestimmung, welche in allen Fällen nur eine gewisse, aber für unsere Zwecke ausreichende Präcision gestattet.

Diese vorübergehende geringe Anziehung trat auch nach gutem Auswaschen der Capillare ein; da sie indess nach mehrtägigem Liegen der Capillaren in Wasser nicht zu bemerken war, könnte wohl die Wirkung von Stoffen abhängen, die an der Glaswand durch anziehende Kräfte festgehalten und nur schwierig durch Wasser entfernt werden. Bei der großen Empfindlichkeit der Bacterien gegen gewisse Körper könnte man vielleicht diese Organismen auch zum Nachweis der durch Attraktion festgehaltenen Stoffe benutzen.

III. Die benutzten Organismen.

Handelt es sich um Bestimmung der Reizschwelle oder um Constatirung einer schwach anziehenden Wirkung, so müssen sich die zu prüfenden Organismen in einer Flüssigkeit befinden, welche thunlichst arm an Nährstoffen ist. Ferner kann man auf Verwendung von Reinculturen nur dann verzichten, wenn die Organismen schon bei schwächerer Vergrößerung in unzweifelhafter Weise zwischen anderen zu erkennen und zu verfolgen sind.

Diesen Bedingungen entsprechend erhält man Bacterien, indem man die auf festem Substrat gebildeten Anhäufungen in Wasser vertheilt. Ich benutzte durchgehends die in bekannter Weise auf üblichem Agar-Fleisch-pepton¹⁾ in Reagenröhren erzeugten Reinculturen, von denen ein kleines Quantum mit Hülfe eines Platinspatels entnommen wurde. Mit dieser Bacterienmasse wird nur eine geringfügige Menge von Nährstoffen in die genügend verdünnte Versuchsflüssigkeit gebracht, wie unmittelbar daraus hervorgeht, dass schon sehr verdünnte Lösungen wirksamer Körper eine anziehende Wirkung ausüben.

Trotz dieser weitgehenden Verdünnung der Nährstoffe blieben doch *Bacterium termo* und *Spirillum rubrum* mehrere Stunden aufs beste bewegt. Auch wurde nach dieser Zeit, und ebenso für eine verschiedenen Culturen entnommene Bacterienart die Reizschwelle gegen denselben Körper unverändert gefunden. Übrigens wurde die Bacterienflüssigkeit sogleich nach der Herstellung und nur so lange benutzt, als die Organismen aufs beste bewegt waren. Häufig hielt ich auch einen Theil der Flüssigkeit bei +2—3° C., um dann nach 2—3 Stunden und nachdem die Flüssigkeit auf Zimmertemperatur gebracht war, die Versuche mit den so conservirten Bacterien fortzusetzen.

1) Dasselbe war nach LÖFFLER hergestellt. Vergl. HÜPPE, Methoden d. Bacterienforschung, III. Aufl. 1886. p. 114.

Da die Bewegung der Typhus- und Cholerabacillen leichter leidet, so wurde diesen Objekten eine Spur Fleischextrakt zugefügt.

Während vollständige Reincultur natürlich Voraussetzung ist, hat es keine Bedeutung, wenn in die hergestellte Versuchsflüssigkeit einzelne fremde Bacterien gelangen, die in der kurzen Benutzungszeit sich nicht so vermehren, dass sie irgend störend in die Beobachtungsergebnisse eingreifen könnten.

In besagter Weise wurden *Bacterium termo*, *Bacillus subtilis*, *Spirillum rubrum*, *Bacillus typhi abdominalis*, *Spirillum cholerae asiaticae*, *Spirillum Finkler-Prior*, *Spirillum tyrogenum* und das MILLER'sche Zahnspirillum benutzt. Das bis dahin auf festem Nährboden nicht cultivirbare, aber eingehender untersuchte *Spirillum undula* kam in unreiner Cultur zur Verwendung, ebenso *Spirillum tenue*, *serpens*, *volutans*, die weniger eingehend studirt wurden.

Von etwas größeren Organismen, wie Flagellaten und Infusorien, welche durch ihre Bewegungen störend eingreifen, lassen sich in unreiner Cultur die Bacterien durch Filtration trennen. Dabei bleiben, namentlich bei Anwendung von sehr dichtem Papier, ziemlich viel Bacterien auf dem Filter zurück, die, etwas abgewaschen und mit Wasser vom Filter gespült, nunmehr in nährstoffarmem Wasser zur Verfügung stehen. In gleicher Weise wurden auch öfters Flagellaten und Infusorien aus Nährlösung in Wasser übertragen.

Am eingehendsten wurden *Bacterium termo* und *Spirillum undula*, von Flagellaten *Bodo saltans* untersucht. Die Versuche mit anderen Organismen hatten entweder den Zweck, über Existenz oder Mangel chemischer Reizbarkeit zu entscheiden, oder zu prüfen, ob und in wie weit eine mit den zuerst genannten Arten übereinstimmende Reizbarkeit vorhanden war.

Bacterien.

Bacterium termo, Ehrbg. So mag das von mir benutzte Bacterium genannt werden, welches bei Fäulnis eines in Wasser liegenden Stengelstückes von *Vicia faba* aufgetreten, in üblicher Weise durch zweimalige Plattencultur in Nährgelatine isolirt und dann auf Agar-Fleischpepton in Reincultur gehalten wurde.

In Gestalt und Vermehrungsweise stimmt unser *Bacterium* mit dem von CONN¹⁾ näher beschriebenen *Bacterium termo* überein und entspricht in seinen Wuchsverhältnissen in 40 % Nährgelatine HAUSER's²⁾ *Proteus vulgaris*, d. h. unser *Bacterium* wächst sehr schnell unter Bildung von verflüssigten Näpfchen, verbreitet in Nährgelatine cultivirt Fäulnisgeruch und vermag auch in etwas angesäuerter Gelatine zwar langsamer, aber

1) Beiträge zur Biologie. Bd. I. 1872. Heft II. p. 468.

2) HAUSER, Über Fäulnisbacterien. 1885. p. 47.

doch verhältnismäßig gut fortzukommen. Auch in nicht zu saurer COHN'scher Nährlösung gedeiht unser *Bacterium* ganz gut, während HAUSER für seinen *Proteus vulgaris* nur ganz schwaches Wachsthum fand; doch muss dahin gestellt bleiben, ob nicht vielleicht ungleiche saure Beschaffenheit oder andere Umstände dieses verschiedene Resultat herbeiführten.

Wahrscheinlich dürfte das COHN'sche *Bacterium termo* eine Anzahl Arten umfassen, doch sind HAUSER's Untersuchungen, wie schon DE BARY ¹⁾ hervorhob, nicht geeignet, diese Frage zu entscheiden, und so ziehe ich es um so mehr vor, die alte Bezeichnung beizubehalten, als zur Aufstellung des Genus *Proteus* gar kein Grund vorliegt.

Auf Agar-Fleischpepton wächst unser *B. termo* sehr gut und bildet bei Zimmertemperatur schon nach 1 bis 2 Tagen eine knopfartig hervorgeschoebene Masse über dem Impfstich, um sich mit der Zeit über die ganze Oberfläche des Agars im Reagenrohr zu verbreiten. Das Untersuchungsmaterial wurde immer nur Culturen entnommen, in denen die besagte Ausbreitung noch nicht eingetreten war. In dem so gewonnenen Material waren fast alle Individuen beweglich und stimmten mit dem überein, was COHN ²⁾ über Gestaltung und Bewegung von *B. termo* sagt. Unser *Bacterium* besteht also aus einzelnen oder paarweise verbundenen Zellen und bewegt sich im allgemeinen langsamer oder schneller unter Achsendrehung abwechselnd rückwärts und vorwärts.

Große Reizbarkeit, bei geringer Empfindlichkeit gegen concentrirte Lösungen machen unser *Bacterium* zu einem werthvollen Untersuchungsobjekte. Übrigens sind zu orientirenden Versuchen auch die gewöhnlichen Fäulnisbacterien gut geeignet, und indem man z. B. ein Stückchen Pflanzenstengel in Wasser faulen lässt, erhält man ein zur Demonstration geeignetes Untersuchungsmaterial. Mit unreiner Cultur von *B. termo* wurden auch meine früheren Versuche ausgeführt ³⁾. — So weit eine beiläufige Prüfung ein Urtheil gestattet, reagirten im wesentlichen wie unser *Bacterium* die Organismen, welche, nach ihrer Wachstumsweise in Gelatine, mit *Proteus mirabilis* und *Zenkeri* HAUSER's übereinstimmten.

Spirillum undula (MÜLLER), welches in faulenden Algen, Cloakenschlamm u. s. w. häufig auftritt, ist besonders werthvoll, weil es, bei ungefähr gleicher Empfindlichkeit wie *B. termo*, concentrirtere Lösungen flieht. Dabei ist *Spirillum undula* sehr flink, schießt eine Strecke unter Achsendrehung fort, um nach kurzer Pause von neuem in derselben oder in umgekehrter

1) Vorlesungen über Bacterien. II. Aufl. 1887. p. 150. Anmerk. 52. — Aus SCHEDTLER's Beobachtungen (VIRCHOW's Archiv f. pathol. Anatomie. Bd. 108. 1887. p. 43) geht hervor, dass die von HAUSER beobachteten Wachstumsverhältnisse nicht zur Trennung von *Proteus mirabilis* und *Zenkeri* berechtigen.

2) L. c. p. 169.

3) Untersuch. a. d. bot. Inst. in Tübingen. Bd. I. p. 450.

Richtung fortzueilen. Vermöge der flinkeren Bewegung kann sich *Sp. undula* schneller ansammeln als *B. termo* und ist durch Größe und Gestalt so auffällig, dass sein Verhalten vollständig bei Gegenwart kleiner Bacterien ermittelt werden kann. In solcher Gesellschaft kam auch *Sp. undula* zur Verwendung, das, wie früher¹⁾, in Wasser mit Stückchen eines Wurmes cultivirt wurde. Als Aussaat diente in später zu beschreibender Weise eingefangenes und von anderen Bacterien thunlichst befreites *Sp. undula*, das bei mittlerer Temperatur sich entweder sogleich oder nach einiger Zeit in relativ ansehnlicher Menge einzustellen pflegte. Eine gelungene Cultur kann man durch Einstellen in den Eisschrank 2 bis 3 Wochen lang in einem brauchbaren Zustande erhalten. Es ist nicht schwer, bei genügenden Vorsichtsmaßregeln das Auftreten größerer Organismen in den Culturen zu vermeiden.

Die Gleichwerthigkeit verschiedener Culturen in Bezug auf die Reizschwelle wurde dadurch controlirt, dass eine merklich werdende Ansammlung von *Sp. undula* eintrat, wenn als Capillarflüssigkeit Trikaliumphosphat mit 0,04 % Kalium zur Anwendung kam. Ohne die Anwesenheit gelöster Stoffe in der Culturflüssigkeit würde die Reizschwelle sich ungefähr so wie für *B. termo* gestalten, d. h. für Trikaliumphosphat mit 0,004 % Kalium erreicht sein. Thatsächlich trat nämlich für diese Concentration merkliche Reaction ein mit *Sp. undula*, welches durch Aufsammeln auf einem Filter in der gekennzeichneten Weise von Nährlösung thunlichst befreit worden war. Übereinstimmend damit bedurfte es einer Trikaliumphosphatlösung mit 0,04 % Kalium, um eben merklich *Bacterium termo* anzulocken, das in die aufgekochte und wieder erkaltete Culturflüssigkeit des *Sp. undula* aus einer Agarcultur übertragen worden war.

Bacillus subtilis (Ehrbg.) wurde mittelst Plattencultur aus den Bacterien rein gezüchtet, welche in einem Heuaufguss erschienen, der während 40 Minuten gekocht war, und dann auf Agar-Fleischpepton cultivirt. Die um den Impfstich nach 24 Stunden bei 25 — 28 % erschienenen Bacillen waren zum größten Theil gut bewegt. Da aber bei Aufenthalt in Wasser die Bewegung ziemlich bald nachließ, wurde die Bacterienflüssigkeit nach 4 bis 4½ Stunden durch neu hergestellte ersetzt. Näheres über diesen *Bacillus* und seine Bewegungen ist bei COHN²⁾ zu finden.

Spirillum rubrum ESMARCH³⁾. Dieses auf festem Nährboden wachsende *Spirillum* ist durch seine Empfindlichkeit und schnelle Bewegung ein sehr gutes Untersuchungsobjekt, welches ich indess nicht sehr ausgedehnt benutzte, weil ich dieses *Spirillum*, durch die Güte des Entdeckers, erst erhielt, als meine Untersuchungen abgeschlossen waren. Auf Agar-

1) L. c. p. 450.

2) L. c. p. 475.

3) ESMARCH in Centralbl. f. Bacteriol. u. Parasitenkunde. Bd. I. 1887. p. 225.

Fleischpepton erschien bei 30 — 32° C. nach 5 Tagen eine genügende Menge am Impfstich, um Material zum Übertragen in Wasser abheben zu können. So gewonnen, besitzen die Individuen nur 1 bis 3 Windungen, während sie bei Cultur in Fleischbrühe bis zu 30 Windungen erreichen.

Auf Agar-Fleischpepton wurden, wie schon bemerkt, noch erzogen *Bacillus typhi abdominalis*, *Spirillum cholerae asiaticae*, *Spirillum Finkler-Prior*, *Spirillum tyrogenum* und *Miller's Zahnspirillum*. Dieses Material verdanke ich Herrn Professor NAUWERK. Die Cholera bacillen stammten aus der Epidemie in Finthen bei Mainz¹⁾. Bezüglich der Eigenschaften und Bewegungen dieser Bacterien sei auf die entsprechenden Handbücher, z. B. auf FLÜGGE, die Mikroorganismen, verwiesen. Beiläufig will ich nur erwähnen, dass es nach dem Einlegen in Sublimatlösung, der langsamen Hydrodiffusion halber, ziemlich lange dauert, ehe die tief in die Capillare eingewanderten Bacterien getödtet sind. Um dieses sicher zu erreichen, ist also langes Liegen oder Aufkochen geboten.

Spirillum tenue (EHRBG.), über welches Näheres bei COHN²⁾ nachzusehen ist, hatte sich in großer Menge in Wasser eingefunden, in welchem alte Stengelstücke von *Vicia faba* lagen. Das Filtrat enthielt neben viel *Sp. tenue* eine mäßigere Menge von *Sp. serpens* und relativ wenig von *Sp. undula*, *Bact. termo* und anderen kleinen Bacterien. Das sehr schnell bewegte *Sp. tenue* sammelt sich sehr schnell um gute Reizmittel und giebt *Bact. termo* nicht viel nach. Wenigstens kam durch 0,4 procentiges Fleischextrakt eben merkliche Ansammlung von *Sp. tenue* und ebenso von *Bact. termo* zu Stande, als letzteres der aufgekochten und erkalteten Nährflüssigkeit des *Sp. tenue* zugesetzt worden war.

Spirillum serpens (MÜLLER) (*Vibrio serpens* MÜLLER) kam außer im Vereine mit *Sp. tenue* in einer Cultur zur Verwendung, in welcher sich nur wenig andere Bacterien befanden. Diese relativ sehr reine Cultur war zufällig in einem Wasser entstanden, in welchem eine Anzahl lebender Farnprothallien submers gehalten worden waren. Unter diesen Umständen enthielt das Wasser nicht viel reizende Stoffe und *Bact. termo* wurde darin durch 0,04 procentige Lösung von Fleischextrakt noch merklich angelockt. In der Gestaltung stimmte dieses *Sp. serpens* mit dem im Vereine mit *Sp. tenue* beobachteten Individuum, doch muss ich dahin gestellt sein lassen, ob beide wirklich identisch waren. Allem Anscheine nach war wenigstens das durch die Farnprothallien ernährte *Sp. serpens* wesentlich weniger empfindlich.

Spirillum volutans EHRBG.³⁾ Dieses größte *Spirillum* war massenhaft entstanden in Cloakenschlamm, der seit 2 Monaten mit Wasser übergossen

1) Vergl. GAFFKY, Centralbl. f. Bacteriol. u. Parasitenkunde. Bd. II. 1887. p. 508.

2) L. c. p. 484.

3) Näheres bei COHN l. c. p. 484. — Dieses *Spirillum* dürfte doch wohl eine selbständige Art sein. Vgl. dagegen ZOPF, Zur Morphologie d. Spaltpflanzen. 1882. p. 43.

stand, und kam direkt zur Prüfung, nachdem mittelst Filtriren durch grobes Papier andere größere Organismen beseitigt waren. Der Stoffgehalt der Lösung bewirkte, dass *B. termo* durch Chlorkalium mit 0,04 % Kalium (statt 0,004 %) angelockt wurde.

Spirochaete plicatilis EHRBG. kam gelegentlich in Sumpfwasser zur Beobachtung; *Spirochaete Cohnii* WINTER wurde nebenbei nach Vertheilen von Zahnschleim in Wasser geprüft. Auch für manche andere nicht vorher bestimmte Bacterien wurde öfters eine Anlockung beobachtet.

Flagellaten und Volvocineen.

Bodo saltans EHRBG. Mit Abbildung und Beschreibung dieser Flagellate stimmt ein vielfach benutzter Organismus¹⁾, welcher in Tübingen häufig in Infusionen auftrat. Cultivirt wurde *Bodo saltans* in Wasser, in welchem einige abgekochte Stückchen des Keimstengels von *Vicia faba* sich befanden. Nach 24 Stunden ersetzte ich dieses Wasser nochmals durch neues, um die Menge der gelösten Stoffe herabzudrücken. Der sich sehr schnell vermehrende Organismus war dann meist schon nach weiteren 24 Stunden in so reichlicher Menge vorhanden, dass ein beliebig herausgenommener Wassertropfen oder ein Wassertropfen, welchen man von den herausgehobenen Pflanzentheilen abtropfen ließ, eine genügende und oft eine solche Menge von Individuen enthielt, dass ich mit Wasser verdünnen musste.

So gewonnen, enthielt die Flüssigkeit nur wenig reizende Stoffe, da durch Trikaliumphosphat bei einem Gehalt von 0,004 % Kalium eine eben merkliche Anlockung von *Bodo saltans* sowie vom zugefügten *B. termo* eintrat. Außer kleinen Bacterien, die bei mäßiger Menge nicht stören, enthielten meine Culturen keine anderen größeren Organismen. Es war dieses erreicht, indem in später zu beschreibender Weise eingefangene Individuen zur Aussaat dienten und durch entsprechende Vorsichtsmaßregeln für Fernhalten von Infusorien u. s. w. weiterhin gesorgt wurde²⁾.

Die Schwimmbewegung unseres Organismus scheint bisher nicht richtig erkannt zu sein und müssen deshalb einige Worte über diese Bewegung hier gesagt werden. *Bodo saltans* hat, abgesehen davon, dass er weniger flach gedrückt ist, die Form eines Bohnensamens, dessen Nabel mehr excentrisch, dem bei *Bodo* im Schwimmen vorausgehenden Ende genähert, gelegen ist. An dieser eingebuchteten Stelle, in der Nähe des Mundes, sind 2 Wimpern angebracht, von denen die eine nach vorn, die andere fast doppelt so lange rückwärts gerichtet ist. Letztere, die sog. Schleppeiße (Guber-

1) STEIN, Organismus d. Infusionsthier. Bd. III. 1878. Abth. 4. Taf. II; KENT, Manual of the Infusoria. 1880—84. p. 433. Die Bodoninen sind aber systematischer Aufhellung sehr bedürftig. Vergl. FISCH, Untersuch. über einige Flagellaten. 1885. p. 102.

2) Beiläufig sei bemerkt, dass bei gleichzeitiger Gegenwart von *Chilomonas Paramecium* sich vorwiegend *Bodo saltans* entwickelt, wenn die Cultur bei 10—15° C. gehalten wird, während bei 25—35° C. *Chilomonas* die Oberhand gewinnt.

naaculum), wird beim Schwimmen nachgeschleppt, während allein die kürzere nach vorn gerichtete Geißel das aktive Bewegungsorgan zu sein scheint.

Beim Schwimmen im offenen Tropfen auf dem Objektträger schreitet *Bodo* mehr oder weniger geradlinig fort, während er zugleich hin und her schaukelt wie ein Kahn, dessen Belastung abwechselnd auf der rechten und linken Seite verstärkt wird. Die mit Wimpern besetzte Bauchseite bleibt dabei aufwärts, d. h. nach dem Objektiv gewandt, es findet also während der fortschreitenden Bewegung keine Achsendrehung statt, die außerdem gewöhnlich und nach BÜTSCHLI¹⁾ bei frei schwimmenden Flagellaten ausnahmslos sein soll, während bei den Dinoflagellaten (Peridiniën) auch Bewegungen ohne Drehung um die Achse vorkommen²⁾.

Vielleicht führt sich der Mangel der Achsendrehung darauf zurück, dass der Schwerpunkt des Organismus genügend excentrisch, d. h. nach der dickeren Rückenseite gelegt ist und die mit der Wimperarbeit erzeugten Drehungsbestrebungen zur Erzielung der Schaukelbewegungen, aber nicht zur vollen Umdrehung des Körpers ausreichen.

Im offenen Tropfen bleibt *Bodo saltans* stundenlang in guter Bewegung, bei Gegenwart von Pflanzenstückchen, Detritus aller Art u. s. w., kommt häufig ein Anhaften, wohl immer durch die Schleppeiße, zu Stande. Die so festgehaltenen Individuen führen dann intermittierend einmalige oder wiederholte schnellende Bewegungen aus, die häufig zu einem Losreißen führen. Aus gleichen Gründen haftet auch *Bodo* oft massenhaft an Pflanzentheilen, die ohnehin durch Ausscheidung von Stoffen anlockend wirken. Wird übrigens auf Reinheit des Flüssigkeitstropfens, des Objektträgers, sowie der Capillare geachtet und letztere nicht zu eng gewählt (0,1—0,2 mm), so kommt ein störendes Festhaften nicht zu Wege. Unter solchen Umständen ist *Bodo saltans* bei seiner hohen Empfindlichkeit ein sehr brauchbares Versuchsobjekt.

Der Nahrungsgewinn wurde für *Bodo saltans* nicht näher verfolgt, doch dürfte wohl, wie bei *Bodo jaculans*³⁾ und wohl bei den meisten Bodoninen und Monadinen, eine Aufnahme fester Körper stattfinden.

Bodo ovatus (DUJ.) (*Heteromita ovata* DUJ.), *Bodo caudatus* (DUJ.) und *Monas guttula* (EURBG.) dienten nur zu wenigen Versuchen. Im übrigen waren diese Organismen in ähnlichen Culturen wie *Bodo saltans* erwachsen.

Trepomonas agilis DUJ. und *Polytoma uvella* EURBG. hatten sich gemeinschaftlich in Menge in länger gestandenem Cloakenschlamm gebildet. Sie kamen nach Auswaschen auf einem Filter in fast reinem Wasser zur Untersuchung.

1) Protozoa in BRONN's Klassen u. Ordnungen d. Thierreichs. Bd. 4. 1880. p. 853.

2) BÜTSCHLI l. c. p. 962.

3) Vergl. FISCH, Untersuch. über einige Flagellaten. 1880—81. p. 104 u. BÜTSCHLI, l. c. p. 697.

Trepomonas agilis ist ein um Tübingen häufiger Organismus, welchen man mit Hilfe der zu beschreibenden Fangmethode (Kap. X) aus fast allen schlammigen Gewässern, Canälen, Cloaken erhalten kann. Über den Bau dieser merkwürdigen Flagellate wird Dr. KLEBS näheres berichten und auch nachweisen, dass *Trepomonas*, was schon BÜTSCHLI¹⁾ vermuthete, feste Nahrung aufnimmt.

Bei *Polytoma uvella* reagierten die in Theilung begriffenen, sowie die mit Hülle²⁾ versehenen Individuen in gleicher Weise wie die übrigen Exemplare.

Es ist hier nicht nöthig, die ohnehin noch nicht genügend aufgeklärten Verwandtschaftsverhältnisse der Chlamydomonaden und Flagellaten zu discutiren³⁾. Erwähnt mag indess werden, dass *Polytoma uvella* eine farblose *Chlamydomonas* ist, sowie es ja auch chlorophyllfreie und chlorophyllführende Euglenen giebt⁴⁾. Mit *Chlamydomonas pulvisculus* (und *obtusa*) hat *Polytoma* auch die früher von mir⁵⁾ beschriebene Reizbarkeit der Wimpern gemeinsam, welche immerhin ein wenig das Einwandern in Capillaren erschweren kann.

Chlamydomonas pulvisculus EHRBG. wurde, wie früher⁶⁾, auf Torfstückchen cultivirt. So kamen nach dem Einlegen der Torfstückchen in Wasser gleichzeitig vegetative Individuen und die flinker copulationsfähigen Gameten zur Beobachtung. Dabei war die Flüssigkeit arm an Salzen, so dass zugefügtes *B. termo* durch Chlorkalium mit 0,04 % Kalium stark angelockt wurde.

Chlamydomonas obtusa A. BR. (RABENH. Flora algarum III, p. 95) war zufällig in einer Algencultur aufgetreten und wurde nur in vegetativen Exemplaren geprüft, ebenso *Pandorina morum*. — Bei Versuchen mit solchen phototaktischen Organismen muss natürlich dafür gesorgt werden, dass einseitige Beleuchtung nicht störend eingreift.

Hexamitus. Über diese mit Metabolie begabten, noch wenig bekannten Organismen aus dem Verwandtschaftskreis von *Trepomonas* wird Dr. KLEBS nähere Mittheilungen machen. Eine Art, die wohl mit *H. rostratus* STEIN⁷⁾ übereinstimmen dürfte, erwies sich stark chemotaktisch, während *H. inflatus* DUJ. nicht so empfindlich war und *H. intestinalis* nur unsichere Spuren einer chemischen Reizbarkeit zeigte. Die letztgenannte Art stammte

1) Zeitschr. f. wiss. Zoologie. Bd. 30. 1878. p. 236.

2) Abbildung bei STEIN, Organismus d. Infusionsthier. 1878. III, 4. Taf. XIV, Figg. 12 u. 13.

3) Vergl. darüber BÜTSCHLI in BRONN'S Klassen u. Ordnungen d. Thierreichs. Bd. I. 1880. p. 830, u. KLEBS, Untersuch. aus dem bot. Institut in Tübingen. Bd. I. p. 334, 359.

4) Vergl. KLEBS l. c. p. 340.

5) Untersuch. aus dem bot. Institut in Tübingen. Bd. I. p. 444.

6) PFEFFER l. c. p. 444.

7) STEIN, Organismus d. Infusionsthier. 1878. III, 4. Taf. III.

aus dem Darminhalt einer Kröte¹⁾, die beiden anderen Arten wurden vielfach in Schlamm von Canälen, Gruben, Cloaken um Tübingen gefunden und durch einen Wurm als Köder eingefangen (vgl. Kap. X). *H. rostratus* ist bei seiner Empfindlichkeit und Schnelligkeit ein ausgezeichnetes Objekt, welches *Bodo saltans* vorzuziehen sein würde, wenn es leichter rein zu cultiviren wäre. So habe ich mich auf Prüfung der Reizbarkeit von *Hexamitus* in einer Nährstoffe enthaltenden Flüssigkeit beschränkt.

Auch *Hexamitus* nimmt nach den Beobachtungen von KLEBS feste Nahrung auf.

Tetramitus rostratus PERTY. Dieser Organismus, welcher in Masse in verdünnter Mistjauche aufgetreten war, erwies sich, auch nachdem er durch Abwaschen auf einem Filter in reines Wasser gebracht war, unempfindlich gegen chemische Reize.

Euglena hyalina KLEBS²⁾. Diese in faulendem Schlammwasser häufige *Euglena* hat deutliche chemotaktische Eigenschaften, ist aber kein gutes Untersuchungsobjekt, weil leicht Ruhezustände eintreten.

Unter den farblosen Flagellaten konnte keine sichere chemische Reizbarkeit für **Astasia proteus**³⁾ STEIN und **Chilomonas paramecium** EHRLICH gefunden werden und ebenso erwiesen sich alle untersuchten grünen Flagellaten als nicht chemotaktisch. Es sind die folgenden:

Cryptomonas ovata EHRLICH.; *Euglena viridis* EHRLICH.; *E. oxyuris* SCHMARDT.; *Trachelomonas hispida* STEIN.; *Phacus longicaudus* EHRLICH.; *Chromophyton Rosanoffii* WORONIN (in Schwärmzuständen); *Gleoniidium pulvisculus* EHRLICH.

Negative Resultate wurden auch erhalten mit allen Infusorien, so mit folgenden: a) *Holotricha*: *Paramecium aurelia* MÜLL.; *P. bursaria* MÜLL.; *Glaucocoma scintillans* EHRLICH.; *Colpidium colpoda* EHRLICH.; *Lionotus fascicola* EHRLICH.; *Coleps hirtus* MÜLL.; *Lacrimaria olor* MÜLL.; — b) *Hypotricha*: *Urostyla Weissii* STEIN.; *Pleurotricha grandis* STEIN.; *Stylonycha mytilus* MÜLL.; *Euplotes Charon* EHRLICH.; — c) *Peritricha*: *Astylozoon fallax* ENGELM.

Alle diese Organismen kamen in sehr nährstoffarmer Flüssigkeit zur Prüfung. Außerdem verhielten sich noch andere, nicht bestimmte Infusorien indifferent und es scheint, dass diesen Organismen, abgesehen von der Reizbarkeit durch Sauerstoff, chemotaktische Reizbarkeit der Regel nach abgeht, da sich in keinem Falle Infusorien in Capillaren mit Reizmitteln ansammelten.

1) Vergl. SELIGO in CORN, Beiträge zur Biologie. Bd. 4. 1887. p. 148.

2) Untersuch. aus dem bot. Institut in Tübingen. Bd. I. p. 294.

3) Diese STEIN'sche Bezeichnung ist wohl ein Sammelname für die Repräsentanten des noch nicht gesichteten Genus *Astasia* (vergl. KLEBS l. c. p. 322 und SELIGO l. c. p. 165).

IV. Versuche mit *Bacterium termo*, *Spirillum undula* und *Bodo saltans*.

Diese 3 Arten wurden am eingehendsten studirt und sollen um so mehr zunächst für sich besprochen werden, als die mit anderen Organismen erhaltenen Resultate sich leicht anschließen lassen. Alle drei Arten sind in hohem Grade chemotaktisch, doch ist bei Beurtheilung der empirisch angegebenen Schwellenwerthe zu beachten, dass *Bacterium termo* und *Bodo saltans* sich in fast reinem Wasser befanden, während bei *Spirillum undula* der Stoffgehalt der Umgebung es mit sich brachte, dass mit Trikaliumphosphat eine eben sichtbare Reaktion bei einem Kaliumgehalt von 0,04 % gefunden wurde, während zu gleichem Erfolge aber nur ein Kaliumgehalt von 0,004 % nöthig wäre, wenn sich *Spirillum undula* in reinem Wasser befände (vgl. S. 588).

Ergiebt sich, unter Berücksichtigung des eben Gesagten, z. B. für Trikaliumphosphat ein ungefähr gleicher Schwellenwerth für diese 3 Arten, so besteht doch ein Unterschied im Verhalten gegen concentrirte Lösungen. Diese wirken nämlich auf *Bacterium termo* nur in geringem, auf *Spirillum undula* und *Bodo saltans* aber in hohem Grade abstoßend. Säuren und Alkalien üben aber auch auf *B. termo* eine repulsive Wirkung aus und dieserhalb müssen saure und alkalische Lösungen bei Prüfung auf Anziehung vermieden werden.

Auf die Repulsion soll erst später näher eingegangen werden, doch ist schon hier den Thatsachen einige Rechnung zu tragen. Nimmt die Abstoßung mit wachsender Concentration der Lösung schneller zu als die Anziehung, so dringen die chemotaktischen Organismen nur bis in diejenige Zone der sich diffundirend ausbreitenden Flüssigkeit vor, in welcher sich Anziehung und Abstoßung das Gleichgewicht halten. Da aber mit fortschreitender Diffusion die Flüssigkeit im Capillarmund verdünnter wird, nähern sich diesem mit der Zeit die angelockten Organismen mehr und mehr und werden schließlich in die Capillare ihren Weg finden. Diese thatsächlich leicht zu beobachtenden Erscheinungen beweisen also gleichzeitig die Existenz einer Anziehung und einer mit der Concentration auftretenden, resp. zunehmenden Repulsion.

Bei ausschließlich repulsiver Wirkung eines Stoffes würden die Organismen die Diffusionszone fliehen, wie das z. B. bei Alkohol zutrifft, doch ist eine schwache Repulsion, ohne Mitwirkung einer Anziehung, schwieriger sicher zu erkennen. Falls sich Anziehung und Abstoßung bei allen Concentrationen eines Körpers das Gleichgewicht halten, so muss ein Stoff als wirkungslos erscheinen. Ist aber die Attraktion eines Körpers so schwach, dass erst mit höherer Concentration eine Anziehung zur Geltung kommen könnte, so tritt eine Anziehung niemals hervor, wenn in solcher Concentration die repulsive Wirkung überwiegt. Aus diesem Grunde

bringen verschiedene schwächere Reizmittel wohl eine Anziehung auf *B. termo* hervor, während für die gegen Concentration ungleich empfindlicheren Organismen (*Sp. undula*, *Bodo*) keine anziehende Reizwirkung zu finden ist. Aus gleichen Gründen muss auch überhaupt bei wenig reizbaren Organismen eine angestrebte, aber erst bei höherer Concentration genügende Reizwirkung der Beobachtung entgehen, sobald mit der zur Schwelle notwendigen Concentration die abstoßende Wirkung dominirend wird.

Den in der Beobachtung zur Geltung kommenden Thatsachen ist in den tabellarischen Übersichten Rechnung getragen, in welchen Anziehung im allgemeinen mit a , Abstoßung im allgemeinen mit r bezeichnet wird. Hinzugefügte Exponenten sollen im näheren den Grad der Anziehung, resp. Repulsion markiren, und zwar bedeutet a_1 eben merkliche Anziehung (Schwelle oder wenig mehr); a_2 starke Anziehung; a_3 sehr starke Anziehung. Durch r_1 wird ganz schwache, durch r_2 starke, durch r_3 sehr starke Repulsion angezeigt. Durch $a?$ resp. $r?$ soll angezeigt werden, dass die Anziehung resp. Abstoßung fraglich, durch 0, dass keine Reaktion bemerklich war.

Durch Combination dieser Zeichen ist ferner dem Antagonismus von Repulsion und Attraktion Rechnung getragen. Es bedeuten:

- $a_1 r_3$ Anziehung tritt nur schwach hervor und eine nur mäßige Zahl sammelt sich in größerer Entfernung vom Capillarmund. Die zufällig diesem näher kommenden Individuen eilen schnell zurück.
- $a_2 r_3$ Durch reichlichere Ansammlung wird eine größere Anziehung angezeigt als bei $a_1 r_3$.
- $a_3 r_1$ Bei sehr starker Attraktion tritt schnell eine reichliche Ansammlung um die Capillare ein, doch dringt in Folge schwacher Repulsion zunächst eine geringere Zahl von Individuen in die Capillare.
- $a_3 r_2$ Wie bei $a_3 r_1$, jedoch Repulsion deutlicher und Eindringen in die Capillare fast ausgeschlossen.
- $a_3 r_3$ In einiger Entfernung vom Capillarmund bildet sich eine sehr dichte Ansammlung.
- $a_2 r_1$ Ähnlich wie $a_3 r_1$, doch Anziehung schwächer erscheinend.
- $a_1 r_1$ Es besteht nur schwache, eben merkliche anziehende und abstoßende Wirkung.

Für den erfahrenen Experimentator bedarf es keiner besonderen Erwähnung, dass es schon schwer ist, eine ganz schwache Anziehung sicher zu erkennen, und dass es unmöglich ist, nur nach der Anhäufung die Intensität der Attraktion mit Sicherheit zu bestimmen. Individuelle Differenzen, die ungleichen Eigenschaften der Arten in Schnelligkeit der Bewegung, der Reaktion u. s. w. und der Einfluss der Versuchsbedingungen auf Präcision und Schnelligkeit der Ansammlung bringen es mit sich, dass die einzelnen Experimente nicht zu ganz gleichem Resultate führen und dass die Ansammlung allein, insbesondere mit Rücksicht auf verschiedene

Arten, kein eigentlicher Maßstab für die Größe der Attraktion ist. Die gewählten Zeichen sollen also nur dem Eindruck Rechnung tragen, welchen die zunächst nach Zuschiebung der Capillare zu Stande kommende Reaktion erweckte, dabei ist selbstverständlich, dass aus dem resultirenden Modus der Ansammlung in Wirklichkeit nicht auf die Intensität von Repulsion und Attraktion geschlossen werden kann, und dass die combinirten Zeichen also nur den Zweck haben, den Reaktionserfolg im allgemeinen kurz ausdrücken zu können. Übrigens führen unter gleichen Bedingungen mit demselben Organismus ausgeführte Versuche zu sehr übereinstimmenden Erfolgen, doch ist durchgehends nach mehr als einem, in kritischen Fällen gewöhnlich nach ziemlich zahlreichen Einzelversuchen geurtheilt worden. Dass insbesondere der Schwellenwerth einer Attraktion mit einer für unsere Zwecke ausreichenden Genauigkeit bestimmbar ist, lässt sich in den Tabellen daraus ersehen, dass mit mäßiger Zunahme der Concentration des Reizmittels die Anziehungswirkung ansehnlich zunimmt.

In der folgenden Übersicht ist in der ersten Vertikalreihe der benutzte Körper, in den folgenden Reihen sind die Reaktionen angeführt, welche die in der Überschrift der Vertikalreihen gekennzeichneten Organismen mit den auf entsprechender Horizontalreihe stehenden Lösungen ergaben. Die Concentration der Lösungen ist, insofern nichts anderes angegeben, in Gewichtsprocenten der wasserfreien Substanz ausgedrückt, und bei Salzen wurde zumeist auch der entsprechende Metallgehalt in Gewichtsprocenten hinzugefügt.

Die Lösungen sind nach den in der Chemie üblichen Methoden aus reinen Stoffen mit Exaktheit hergestellt. Nur die mit einem * bezeichneten Körper wurden ohne besondere Vorsicht, also auch ohne zuvor völlig getrocknet zu sein, abgewogen.

Die beiden Kaliphosphate sind aus den berechneten Mengen von Kaliumcarbonat und Phosphorsäure bereitet. Gegen Lakmuspapier reagirt das Monokaliumphosphat bei einem Gehalte der Lösung von 4 % Kalium stark, bei 0,01 % Kalium noch ganz schwach sauer. Die Lösung von Trikaliumphosphat ist bei 4 % Kalium deutlich, bei 0,4 % Kalium noch ganz schwach alkalisch.

Für die benutzte neutral reagirende Lösung von Ammonphosphat wurde der Ammoniakgehalt bestimmt.

Das von GRÜBLER bezogene reinste Dextrin hinterließ noch 0,15 % Aschenbestandtheile. Reichlicher (etwa 4 %) war der Aschengehalt des als Peptonum purissimum von GRÜBLER erhaltenen Präparates. Übrigens ergab ein von SCHUCHARDT erhaltenes Pepton gleichen Reizerfolg mit *B. termo*.

Das angewandte Fleischextrakt enthielt 48,3 % Wasser und ist der Procentgehalt dieses wasserhaltigen Extrakts angegeben, das nach Neutralisation mit etwas Ammoniak zur Anwendung kam.

Die Lösungen der anorganischen Salze lassen sich bei gutem Verschluss

unverändert aufbewahren. Die Lösungen der organischen Körper mussten natürlich oft erneuert werden. Einige Tage wurden vielfach diese Lösungen dadurch erhalten, dass sie nach Gebrauch bei bestem Verschluss auf 70—80° C. erwärmt wurden.

Tabelle I.

	Bacterium termo.	Spirillum undula.	Bodo saltaus.
Chlorkalium.			
49,06 % $KaCl = 10\%$ Ka	a_3		
9,53 % " " = 5 % "	a_3	$a_3 r_3$	$a_2 r_3$
1,906 % " " = 1 % "	a_3	$a_3 r_1$	$a_2 r_1$
0,191 % " " = 0,1 % "	a_3	a_3	a_1
0,019 % " " = 0,01 % "	a_2	a_1	a_1 —?
0,0019 % " " = 0,001 % "	a_1	0	0
Trikaliumphosphat.			
5,43 % $Ka_3PO_4 = 3\%$ Ka	a_3		
1,81 % " " = 1 % "	a_3	$a_3 r_2$	$a_3 r_1$
0,181 % " " = 0,1 % "	a_3	a_3	
0,018 % " " = 0,01 % "	a_2	a_2	a_2
0,0018 % " " = 0,001 % "	a_1 — a_2	$a?$	a_1
0,00018 % " " = 0,0001 % "	?		
Monokaliumphosphat.			
3,48 % $KaH_2PO_4 = 1\%$ Ka	$a_3 r_3$		$a_3 r_3$
0,348 % " " " = 0,1 % "	$a_3 r_2$	$a_3 r_3$	$a_3 r_2$
0,035 % " " " = 0,01 % "	a_2	a_2	a_2
0,0035 % " " " = 0,001 % "	a_1 — a_2	$a?$	a_1
0,00067 % " " " = 0,0005 % "			0
Kaliumnitrat.			
2,585 % $KNO_3 = 1\%$ Ka	a_3	$a_2 r_1$	$a_2 r_1$
0,258 % " " = 0,1 % "	a_3	a_1	a_1
0,026 % " " = 0,01 % "	a_2	0	?
0,0026 % " " = 0,001 % "	?		
Kaliumsulfat.			
2,228 % $K_2SO_4 = 1\%$ Ka	a_3	$a_2 r_1$	$a_2 r_1$
0,223 % " " = 0,1 % "	a_3	a_1	a_1
0,022 % " " = 0,01 % "	a_2	0	
Kaliumcarbonat.			
1,767 % $K_2CO_3 = 1\%$ Ka	$a_2 r_3$		
0,177 % " " = 0,1 % "	$a_2 r_2$		$a_1 r_3$
Kaliumdicarbonat.			
0,256 % $KHCO_3 = 0,1\%$ Ka .	a_3		a_2

	Bacterium termo.	Spirillum undula.	Bodo sal- tans.
Kaliumchlorat.			
3,432 % $KClO_3 = 4\%$ <i>Ka</i>	a_3	$a_2 r_1$	$a_2 r_3$
0,313 % " " " = 0,4 % "	$a_2 - a_1$	$a_1 - a_2$	$a_2 - a_1$
0,034 % " " " = 0,04 % "	?	0	?
Kaliumferrocyanid.			
2,335 % $K_4(CN)_6 Fe = 4\%$ <i>Ka</i>	a_3	$a_2 r_2$	$a_1 r_3$
0,235 % " " " = 0,4 % "	a_2	a_1	a_1
0,023 % " " " = 0,04 % "	a_1	$a?$	0
Kaliumtartarat. $K_2 \cdot C_4 H_4 O_6$.			
2 % $C_4 H_4 O_6 + 4,058\%$ <i>Ka</i>	a_3	$a_3 r_1$	a_3
0,02 % " " " " 0,0106 % "	a_2	$a_2 - a_1$	$a_2 - a_1$
0,002 % " " " " 0,0041 % "	a_1	?	?
Chlornatrium.			
20,30 % $NaCl = 8\%$ <i>Na</i>	a_3		
2,538 % " " = 1 % "	a_2	$a_1 r_3$	$a_2 r_3$
1,269 % " " = 0,5 % "	a_2		$a_2 r_2$
0,234 % " " = 0,4 % "	a_1	$a_1 r_1$?
0,025 % " " = 0,04 % "	?	0	
Dinatriumphosphat.			
3,087 % $Na_2 HPO_4 = 4\%$ <i>Na</i>	a_2	$a_1 r_3$	$a_2 r_3$
0,309 % " " " = 0,4 % "	a_1	$a_1 r_1$?
Natriumtartarat $Na_2 C_4 H_4 O_6$.			
2 % $C_4 H_4 O_6 + 0,623\%$ <i>Na</i>	a_2	$a_1 r_3$	
0,2 % " " " " 0,062 % "	?	?	
Chlorrubidium.			
1,415 % $RbCl = 4\%$ <i>Rb</i>	a_3	$a_3 r_1$	$a_3 r_1$
0,444 % " " = 0,4 % "	a_2	a_2	$a_1 - a_2$
0,044 % " " = 0,04 % "	$a_1 - ?$	a_1	?
Chlorcaesium.			
1,258 % $CsCl = 4\%$ <i>Cs</i>	a_2	$a_1 r_3$	$a_1 r_2$
0,126 % " " = 0,4 % "	a_1	?	?
Chlorlithium.			
6,04 % $LiCl = 4\%$ <i>Li</i>	a_3	$a_1 r_3$	$a_1 r_3$
0,604 % " " = 0,4 % "	$a_3 - a_2$	$a_1 r_1$	$a_1 - ?$
0,0604 % " " = 0,04 % "	$a_2 - a_1$	0	0
0,0060 % " " = 0,004 % "	$a_1 - ?$		
Lithionnitrat.			
3 % $LiNO_3 = 0,305\%$ <i>Li</i>	a_2	$a_1 r_3$	$a_1 - ?$
0,3 % " " = 0,034 % "	a_2	?	0
0,4 % " " = 0,04 % "	$a_2 - a_1$?	0

	Bacterium termo.	Spirillum undula.	Bodo sal- tans.
Chlorammonium.			
3 % $NH_4 Cl = 1,042$ % NH_4	a_2	$a_2 r_3$	$a_2 r_2$
0,3 % " " = 0,101 % "	$a_2 - a_1$	$a_2 r_2$	a_1
0,03 % " " = 0,0101 % "	a_1	?	0
Ammonphosphat (neutral reagirend).			
mit 0,784 % NH_4	a_2	$a_2 r_3$	$a_2 r_2$
" 0,078 % "	a_1	$a_2 r_1$	a_1
Chlorcalcium.			
40 % $Ca Cl_2 = 14,43$ % Ca	a_2		
4 % " " = 1,443 % "	a_2	$a_1 r_3$	r
2 % " " = 0,722 % "	a_2	$a_1 r_2$	$a_1 r_2$
0,5 % " " = 0,180 % "		$a_1 r_1$?
0,2 % " " = 0,072 % "	$a_2 - a_1$	0	0
0,02 % " " = 0,0072 % "	$a_1 - ?$		
Ferrocyancalcium.			
0,444 % $Ca_2(CN)_6 Fe + 12 H_2O = 0,07$ % Ca	$a_2 - a_1$		
0,044 % " " " " = 0,007 % "	$a_1 - ?$		
Calciumnitrat.			
3,475 % $Ca(NO_3)_2 = 0,845$ % Ca	a_2	$a_1 r_2$	$a_1 r_1$
1,391 % " " = 0,338 % "			?
Chlorstrontium.			
2 % $Sr Cl_2 = 1,104$ % Sr	a_2	$a_1 r_3$	$a_2 r_1$
0,2 % " " = 0,110 % "	$a_2 - a_1$	$a_1 - ?$	a_1
0,02 % " " = 0,011 % "	a_1	0	0
Strontiumnitrat.			
2 % $Sr(NO_3)_2 = 0,827$ % Sr	a_2	$a_1 r_2$	$a_2 r_1$
0,4 % " " = 0,165 % "	$a_2 - a_1$	a_1	a_1
0,04 % " " = 0,016 % "	a_1	0	0
Chlorbarium.			
1,705 % $Ba Cl_2 = 1,124$ % Ba	a_2	$a_1 r_3$	$a_2 r_1$
0,170 % " " = 0,1124 % "	a_1	$a_1 - ?$	a_1
0,017 % " " = 0,0112 % "	a_1	0	0
Chlormagnesium.			
3,741 % $Mg Cl_2 = 0,946$ % Mg	a_3	$a_1 r_2$	r
0,935 % " " = 0,237 % "	a_3	?	?
0,0935 % " " = 0,0237 % "	$a_2 - a_1$	0	0
0,0094 % " " = 0,0024 % "	$a_1 - ?$	0	0
*Citronensaures Eisenoxyd.			
0,1 % $Fe \cdot C_6 H_5 O_7 + 1\frac{1}{2} H_2O$	a_2	a_2	
0,01 % " " " " "	$a_1 - a_2$	$a_1 - ?$	

	Bacterium termo.	Spirillum undula.	Bodo saltans.
Traubenzucker (Dextrose).			
30 % $C_6H_{12}O_6$	$a_1 - a_2$?	?
40 % »	a_1	$a_1 - ?$?
5 % »			0
1 % »	0	0	0
Dextrin.			
40 % $(C_6H_{10}O_5)_n$	a_3	?	?
1 % »	a_3	0	$a_2 - a_1$
0,1 % »	a_2	0	a_1
0,01 % »	a_1	0	?
0,001 % »	$a_1 - ?$	0	
*Milchzucker.			
40 % $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$	a_2	$0 - ?$	
1 % »	a_1	0	
*Mannit.			
4,5 % $C_6H_{14}O_6$	a_2	a_1	
0,5 % »	a_1	a_1	
* Absoluter Alkohol (kuflicher).			
10 %	r	r	
2 %	r	r	
1 %	r	r	
Glycerin.			
17,4 % $C_3H_5(OH)_3$	0	0	
8,55 % »	0	0	0
0,855 % »	0	0	0
*Harnstoff.			
5 % CH_4N_2O	a_2	$a_1 r_2$	
1 % »	a_1	$a_1 - ?$	$a_1 - ?$
0,4 % »	$a_1 - ?$		
Asparagin.			
2,5 % $C_4H_8N_2O_3 + H_2O$	a_3	$a_3 r_3$	a_2
1 % » »	a_3	a_3	a_2
0,4 % » »	a_2	$a_2 - a_1$	a_1
0,01 % » »	a_1	?	
*Kreatin.			
1 % $C_4H_9N_3O_2 + H_2O$	a_1	0	?
*Taurin.			
1 % $C_2H_7NSO_3$	a_2	a_1	a_1

	Bacterium termo.	Spirillum undula.	Bodo sal- tans.
*Sarkin (Hypoxanthin). 0,33 % $C_5H_4N_4O_2$	a_2	a_1	a_1
*Carnin. 0,5 % $C_7H_8N_4O_3 + H_2O$	a_2	a_1	a_2
Pepton. 1 %	a_3	$a_3 r_2$	a_3
0,1 %	a_3		a_2
0,01 %	a_2	$a_2 - a_1$	a_1
0,001 %.	a_1	?	
Fleischextrakt mit 18,3 % H_2O (neutralisirt mit NH_3)			
10 %	a_3	$a_2 r_3$	
1 %	a_3	$a_3 r_2$	a_3
0,1 %	a_2	a_2	a_2
0,01 %	$a_2 - a_1$	a_1	a_1
0,001 %	$a_1 - ?$		
*Salicin. 1 %	a_1	0 — ?	
*Salicylsaures Natrium (käufliches Salz). 1 %	a_2		
0,1 %	a_1	$a_1 - ?$	
*Salzsaures Morphin (käufliches Salz). 1 %	$a_2 - a_1$	0	

Zu beiläufiger Prüfung kamen auch noch einige weitere Stoffe, von denen ich hier folgende anführe:

- *Kaliumlactat (neutral) in 0,1 % Lösung gab mit *Bodo saltans* ziemlich gute Anziehung.
- *Milchsaures Eisenoxydul in 1 % und 0,1 % Lösung ließ keine anziehende Wirkung auf *Bacterium termo* und *Spirillum undula* erkennen.
- *Zinksulfat ($ZnSO_4 + 7H_2O$). Die 1 % Lösung schien *B. termo* nicht anzuziehen.
- *Rohrzucker. *Bodo saltans* verhielt sich gegen 5 und 1 % Lösung wie gegen Traubenzucker.
- *Glycogen. Die 0,66 % Lösung wirkte nicht anziehend auf *B. saltans*.
- *Lecithin. Die 0,5 % Lösung veranlasste ziemlich reichliches Einschwärmen von *B. saltans*.

- *Indigearmin (Natriumsalz der Indigodisulfosäure) lockte *Bacterium termo* ziemlich reichlich in die Capillare.
- *Anilinblau. Das in Wasser lösliche Anilinblau, ein Salz einer Anilinblausulfosäure, veranlasste in 4 % Lösung ein ziemlich reichliches Einschwärmen von *Bacterium termo*, während es *Spirillum undula* kaum anlockte.

Die Beeinträchtigung der Ansammlung durch Repulsion ist in der Tabelle für *Spirillum undula* und *Bodo saltans* leicht zu ersehen, und offenbar bringen dieserhalb Stoffe, welche erst in höherer Concentration wirksam werden, wie z. B. Chlorcalcium, Chlormagnesium, Chlornatrium, Chlorcaesium u. a., eine Ansammlung der beiden genannten Organismen nur in geringem Grade oder gar nicht zu Wege. Zur Constatirung von Attraktion ist deshalb das nur wenig gegen hohe Concentration empfindliche *B. termo* geeigneter, und wenn wir uns an dieses halten, wurde für fast alle untersuchten Stoffe eine zum Theil freilich nur geringe anziehende Wirkung gefunden. Völlig indifferent verhielt sich nur Glycerin, während Alkohol nur repulsiv wirkte ¹⁾. Einen auffallend geringen Reizeinfluss hat Traubenzucker, der zudem auch auf *Sp. undula* und *Bodo* kaum abstoßend wirkte (vgl. Kap. VII).

Unter den untersuchten Stoffen ist Dextrin das beste Beispiel für spezifisch ungleiche Reizwirkung auf verschiedene Organismen. Denn während Dextrin (auf Gewichtsprocente bezogen) in seiner Reizwirkung auf *B. termo* den wirksamsten Kalisalzen ungefähr gleichkommt, lockt es *Bodo* nur schwächer, *Sp. undula* gar nicht in merklicher Weise an, ohne indess abstoßend zu wirken.

Specifische Differenzen dieser Art werden speciell darauf gerichtete Untersuchungen sicherlich noch zahlreicher aufdecken, und solche Differenzen kehren auch, wie wir noch sehen werden, bei anderen Organismen wieder. Hier sei noch darauf hingewiesen, dass unsere drei Arten gegenüber Kaliphosphat ungefähr gleiche Empfindlichkeit besitzen (bei *Sp. undula* ist zu beachten, dass der Schwellenwerth durch das Außenmedium verschoben ist), während z. B. nur *B. termo* durch Chlorealcium und Chlormagnesium stark angelockt wurde. Zu diesem Erfolge genügen insbesondere bei Chlormagnesium schon so geringe Mengen, dass auch bei *Sp. undula* und *Bodo* eine positive Reaktion nicht durch Repulsivwirkung verdeckt werden könnte, wenn die letztgenannten Arten gegen Chlormagnesium in relativ gleichem Maße empfindlich wären, wie *B. termo*. Auch gegen Lithiumchlorid und Asparagin scheint *B. termo* in gleichem Sinne relativ empfindlicher zu sein.

Eine relativ starke Reizwirkung kommt allgemein (auch bei anderen

¹⁾ Von dem giftigen Zinksulfat und dem nur wenig geprüften milchsäuren Eisenoxydul sehe ich hier ab.

chemotaktischen Organismen), den untersuchten Kalisalzen zu. So ruft Trikaliumphosphat bei 0,0018 % (mit 0,001 % Kalium) noch merkliche Anziehung von *B. termo*, *Bodo* und *Sp. undula* (mit Berücksichtigung der nöthigen Correction) hervor. Eine, mit Bezug auf gewichtsprozentige Lösung ungefähr gleiche Empfindlichkeit besitzt *B. termo* für Pepton und nahezu auch für Dextrin, während *Sp. undula* und *Bodo* durch Pepton etwas und durch Dextrin weit weniger gereizt werden.

Der Reizwerth der Kaliumsalze ist aber nicht schlechthin durch ihren Gehalt an Kalium bemessen, und zweifellos wird sich Gleiches bei näherer Untersuchung auch für andere Metalle ergeben. So ruft Kaliumchlorat erst bei 0,4 % Kalium ungefähr dieselbe Wirkung bei unseren 3 Organismen hervor, wie Kaliumphosphat bei 0,04 % Kalium. Ähnlich verhält sich das Kaliumferrocyanid gegenüber *Bodo* und *Sp. undula*, während *B. termo* noch bei 0,04 % Kalium eben merklich sich ansammelt. Vielleicht etwas ansehnlicher wirkt auf *B. termo* Kaliumnitrat und Kaliumsulfat, während *Sp. undula* und *Bodo*, ähnlich wie durch Kaliumchlorat, erst bei einem Kaliumgehalt von 0,4 % angezogen werden. Die beiden letztgenannten Organismen, insbesondere aber *Bodo* werden auch durch Chlorkalium, bei gleichem Kaliumgehalt, augenscheinlich schwächer gereizt, als durch Mono- und Trikaliumphosphat.

Dieses Verhalten hängt damit zusammen, dass den Elementen und ebenso den Atomcomplexen in ihren Verbindungen ein unveränderlicher Reizwerth nicht zukommt, resp. nicht zukommen muss, dass dieser Reizwerth also von den specifischen Eigenschaften des jeweils gebotenen Moleküls abhängt oder wenigstens abhängen kann. Es ist also recht wohl möglich, dass einem bestimmten Elemente oder Atomcomplex vorwiegend specifische Reizfähigkeiten innewohnen, die aber nicht in jeder Verbindung zur vollen Geltung kommen müssen. In diesem Sinne dürfen wir nach den bisherigen Erfahrungen dem Kalium einen höheren Reizwerth als dem Caesium, Natrium, Calcium zuschreiben und überhaupt Kalium als das im allgemeinen auf unsere Organismen am stärksten chemotaktisch wirkende Element bezeichnen. Natürlich beziehen sich obige Erörterungen auf chemische Verbindungen, nicht auf Gemische, in welchen die nebeneinander bestehenden Körper ihre besonderen Reizwerthe bewahren (Kap. VIII).

Die specifisch verschiedene Reizwirkung und überhaupt physiologische Wirkung der organischen Körper lehrt unmittelbar, dass nicht etwa dem Elemente Kohlenstoff, Wasserstoff oder Sauerstoff, sondern den aus diesen formirten Molekülen die besondere Wirkungsweise zukommt. Und wie auch die Reizwirkung eines organischen Moleküls, je nach seiner Verbindungsweise, modificirt werden kann, beweist das Verhalten der Äpfelsäure, welche ich als specifisches Reizmittel für Samenfäden der Farne kennen lernte. Ergab sich früher ¹⁾ ein jedenfalls annähernd gleicher Reizwerth für die Äpfel-

1) Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen. Bd. I. p. 381.

säure in freiem Zustand und für ihre Verbindung mit Natrium, Ammonium, Barium und Calcium, so habe ich späterhin im Äpfelsäure-Diäthyläther eine ganz wirkungslose Verbindung kennen gelernt (vgl. Kap. XII). Bei allen Besonderheiten der Ester ist doch der Fortbestand des Molekülcomplexes der Äpfelsäure in ihrem Äthyläther anzunehmen, und die Wirkung dieses im Vergleich zu den anorganischen Salzen der Äpfelsäure lehrt, wie ein Körper beim Eintritt in eine Verbindung seine volle Reizwirkung bewahren, aber auch gänzlich verlieren kann.

Diese Erfahrungen dürfen wir unbedenklich verallgemeinern und demgemäß für alle organischen und anorganischen Körper annehmen, dass ihre Reizwirkung nicht der Summe der isolirt gedachten Componenten entspricht, resp. entsprechen muss, wie es in Gemischen zutrifft. Für Bacterien und Flagellaten ist auf Grund der bisherigen Erfahrungen der Beweis nicht so einfach wie für die Samenfäden der Farne zu führen, weil jene auf fast alle Stoffe reagiren und man nicht wissen kann, in wie weit in einer Verbindung etwa das Metall oder die Säure bei der Reaktionswirkung theilhaftig ist. Eine Bestimmung des beiderseitigen Antheils ist aber für die isolirte stärkere Säure und Base, der stark repulsiven Wirkung halber, nicht mit genügender Genauigkeit auszuführen. Indess lassen sich durch speciell auf diese Frage gerichtete Untersuchungen zweifellos noch weitere entscheidende Belege beibringen und auch die hier beiläufig gewonnenen Erfahrungen sprechen genügend für die schon gekennzeichnete Sachlage.

Beachtet man, dass Monokaliumphosphat und Trikaliumphosphat mit diesen drei Organismen eine eben merkliche Reaction bei ungefähr dem gleichen Gehalt an Kalium (0,004 %) erzielen, auf diese gleiche Menge Kalium im Monophosphat aber dreimal so viel Phosphor kommt, als im Triphosphat¹⁾, so kann dem Phosphor, ebenso der Phosphorsäure kein besonderer Reizwerth zukommen, wenn man annehmen will, dass das Kalium in seinen Verbindungen einen constanten Reizwerth bewahrt. Unter dieser Voraussetzung könnte die zum Theil wesentlich geringere Wirkung des Kaliums im Nitrat, Sulfat, Chlorat, Ferrocyanid nur durch eine repulsive Wirkung dieser Säuren zu Stande kommen. Gegen diese Annahme spricht aber einmal der Umstand, dass so geringe Concentrationen, wie sie hier für den Schwellenwerth in Betracht kommen, noch nicht repulsiv, am wenigsten auf *B. termo* wirken und dass ferner, so weit sich derzeit sagen lässt, nicht alle Salze dieser Säuren mit anderen Metallen im Reizwerth zurückbleiben. Dieses zeigt sich z. B. beim Vergleich der Chlormetalle und Nitrates von Kalium und Strontium. Denn während bei gleichem Kaliumgehalt Chlorkalium, wenigstens für *B. termo* und *Sp. undula* den Phosphaten nahezu gleichkommt, also dem Kaliumnitrat überlegen ist, sind Chlorid und Nitrat des

1) Im Triphosphat kommt auf 4 Theil Kalium 0,265, im Monophosphat 0,795 Phosphor.

Strontiums bei ungefähr demselben Metallgehalt gleich gute Reizmittel, und dasselbe gilt, gegenüber *B. termo*, für Chlorlithium und Lithiumnitrat. Ebenso wirkten Ferrocyanealcium und Chlorcalcium bei gleichem Calciumgehalt gleich stark auf *B. termo*, während beim Kalium das Chlorid dem Ferrocyamid überlegen ist.

Dürfen wir auch mit Rücksicht auf die allgemein hohe Wirkung der geprüften Kaliumsalze und deren Überlegenheit über andere Metallsalze gegenüber unseren Organismen, dem Kalium eine bevorzugte Reizwirkung zuschreiben, so ist damit die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dass (ähnlich wie bei der Äpfelsäure) einmal ein wirkungsloses Kaliumsalz gefunden wird¹⁾ oder dass in einer bestimmten Verbindung ein anderes Metall dem Kalium als Reizmittel überlegen ist.

In wie weit die Säuren eine Reizwirkung ausüben, resp. in den Salzen, in analogem Sinne wie das Kalium, zur Geltung bringen, wurde nicht zu bestimmen gesucht. Nach den Bemerkungen über die Kaliumphosphate scheint die Phosphorsäure keinen besonderen Reizwerth in die Verbindung zu tragen, und ähnliches scheint hiernach für die anderen Säuren zuzutreffen, da keine Kaliumverbindung für gleichen Metallgehalt dem Kaliumphosphat überlegen ist. Es gilt dieses auch für das neutrale Kaliumtartarat. Vergleicht man dieses mit dem neutralen Natriumtartarat, so zeigt sich dieses für gleichen Gehalt an Weinsäure viel weniger wirksam, und anscheinend leistet dieses Salz für gleichen Natriumgehalt dasselbe als Reizmittel wie Chlorid und Phosphat des Natriums.

Andere Alkalien. Für sämtliche Alkalien sind die Chloride geprüft, die wir demgemäß, und zwar auf gleiche Gewichtsprocente Metall bezogen, hier vergleichen. Wie aus der tabellarischen Übersicht zu entnehmen ist, stehen sämtliche Alkalien im Reizwerthe gegen Kalium zurück. So wird für Chlornatrium und Chlorcaesium erst bei 0,4 % Metall der Schwellenwerth für *B. termo* erreicht (gegen 0,004 % Kalium) und besonders gegen *Bodo* sind die beiden Metalle noch weniger wirksam. Bei *Bodo*, sowie bei *Sp. undula* wird auch schon bei 0,5, resp. 0,4 % Natriumgehalt eine repulsive Wirkung bemerklich, hinsichtlich der es in diesem, wie in jedem anderen Falle, dahin gestellt bleiben muss, ob und wie die verhältnismäßig schwache Attraktion oder eine spezifische Repulsivwirkung, resp. beide im Verein in dem hervortretenden Resultate betheiligt sind.

Die Wirkung von Ammonium ist für die Chlorverbindung nicht wesentlich verschieden von Natrium. Gleiches gilt für Lithium mit Bezug auf *Bodo* und *Sp. undula*, während *B. termo*, wenn auch etwas schwächer als auf Kalium, noch auf 0,004 % Lithium reagirt.

1) Ob ein analoger Fall für Eisen aus der Reizwirkung des citronensauren Eisenoxyds und der Wirkungslosigkeit des milchsäuren Eisenoxyduls zu entnehmen ist, lässt sich zur Zeit nicht sagen, da diese Beobachtungen auch andere Deutungen zulassen.

Ziemlich wirksam ist Chlorrybidium, das zwar für gleichen Metallgehalt *B. termo* schwächer anzieht als Lithium, jedoch bei 0,04 % Rubidium sowohl *B. termo* als *Sp. undula* anlockt, während *Bodo* etwas weniger empfindlich gegen diesen Körper zu sein scheint. Bemerkenswerth ist, dass mit Erreichung und kleiner Überschreitung des Schwellenwerthes alle 3 Organismen bei Anwendung von Chlorrybidium viel präziser und reichlicher in die Capillare einschwärmen, als unter gleichen Umständen bei Versuchen mit Chlornatrium oder Chlorcaesium. Es muss dahin gestellt bleiben, ob etwa die Anziehung durch Chlorcaesium mit der Concentration schneller steigt, als bei den beiden anderen genannten Metallen, oder ob eine geringere Repulsivwirkung des Caesiumsalzes die Ursache dieser Differenz ist.

Es wurde schon erwähnt, dass bei gleichem Natriumgehalt die Wirkungen des Chlorids, Phosphats und Tartarats jedenfalls nicht auffällig von einander verschieden sind. Gleiches scheint für Chlorammonium und Ammonphosphat, gegenüber *B. termo* auch für Lithiumnitrat und Lithiumchlorid zu gelten.

Es mag an dieser Stelle schon darauf hingewiesen werden, dass die spezifische Reizwirkung nicht im Verhältnis zum Atom- oder Moleküllgewicht steht. Denn das Atomgewicht des wirksamen Kalium (39) fällt zwischen die Atomgewichte von Natrium (23) und Caesium (133), die beide weniger und ungefähr gleich stark reizen.

Alkalische Erden. Diese haben als Chloride durchgehends eine nur schwache Wirkung auf *B. saltans* und *Sp. undula*, während sie auf *B. termo* zum Theil etwas stärker wirken. Für die beiden zuerst genannten Arten ist für 0,4 % Metallgehalt (vgl. Tabellen) entweder eine nur schwache oder auch gar keine Anziehung zu finden. Bei solcher Concentration kommt aber schon die Repulsivwirkung in Betracht, und diese bringt es wohl mit sich, dass eine sichere Anlockung von *Bodo* durch Chlormagnesium nicht beobachtet wurde. Während Chlormagnesium auch auf *Sp. undula* weniger wirkt als Chlorcalcium, Chlorstrontium und Chlorcaesium, ist es für *B. termo*, für gleichen Metallgehalt, die wirksamste unter den genannten Verbindungen. Denn eine ganz schwache Anziehung auf *B. termo* wurde noch bei 0,0024 % Magnesium beobachtet, während für die 3 anderen Chloride die Reizschwelle etwa bei 0,04 % erreicht sein dürfte. Übrigens sind diese Angaben nur als Annäherungswerthe zu betrachten, da eine genauere Bestimmung der Reizschwelle nicht angestrebt wurde.

Die Nitrate von Calcium und Strontium scheinen nach einigen Beobachtungen für gleichen Metallgehalt gleich starke Reizung wie die Chloride auszuüben.

Bei den etwas concentrirten Lösungen des Chlorbariums kommen durch giftige Wirkung die eingeschwärmten Organismen bald zur Ruhe,

während sie in verdünnten Lösungen sich ziemlich lange in Bewegung erhalten.

Andere Metalle wurden nicht in den Kreis der Untersuchung gezogen. Mehr beiläufig wurde constatirt, dass citronensaures Eisenoxyd, nicht aber milchsaures Eisenoxydul, eine Reizwirkung auf *Bact. termo* und *Spirillum undula* ausübte. Es muss aber dahingestellt bleiben, ob allgemein ein Unterschied zwischen den Oxyd- und Oxydulsalzen des Eisens besteht, oder ob vielleicht die Natur der Säure für den Erfolg bestimmend war.

Der negative Erfolg mit Zinksulfat ist schon der sauren Reaktion dieses Metallsalzes halber ohne Bedeutung.

Organische Körper. Lässt man die metallhaltigen Salze organischer Säuren außer Acht, bei denen der Antheil von Säure und Basis an der Reizwirkung nicht wohl abzuschätzen ist ¹⁾, so zeigen doch die übrigen geprüften organischen Körper genugsam, dass von ihnen specifisch und quantitativ differente Reize ebenso gut ausgeübt werden, wie von anorganischen Körpern.

Außer Glycerin, das übrigens nicht abstoßend wirkt, und Alkohol, durch den nur Repulsion beobachtet wurde, brachten alle geprüften organischen Stoffe eine stärkere oder schwächere chemotaktische Reizwirkung hervor.

Am wirksamsten erwies sich Pepton ²⁾, welches in seinem Einfluss auf *B. termo*, *Sp. undula* und *Bodo saltans* den wirksamsten Kalisalzen ungefähr gleich kommt. Eine geringere, aber immerhin ansehnliche Reizwirkung kommt auch dem Asparagin zu. Noch weniger leistet der Harnstoff, mit dem bei *B. termo* bei 0,1 %, bei *Sp. undula* und *Bodo saltans* ungefähr bei 1 % der Schwellenwerth erreicht wird. Auch die angeführten stickstoffhaltigen Bestandtheile des Fleischextraktes, Kreatin, Taurin, Sarkin, Carnin, ergeben alle eine gewisse, doch keine hervorragende Reizwirkung. Am wenigsten leistete Kreatin, das in 1 prozentiger Lösung *B. termo* eben merklich anzog, auf *Sp. undula* und *Bodo* aber keine sichere Wirkung ausübte ³⁾.

Eine verhältnismäßig geringe Reizwirkung scheinen zumeist die Kohlehydrate auszuüben. So bringt Traubenzucker, obgleich er kaum repulsiv wirkt, erst bei 10 % eine eben merkliche Ansammlung von *B. termo* zu Wege, das sich auch bei 30 % nur in mäßiger Menge in der Capillare ansammelt. Für *Sp. undula* wurde überhaupt nur eine ganz schwache und für *Bodo saltans* gar keine Reizwirkung constatirt. Dieser letztgenannte

1) Einige Versuche mit äpfelsaurem Natrium sind mitgetheilt: Unters. a. d. bot. Inst. in Tübingen. I. p. 464.

2) Das angewandte Präparat hinterließ ungefähr 1 % Asche, von dem nur ein kleiner Theil auf Kalium fällt, so dass nicht etwa der Gehalt an diesem oder überhaupt an anorganischen Stoffen die Ursache der hohen Reizwirkung ist.

3) Wie später gezeigt wird, verdankt das Fleischextrakt seine hohe Wirkung zum Theil seinem Gehalt an Kalisalzen (Kap. VIII).

Organismus wurde auch durch Rohrzucker und Glycogen nicht sicher angelockt. Etwas besser wirken Milchzucker (Schwellenwerth bei 4 %) und Mannit (Schwellenwerth bei 0,5 %) auf *B. termo*. Durch Mannit wird auch *Sp. undula* (bei 0,5 %) eben merklich angelockt, während für dieses *Spirillum* eine anziehende Reizwirkung durch Milchzucker zweifelhaft blieb. Gleiches Resultat wurde für *Sp. undula* mit verdünnten und concentrirten Lösungen von Dextrin erhalten, das auf *Bodo* merklich wirkt (Schwellenwerth bei 0,4 %) und *B. termo* fast so gut anlockt wie Pepton.

Diese Beispiele zeigen zur Genüge, dass aus chemischer Constitution und Verwandtschaft der Reizwerth organischer Körper nicht abgeleitet werden kann. Auch scheinen stickstoffhaltige Körper nicht bevorzugt, denn das stickstofffreie Dextrin steht für *B. termo* dem stickstoffhaltigen Pepton an Reizwerth ungefähr gleich, und wenn zur Zeit ein ganz wirkungsloser stickstoffhaltiger Körper nicht bekannt ist, so hat doch Kreatin eine nur geringe, auf *Sp. undula* und *Bodo* überhaupt keine sichere anziehende Wirkung ergeben. Auch sind ja die Nitrate der Metalle gegenüber den Chloriden keineswegs bevorzugt und den Ammoniaksalzen kommt eine relativ geringe Reizwirkung zu.

Kamen hier wesentlich Körper der Fettreihe in Verwendung, so ist doch nicht zu zweifeln, dass analoge Resultate mit Substanzen der aromatischen Reihe zu erhalten sein werden. Zu den aromatischen Körpern gehört auch das salzsaure Morphinum, welches in erheblichem Grade *B. termo* anlockt, auf welches auch Salicin eine merkliche Wirkung ausübt. Für salicylsaures und indigschwefelsaures Natrium, sowie für das in Wasser lösliche Anilinblau muss dahingestellt bleiben, in wie weit die Reizwirkung auf das Metall oder die organische Substanz fällt.

Aus der Gesamtheit der mitgetheilten Thatsachen ist auch zu ersehen, dass sowohl Krystalloide als Colloide eine gute Reizwirkung ausüben können. Zu den Colloiden gehören z. B. Pepton und Dextrin, während die benutzten Kalisalze Krystalloide sind.

Vorläufig mag hier schon darauf hingewiesen werden, dass die Reizwirkung eines Stoffes nicht nach dessen Nährwerth bemessen wird. Denn das indifferente Glycerin ist ein gutes Nährmaterial für *Bacterium termo*, während z. B. Lithium, dessen Salze *B. termo* stark anlocken, für die Ernährung der Pilze nicht nothwendig ist.

V. Versuche mit anderen reizbaren Organismen.

Die übrigen geprüften Organismen bieten alle Abstufungen von hoher Empfindlichkeit bis zum gänzlichen Mangel chemotaktischer Reizbarkeit. Wo solche besteht, schließt sie sich der Hauptsache nach dem durch die näher untersuchten 3 Arten gekennzeichneten Rahmen an, so weit wenigstens die minder ausgedehnten Versuche ein Urtheil gestatten. Wurde auch

der Schwellenwerth oft nicht präcis bestimmt, so ist doch aus der folgenden Tabelle wieder deutlich zu ersehen, dass auch diese verschiedenen Organismen in ungleichem Grade positiv und negativ chemotaktisch sind und dass die Reizwirkung zweier Stoffe gegenüber zwei verschiedenen Organismen nicht immer dieselbe Relation einhält. Auch entspricht der Reizwerth verschiedener Stoffe im allgemeinen dem für *B. termo*, *Sp. undula* und *Bodo saltans* erkannten Verhältnis. Es tritt dieses, trotz der Anwendung einer beschränkten Zahl von Körpern, um so mehr hervor, als gerade wesentlich die Körper zur Anwendung kamen, welche nach den an den 3 genannten Organismen gewonnenen Erfahrungen gleichsam Merksteine für die Beurtheilung der Reaktionsfähigkeit abgeben.

In der nachfolgenden Übersicht sind für einen Theil der geprüften Arten die Resultate in derselben Weise wiedergegeben, wie in der früheren tabellarischen Zusammenstellung (p. 604). Es ist auch hier zu beachten, dass bei einigen Organismen die Reizschwelle durch Anwesenheit von wirkenden Stoffen im Versuchstropfen entsprechend verschoben ist (vgl. p. 592 ff.).

Für alle in der Tabelle verzeichneten Organismen, unter ihnen auch für die chlorophyllführende *Chlamydomonas pulvisculus*, ist wiederum ein Kalisalz (Chlorkalium) im allgemeinen das beste Reizmittel. Merklich schwächer (relativ) wirkt schon Chlorrybidium, während Chlornatrium und Chlorcalcium noch weniger leisten.

Unter den organischen Stoffen fällt, abgesehen vom Fleischextrakt, anscheinend wieder die höchste Reizwirkung dem Pepton zu; auch Asparagin hat noch gute Wirkung, die beim Dextrin meist deutlich, aber doch schwächer hervortritt und beim Traubenzucker oft nicht mehr zu erkennen ist. Glycerin ist wiederum wirkungslos und auch der Anschein einer sehr zweifelhaften Anziehung auf *Polytoma uvella* mag wohl auf Täuschung beruht haben.

Unter den angeführten Bacterien erreicht *Spirillum rubrum* gegenüber Chlorkalium beinahe die Empfindlichkeit von *B. termo*. Diesem dürfte auch *Sp. tenue* mit Rücksicht der Reizwirkung durch die Außenflüssigkeit (p. 593) wenig nachstehen. Weniger empfindlich ist das gleichzeitig mit *Sp. tenue* untersuchte *Sp. serpens*, und das in einer anderen Cultur mit Farnprothallien gewonnene *Sp. serpens*, welches hier nicht weiter berücksichtigt wurde, ergab einen noch geringeren Grad von Reizbarkeit. Auch für *Bacillus subtilis* und *Sp. volutans* bedurfte es schon stärkerer Chlorkaliumlösung, um eine Anlockung zu erzielen, die bei *Sp. volutans* zudem nur langsam zustande zu kommen pflegte.

Tabelle II.

	Spirillum rubrum.	Spirillum tenue.	Spirillum serpens.	Spirillum volutans.	Bacillus subtilis.	Hexamitus rostratus.	Hexamitus inflatus.	Trepomonas agilis.	Polytoma uvella.	Chlamydomonas pulvisculus.
Chlorkalium.										
9,53 %	a_3	$a_3 r_1$.	$a_1 r_3$	$a_2 r_1$.	.	$a_3 r_1$	$a_1 r_3$	$a_1 r_1$
1,906 %	a_3	a_3	a_2	a_2	a_2	$a_3 r_1$	$a_1 - a_2$	a_3	$a_2 r_3$	$a_2 r_1$
0,494 %	.	a_2	.	0	a_1	.	.	$a_1 - a_2$	a_1	a_1
0,019 %	$a_2 - a_1$?	.	.
0,0019 %	$a_1 - ?$
Chlornatrium.										
2,538 %	$a_1 r_2$	a_2	?	$r_?$.	.	.	$a_2 - a_1$	$a_1 r_1$.
Chlorrubidium.										
1,445 %	.	a_3	.	a_1	.	.	.	a_2	$a_2 r_3$	$a_2 r_1$
Chlorcalcium.										
2 %	$a_2 r_1$	$a_2 r_1$?	?	.	.	.	$a_2 - a_1$	$a_1 r_2$	$a_1 - ?$
Traubenzucker (Dextrose).										
30 %	.	?	0	?	.	?
40 %	a_1	0	0	$a_1 - ?$.	.	.	a_1	a_1	.
Dextrin.										
40 %	a_2	a_2	?	a_1	.	.	.	$a_1 - ?$	a_1	a_1
5 %
4 %	.	$a_1 - ?$	0
Glycerin.										
8,55 %	0	0	0	0	0	.	.	0	0 - ?	0
Asparagin.										
2 %	a_3	a_3	$a_1 - a_2$	a_2	$a_2 r_1$	$a_1 - a_2$
Pepton.										
5 %	a_3	.	.	.	$a_1 r_2$
4 %	a_3	a_3	a	a_2	a_2	a_3	a_1	a_3	a_2	a_1
0,4 %	a_2	$a_2 - a_1$	0
0,01 %	a_1	a_1	.
Fleischextrakt.										
(neutralisirt; 48,3 % H_2O enthaltend).	a_3	$a_3 r_1$.	.	$a_2 r_1$	$a_3 r_1$	a_2	a_3	$a_2 r_3$	$a_1 r_1$
5 %	a_3	a_3	$a_2 - a_1$.	$a_2 - a_1$	a_3	a_1	$a_3 - a_2$	a_2	$a_2 r_1$
4 %	.	a_1	0	.	.	a_2	0	.	.	?
0,4 %	a_2

Außerdem ergab eine Prüfung des mit Wasser gemischten Zahnschleims eine schwache, aber deutliche Ansammlung von *Spirochaete Cohnii* durch 4,906 % Chlorkalium (= 4 % Ka) und durch 4 % Fleischextrakt. Besser schien auf diese Lösungen die beiläufig in Sumpfwasser beobachtete *Spirochaete plicatilis* zu reagiren. Auch sah ich gelegentlich *Bacillus ulna* COHN in 4 % Peptonlösung ziemlich gut einwandern.

Sehr wenig empfindlich erwiesen sich *Bacillus typhi abdominalis*, *Spirillum cholerae asiaticae*, *Spirillum Finkler-Prior* und das damit vielleicht identische MILLER'sche Zahnspirillum, sowie *Spirillum tyrogenum* DENECKE. Diese Bacterien wurden zwar nur schwach, aber doch unzweifelhaft, von 4 % Peptonlösung angezogen. Eine nur zweifelhafte Anlockung beobachtete ich bei Anwendung von 4 % Fleischextrakt, gleichviel ob dieses neutral oder etwas alkalisch (durch Kaliumcarbonat) angewendet wurde, ferner durch 4,906 % Chlorkalium (= 4 % Ka) und 4,84 % Trikaliumphosphat (alkalisch) (= 4 % Ka).

Bei höherer Concentration der Lösungen wurden die Beobachtungen unsicher, da bei der geringen Größe dieser Organismen und der gegenüber *B. termo* weniger energischen Ortsbewegung eine mechanische Ansammlung in der Capillare um so mehr ermöglicht war, als die Bewegung der genannten Arten durch concentrirtere Lösungen leicht verlangsamt oder sistirt wurde.

Dieser geringen Reaktionsfähigkeit halber unterblieb die Prüfung mit weiteren Reizmitteln. Auch wurde nicht eine Feststellung der specifischen Empfindlichkeit der einzelnen Arten versucht und ich lasse dahin gestellt, ob, wie es den Anschein hatte, die Typhusbacillen auf Pepton etwas besser reagirten, als die übrigen Species.

Von Flagellaten und Chlamydomonaden kamen besonders *Trepomonas agilis*, *Polytoma uvella* und die chlorophyllführende *Chlamydomonas pulvisculus* in ziemlich nährstoffarmem Medium zur Untersuchung (vgl. p. 595). Für diese Organismen ergibt sich zwar die gleiche Reizschwelle gegenüber Chlorkalium, doch besteht bezüglich der Ansammlung in der Capillare ein wesentlicher Unterschied. Während nämlich die in die Diffusionssphäre gelangenden Exemplare von *Trepomonas* sehr sicher in die Capillare geführt werden, sammeln sich in dieser die beiden anderen Organismen nur spärlicher an und entfliehen verhältnismäßig oft der Diffusionssphäre.

Trepomonas agilis wird ebenso sicher angelockt als *Bodo saltans*¹⁾, ist aber etwas weniger flink als *Bodo*. Schneller bewegt ist der metabolische *Hexamitus rostratus*, welcher an Empfindlichkeit (in reinem Wasser) wohl *Bodo saltans* gleich kommen mag und bei seiner sicheren Anlockung ein ausgezeichnetes Objekt vorstellt (vgl. p. 596).

Wie weit weniger *Hexamitus inflatus* gegen Chlorkalium, Pepton und

1) Vergl. Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen. I. p. 468.

Fleischextrakt empfindlich ist, ergibt sich aus der Tabelle. Bemerkte sei hier noch, dass für *Hexamitus intestinalis* eine nur unsichere Anlockung durch 1 % Fleischextraktlösung gefunden wurde.

Den in der Tabelle mitgetheilten Beobachtungen sei noch hinzugefügt, dass *Bodo caudatus* ziemlich stark durch 0,48 Trikaliumphosphat (= 0,4 % Ka) und reichlichst durch 1 % Fleischextrakt angesammelt wurde. Etwas schwächer reagierte auf diese Lösungen *Bodo ovatus* und noch schwächer *Monas guttula*. Der letztgenannte Organismus pflegt nach dem Einschwärmen in die Capillare schnell zur Ruhe zu kommen. Diese Eigenschaft hat auch *Euglena hyalina* (vgl. p. 597), die durch 1,906 % Chlorkalium oder 1 % Pepton oder 1 % Fleischextrakt in einigen Versuchen ziemlich, in anderen nur in geringem Grade in die Capillare gelockt wurde. Vielleicht wurden diese Differenzen durch die nicht immer gleiche Tendenz zum Übergang in ein Ruhestadium bedingt.

Chlamydomonas obtusa stimmte in seinem Verhalten gegen 1 % Fleischextrakt ungefähr mit *Chlamydom. pulvisculus* überein. Für *Pandorina morum* wurde durch 1 % Lösungen von Fleischextrakt und ebenso durch Pepton zwar schwache, aber unzweifelhafte Ansammlung constatirt¹⁾.

Trotz geringerer Ausdehnung reichen doch die mitgetheilten Untersuchungen aus, um erkennen zu lassen, dass die für *B. termo*, *Sp. undula* und *Bodo saltans* gefundenen allgemeinen und besonderen Verhältnisse wiederkehren. Hinsichtlich der Repulsionswirkung ist von den hier behandelten Species keine so empfindlich wie *Sp. undula*, aber auch keine so indifferent wie *B. termo*. Am auffälligsten ist das Fliehen concentrirter Lösungen bei *Polytoma uvella* und *Chlamydomonas pulvisculus*, am wenigsten bei *Sp. rubrum*, nächst dem bei *Sp. tenue* und *Trepomonas* zu bemerken. Übrigens übt Chlornatrium anscheinend eine stärkere abstoßende Wirkung auf *Sp. rubrum* aus, als auf *Sp. tenue*, während beide gegen Chlorcalcium (nach der 2 % Lösung zu urtheilen) sich gleich verhalten.

In der letzterwähnten Thatsache tritt uns wieder eine spezifische Reaktionsfähigkeit der einzelnen Arten entgegen. Eine solche Differenz besteht z. B. auch darin, dass gegenüber Chlorkalium *Chlamydomonas pulvisculus* gleichen Schwellenwerth (bei 0,49 % KaCl = 0,4 % Ka) zeigt, wie *Polytoma* und *Trepomonas*, während bei diesen Arten schon durch 0,04 % Pepton, bei *Chlamydomonas* aber erst durch 1 % Pepton eine merkliche Anziehung erreicht wird.

1) Vergl. auch Kap. VIII, wo meine früheren Angaben über Mangel chemotakt. Reizbarkeit bei *Pandorina* und *Chlamydomonas* ihre Erklärung finden.

VI. Mangel von Chemotaxis und verschiedene Ursachen der Ansammlung.

Die graduelle Abstufung der chemotaktischen Reizbarkeit vermittelt den Übergang zu Organismen, für welche eine merkliche Ansammlung nicht zu constatiren ist ¹⁾. Dieses negative Resultat wurde mit den p. 597 genannten Organismen erhalten und basirt zumeist auf der Prüfung mit Fleischextrakt und Pepton, seltner mit Chlorkalium. Diese Stoffe kamen stets in verschiedener Concentration zur Anwendung und gewöhnlich wurde die Capillare nach einigem Liegen in Wasser zu einem frischen Culturetropfen geschoben, um zu sehen, ob nicht die inzwischen eingetretene Verdünnung der Lösung im Capillarmund zu einem positiven Erfolg führte. Die Organismen selbst befanden sich thunlichst in fast reinem Wasser.

Nach dem negativen Erfolg mit diesen ausgezeichneten Reizmitteln ist zwar auf den Mangel einer den verwandten Arten entsprechenden Empfindlichkeit zu schließen, doch ist dieserhalb nicht gerade unmöglich, dass bei irgend einer Species eine ganz spezifische Reizbarkeit durch einen bestimmten Stoff ausgebildet ist. Sprechen auch zur Zeit keine sicheren Argumente für eine solche abweichende chemotaktische Reizbarkeit bestimmter Bacterien, Flagellaten, Chlamydomonaden und Infusorien, so ist doch die Möglichkeit einer solchen Besonderheit nicht abzuleugnen und in jedem Falle ist z. B. zu bedenken, dass die Samenfäden, freilich nur die verschiedener Familien, eine ganz different ausgebildete chemotaktische Reaktionsfähigkeit besitzen.

Unter den farblosen Flagellaten gewährt das Genus *Hexamitus* ausgezeichnete (*H. rostratus*), mittlere (*H. inflatus*), und kaum noch nachweisbare (*H. intestinalis*) chemotaktische Reizbarkeit. Eine solche Reizbarkeit wurde vermisst bei *Tetramitus rostratus*, *Astasia proteus* und *Chilomonas paramecium*, doch scheinen zuweilen bei dem letztgenannten häufigen Organismus Spuren von Anziehungen zu stande zu kommen. Für die sämtlichen auf p. 597 genannten chlorophyllführenden Flagellaten konnte chemische Reizbarkeit nicht constatirt werden.

Wenn sämtliche untersuchten chlorophyllfreien und chlorophyllführenden Chlamydomonaden einen positiven Erfolg gaben, so ist doch die Existenz nicht chemotaktischer Arten um so wahrscheinlicher, als *Pandorina* durch sehr schwache Empfindlichkeit den Übergang vermittelt.

Für Bacterien haben wir in sehr geringem Grade empfindliche Arten kennen gelernt und so dürfte es wohl auch ganz unempfindliche Species geben. Thatsächlich schienen einzelne zufällig beobachtete, aber nicht näher bestimmte Arten durch die vorher genannten Reizmittel gar nicht angelockt

1) Die Anlockung durch Sauerstoff bleibt hier unberücksichtigt.

zu werden. Wenn unter den benutzten Bacterien gerade die sich flink bewegenden eine relativ hohe Empfindlichkeit ergaben, so darf man doch nicht allgemein auf einen Parallelismus zwischen Bewegungsschnelligkeit und Reizbarkeit schließen, da einmal das ziemlich flinke *Spirillum volutans* zu den weniger leicht angelockten Bacterien gehört und unter den Flagellaten und Chlamydomonaden die größere Bewegungsschnelligkeit keineswegs von einer relativ ansehnlichen chemotaktischen Reizbarkeit begleitet wird.

Unter den benutzten Infusorien (vgl. p. 597) wurde kein Beispiel chemotaktischer Reizbarkeit beobachtet. Schien es auch zuweilen, als ob Fleischextrakt oder Pepton eine minimale Anziehung auf *Glaucoma scintillans* und *Colpidium colpoda* ausübten, so kann ich doch diesem zweifelhaften Erfolg um so weniger Beweiskraft beilegen, als thatsächlich diese und andere Organismen auch durch andere Ursachen zusammengelockt werden. An dieser Stelle ist deshalb eine kurze Behandlung solcher anderweitigen Ansammlungen geboten, wenn ich diese auch nicht sehr eingehend studirte und nicht gerade allseitig in causaler Hinsicht aufzuhellen vermag.

Eine ansehnliche lokale Anhäufung beobachtet man leicht bei *Glaucoma scintillans*, wenn man dieses häufige Infusorium zusammen mit Detritus auf den Objektträger bringt. Ziemlich schnell sammeln sich dann diese Organismen gruppenweise an und man überzeugt sich leicht, dass die Ansammlung zumeist um Erdtheilchen, Fragmente von Pflanzentheilen und anderen Detritus geschah. Indem die Individuen nach dem Sammelcentrum hindringen, werden diese Fragmente herumgestoßen und es entsteht ein buntes Gewimmel. Dabei eilen immer gelegentlich einzelne Individuen dieses schnell beweglichen Infusoriums fort, während andere neu hinzukommende sich in die Anhäufung eindringen.

Nach den wenigen Untersuchungen dürfte diese Ansammlung von einer Reizbarkeit durch Contact abhängen. Gewinnt man nämlich *Glaucoma* thunlichst rein, so vertheilen sich die Individuen gleichmäßig im Tropfen auf dem Objektträger¹⁾. Bringt man nun sehr kleine Fragmente von ausgekochtem Fließpapier hinzu, so kommt nicht selten um ein solches Fragment eine sehr reichliche Ansammlung zu stande. Kam an Stelle des Fließpapiers feuchtes Schwerspathpulver in die Flüssigkeit, so wurde, insbesondere um kleine Ballen dieses Pulvers, auch wiederholt eine solche Ansammlung bemerkt.

Diese Ansammlung fiel freilich nicht immer gleich gut aus, doch wurden auch im Detritus einzelne Ballen mit Vorliebe aufgesucht, und es hat mir öfters scheinen wollen, als ob aus sehr feinen Körnchen gebildete kleine

1) Sofern kein Sauerstoffmangel herrscht und die noch zu besprechende Randansammlung vermieden ist.

Fragmente seltener Sammelpunkte bildeten. Da aber das Fließpapier und ebenso wenig Baryumsulfat gelöste Stoffe nicht enthielten, eine Ansammlung durch Mangel oder Überfluss von Sauerstoff aber ausgeschlossen war, so kann schließlich nur in der Berührung die Ursache der Ansammlung gesucht werden. Dabei wäre es ja möglich, dass die Qualität des Contactes irgend wie Bedeutung hätte, wie es thatsächlich für den Reizerfolg bei den Ranken¹⁾ zutrifft. Sollte *Glaucoma* außerdem in minimaler Weise chemisch reizbar sein, so würde diese Reizbarkeit die Bevorzugung gewisser Ballen noch weiter in etwas begünstigen können.

Zur Annahme anderer Wirkung drängen die bisherigen Beobachtungen über diese Erscheinung nicht. Eine Anziehung von *Glaucoma* aufeinander, gleichviel wie verursacht, scheint ausgeschlossen, da einmal unser Organismus sich in reinem Wasser gleichmäßig vertheilt und auch einzelne Individuen ein Spielen um verschiedene Fragmente ausführen.

Das Zustandekommen dieser Anhäufung ist also folgendermaßen zu denken. Einzelne frei herumschwimmende Individuen stoßen zufällig an und wenden sich dieserhalb gegen den reizenden Körper. Nach Ansammlung einiger Individuen ist aber dann nur um so besser für das Zustandekommen einer Anhäufung gesorgt, als die durcheinanderwimmelnden Organismen nun wohl auch durch gegenseitiges häufiges Anstoßen, resp. durch den damit erzielten Reiz zusammengehalten werden.

Eine ähnliche, doch minder ausgiebige Ansammlung wurde auch für *Colpidium colpoda* und in noch minderen Grade für *Paramecium aurelia* und *Stylonychia mytilus* beobachtet.

Auf eine Reizbarkeit durch Contact führt sich augenscheinlich auch das Verhalten einiger anderen Infusorien zurück, sich an Fragmente anzuschmiegen, eine Strecke weit an diesen fortzukriechen und dann davon zu eilen. Ich verfolgte dieses an *Urostyla Weissii*, einem metabolischen Infusorium, welches sich z. B. zugeschobenen Glasfäden mit der Bauchseite anlegt und sich nicht selten um den Glasfaden mehr oder weniger herumkrümmt. Mit Rücksicht auf die Wirksamkeit des Glasfadens muss wohl ein Contactreiz auf den zufällig anstoßenden Organismus die Ursache dieser Erscheinung sein. Da aber *Urostyla* nach einiger Zeit davon eilt, muss der Reiz entweder nur eine vorübergehende Wirkung erzielen, wie bei *Mimosa pudica*, oder es muss eine Gewöhnung an den Reiz eintreten, wie in Ranken, oder es könnte der Erfolg auch durch anderweitige in dem Organismus zur Geltung kommende Bestrebungen erreicht werden.

Länger bekannt ist die Vereinigung von *Sp. serpens* zu Schwärmen²⁾. Das auffällige Zusammenwandern dieser Art zu Gruppen habe ich in reineren Culturen vielfach gesehen, doch verzichte ich auf ein näheres Eingehen, da

1) Vergl. PFEFFER, Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen. Bd. I. p. 483.

2) Vergl. COHN, Beiträge z. Biologie. Bd. I. 1872. Heft 2. p. 179.

ich das Phänomen nicht zweifellos aufzuhellen vermag. Vielleicht wird dieses Zusammenhaften wesentlich durch die klebrige Oberfläche von *Sp. serpens* bedingt und die oft strahlige Anordnung kommt möglicherweise durch gleiche Ursachen zu stande, wie bei den Oscillarieen¹⁾. Für eine Reizbarkeit durch Contact sprechen meine Beobachtungen nicht und gegen eine wechselseitige Anlockung durch Secrete ist anzuführen, dass dieses Zusammenwandern auch in 0,4 % Fleischextrakt eintrat, also in einer Flüssigkeit, die, der Unterschiedsempfindung halber, schon ansehnliche chemotaktische Reize eliminirt haben würde (vgl. Kap. IX).

Ein mechanisches Festhaften kann natürlich in verschiedener Weise zu einer Ansammlung führen. Wie eine solche durch Schleimmassen veranlasst werden kann, habe ich früher²⁾ für *Pandorina* beschrieben. Auch des Festhaltens von *Bodo saltans* wurde schon gedacht (p. 595). Nach Beobachtungen an *Monas guttula* dürften auch manche Stoffe, ohne schädlich zu wirken, diesen Organismus veranlassen, seine Bewegungen einzustellen.

Gedacht muss hier auch werden einer Ansammlung am Tropfenrand. Auf offenem Objektträger sammeln sich nämlich Bacterien und andere kleine Organismen nach einiger Zeit mehr oder weniger auffallend am Rande des Tropfens, gleichviel ob dieser auf der Oberseite oder Unterseite des Glases sich befindet. Da aber zuvor getödtetes *B. termo* und ebenso andere kleine Partikel dieselbe Erscheinung bieten, so dreht es sich hier um ein physikalisches Phänomen, das von der Wasserverdampfung abhängig ist, da diese Ansammlung lebender Organismen und todter Partikel unterbleibt, wenn der Tropfen sorgfältig in einer Feuchtkammer gehalten wird.

Diese Erscheinungen werden durch dieselben Ursachen hervorgerufen, welche in einer Salzlösung das Auskrystallisiren am Rande des Tropfens bewirken. Mit Verweisung auf NÄGELI³⁾ sei hier nur bemerkt, dass bei dem starken Randwinkel am Rande des Tropfens die Oberfläche für die Einheit der Grundfläche ansehnlicher ist und dass ferner die Capillarkräfte auf Erhaltung des Randwinkels hinarbeiten. Aus beiden Ursachen entspringt eine Wasserströmung nach dem Rande, die kleine Partikel mitzuführen vermag und am Rande Salztheilchen schneller anhäuft, als sie die Diffusion zurückführt. Mit Herstellung einer concentrirteren Lösung am Tropfenrand kann aber für die chemotaktisch reizbaren Organismen noch eine weitere Ursache für ein Wandern nach dem Tropfenrand hinzukommen⁴⁾.

Bei schneller Erledigung des Versuches ist diese Randwanderung in

1) Vergl. PFEFFER, Physiologie. II. p. 366.

2) Unters. a. d. bot. Inst. in Tübingen. I. p. 442.

3) Botanische Mittheilungen. Bd. I. 1863. p. 436.

4) Möglich wäre auch, dass, wie bei Myxomyceten, Wasserströmung als Reiz wirkt, doch spricht bis dahin keine Beobachtung für eine solche Reizbewegung der hier behandelten Organismen.

den Experimenten mit Capillaren nicht störend, doch kann sie ja nöthigenfalls durch Zuhülfenahme einer Feuchtkammer verhütet werden.

Natürlich kann auch eine ungleiche Vertheilung von Sauerstoff eine Ansammlung der durch Sauerstoff reizbaren Organismen am Rande hervorrufen, doch kommt ein dazu nöthiger Sauerstoffmangel auf offenem Objektträger und bei Anwesenheit einer mäßigen Menge von Individuen nicht zu Wege.

In jedem Falle darf man stets nur, unter kritischer Würdigung der möglichen Fehlerquellen, auf chemische Reizbarkeit schließen und die Ansammlung um ein Fliegenbein kann z. B. auch durch Contactreize, durch mechanisches Haften u. s. w. verursacht sein. Übrigens ist eine einigermaßen kräftige chemische Reizwirkung immer leicht als solche zu erkennen.

VII. Repulsionswirkungen.

Nachdem der abstoßenden Wirkungen schon mehrfach gedacht wurde, soll diese negative Chemotaxis hier im Zusammenhang besprochen werden.

Nach den bisherigen Beobachtungen tritt bei vielen neutral reagirenden Körpern eine abstoßende Wirkung ein, sobald die Lösung eine gewisse, aber specifisch verschiedene Concentration übersteigt. Ferner veranlassen freie Säuren und Alkalien schon in großer Verdünnung, aber auch sauer oder alkalisch reagirende Salze, ein Fliehen aller Organismen, und ebenso scheint Alkohol stets stark repulsiv zu wirken.

Sofern neben der Anziehung eine genügende Repulsion zur Geltung kommt, spielt sich die Reaktion um eine zugeschobene Capillare im allgemeinen in der p. 584 skizzirten Weise ab, gleichviel ob die Repulsion durch gesteigerte Concentration eines auch positiv chemotaktisch wirkenden Körpers oder durch Zusatz von Säure, Alkali oder Alkohol zu einer anziehend wirkenden Lösung erzielt wird. Wie dort beschrieben, steuern die Organismen auf die Capillaröffnung zu, bis sie in einer Diffusionszone, in welcher Attraktion und Repulsion sich im Gleichgewicht befinden, Halt machen und so näher oder ferner vom Capillarmund eine Ansammlung bilden. Diese rückt, weil ja die Lösung im Capillarmund durch Diffusion verdünnter wird, mit der Zeit näher heran, und endlich können auch die angelockten Organismen in die Öffnung der Capillare gelangen, in welche sie bei genügend geringer Repulsion gleich anfangs mit mehr oder weniger Widerstreben ihren Weg finden.

Umgekehrt lassen sich aber auch Organismen in eine mit Wasser (oder mit positiv reizender Lösung) gefüllte Capillare treiben, wenn sie sich in einem Medium befinden, das repulsiv wirkt, ohne die Bewegungen aufzuheben.

Aus dem geschilderten Verlauf der Reaktion folgt unmittelbar, dass mit der Verdünnung die Repulsion schneller abnimmt, als die Attraktion. Wo

beide im Spiele sind, muss es für die Ansammlung in der Capillare ein nach Stoff und Organismus specifisch verschiedenes Optimum der Concentration des Reizmittels geben, da mit zunehmender Verdünnung auch die anziehende Wirkung abnimmt und endlich unter den Schwellenwerth sinkt. Das umgekehrte Verhältniß, dass nämlich ein Körper in verdünnter Lösung abstoßend, in concentrirter anziehend wirkt, ist bis dahin nicht bekannt geworden.

Überwiegt in allen Concentrationen die Repulsion, so kann natürlich eine thatsächlich angestrebte Anziehung theilweise verdeckt oder auch ganz unmerklich werden. Es ist dieses in der That in allen Abstufungen zu erreichen, indem man durch Zusatz von geringeren oder größeren Mengen Alkohol (oder auch einer Säure) zu einem verdünnten Reizmittel (z. B. Chlorkalium), bei constanter Attraktion, den Grad der Repulsion beliebig steigern kann. Ebenso wie in diesem Gemische wird aber auch dann, wenn beide Wirkungen von demselben Stoffe ausgehen, die Anziehung nie merklich werden, wenn sie erst bei einer Concentration beginnt, die überwiegend repulsive Wirkungen ausübt. So ist es, wie schon früher bemerkt wurde, zu erklären, dass durch Stoffe von geringerer Attraktionswirkung wohl die gegen Concentration weniger empfindlichen, nicht aber die gegen Concentration sehr empfindlichen Organismen in merklicher Weise angelockt werden konnten.

Lässt sich auch in dem letztgenannten Falle die positiv chemotaktische Wirkung direkt nicht immer sichtbar machen, so dürfen wir doch auf ihre Existenz in vollberechtigter Weise schließen. Dagegen ist kein Grund, den für alle Concentrationen gültigen Indifferentismus, z. B. des Glycerins, damit zu erklären, dass Attraktion und repulsive Wirkungen zwar vorhanden sind, aber für alle Concentrationen sich genau das Gleichgewicht halten. Gegen einen solchen Parallelismus sprechen entschieden die bisherigen Erfahrungen um so mehr, als es nicht zu verstehen ist, wie dieses Gleichgewicht ebenso gut für die repulsiv empfindlichen als unempfindlichen Organismen zu stande kommen sollte. Zudem sind in den Samenfäden der Farne und Moose Organismen bekannt, welche nur von einem bestimmten Körper angelockt werden.

Die specifisch ungleiche Repulsion durch Concentration ist schon früher erwähnt und aus den tabellarischen Übersichten (p. 604 u. 644) zu entnehmen. Es sei deshalb hier nur bemerkt, dass bei *Bacterium termo* durch keine neutrale Lösung eine gänzliche Eliminirung der Ansammlung durch Abstoßung beobachtet wurde, während ein solcher Erfolg bei *Spirillum undula* meist schon bei mäßiger Concentration der Lösungen eintrat. Zwischen diesen Extremen bewegen sich die an anderen Arten beobachteten Erfolge und von Flagellaten wird z. B. *Bodo saltans* ziemlich stark, *Trepomonas agilis* nur schwach von concentrirten Lösungen abgestoßen. Stärkere Säuren und Alkalien bringen auch schon in sehr verdünnter Lösung stets repul-

sive Reizwirkung zu Wege, doch scheint gegen diese wiederum *Bact. termo* etwas weniger empfindlich zu sein, als *Sp. undula*, und ebenso dürfte ein ähnliches Verhältnis gegen Alkohol bestehen. Diese verschiedene Repulsionswirkung gegen saure und alkalische Reaktion ist auch schon aus den Erfolgen mit Mono- und Trikaliumphosphat zu entnehmen (vgl. p. 604).

Mit einer negativ chemotaktischen Wirkung muss keineswegs nothwendig eine positive chemotaktische Wirkung verknüpft sein. Evident lehren dieses die Samenfäden der Farne, welche nur durch Äpfelsäure und Maleinsäure angelockt werden, aber beliebige Säuren und Alkalien, ebenso genügend concentrirte Lösungen anderer neutraler Stoffe fliehen. Da ich nicht bestrebt war zu ermitteln, in wie weit analoge Verhältnisse bei unseren Organismen obwalten, so muss ich es dahin gestellt lassen, ob z. B. freie Salzsäure oder Citronensäure überhaupt eine Attraktion ausübt, die speciell für verdünntes Kaliumcarbonat constatirt wurde (vgl. p. 604).

Die Repulsion der Samenfäden durch concentrirte neutrale Lösungen verschiedenster Stoffe zeigt unmittelbar, dass ein Körper nicht anziehend wirken muss, um Repulsion zu erzeugen. Diese kommt indess nicht einfach als Funktion der Concentration, d. h. der damit im Zusammenhang stehenden allgemeinen physikalischen Eigenschaften zu stande, da z. B. Glycerin, selbst bei hoher Concentration und osmotischer Leistung¹⁾, kein Fliehen der hier behandelten Organismen veranlasst. Die repulsive Wirkung hängt also vielmehr von der specifischen Qualität des Stoffes ab. Dieses geht auch aus der starken Repulsion durch Alkohol, Säuren und Alkalien und ferner z. B. daraus hervor, dass Pepton schon in 4prozentiger und also sehr wenig osmotisch wirksamer Lösung auf *Spirillum undula* erheblich abstoßend wirkt. Pepton ist zugleich ein Beispiel für die repulsive Wirkung eines colloidalen Körpers, während Glycerin lehrt, dass nicht jede krystalloide Lösung Abstoßung erzielen muss.

Aus dem Verhalten der Samenfäden, ebenso aus der anscheinend nur repulsiven Wirkung von Alkohol, Säuren und Alkalien gegen unsere Organismen folgt also, dass Repulsion nicht mit Attraktion verknüpft sein muss und umgekehrt. Dass auch nicht immer ein gutes Reizmittel mit hoher Concentration stark repulsiv wirkt, ist z. B. aus dem Einschwärmen der Samenfäden der Moose in 15prozentige Lösung von Rohrzucker zu ent-

1) Unter der Annahme, dass die plasmolytische Leistung des Glycerins zum Molekulargewicht in analogem Verhältnis steht wie bei den Zuckerarten, ergibt sich, dass für Glycerin (Molekulargewicht = 92) die Lösung ungefähr nur halb so concentrirt zu sein braucht als bei Invertzucker (Molekulargewicht = 180), um gleiche Plasmolyse zu erzielen, was in der That nach flüchtigen Beobachtungen zuzutreffen scheint. Nach der bei DE VRIES (Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XIV. p. 537) mitgetheilten Tabelle würde eine 1,32 gewichts-proc. Lösung von Glycerin isotonisch sein mit einer 1,01 % Lösung von Salpeter und einer 1,30 % Lösung von Kalisulfat, welche letztere aber bei gleicher osmotischer Leistung sehr stark repulsiv wirkt.

nehmen¹⁾. In welchem Verhältnis Anziehung und Abstoßung da stehen, wo beide zur Geltung kommen, ist aus unseren Versuchen nicht mit Sicherheit zu ersehen, da, wenigstens bei repulsiver Wirkung, immer nur die Differenz gegen die der Größe nach unbekannte Attraktion im Experiment beobachtet wurde. Nach dem allgemeinen Eindruck scheint aber z. B. bei *Bodo saltans* die Repulsion durch das stark positiv reizende Pepton und auch durch das immerhin ansehnlich reizende Dextrin verhältnismäßig gering zu sein, und vielleicht wirken auch neutrale Salze des Kaliums weniger abstoßend, als die des Natriums, Caesiums oder Lithiums.

Je nach der Qualität des Stoffes und nach den Eigenschaften des Organismus fällt also die Repulsivwirkung spezifisch verschieden aus²⁾ und muss auch nicht mit positiver Chemotaxis verknüpft sein. Und wie auf Samenfäden auch Körper repulsiv wirken können, welchen keine Attraktion zukommt, so wird auch eine repulsive Wirkung für solche Organismen bestehen können, denen überhaupt positive Chemotaxis abgeht. Ohne nähere Prüfung glaube ich doch beobachtet zu haben, dass *Chilomonas paramecium* durch Alkohol und Säuren zum Fliehen veranlasst wird. Überhaupt liegen hier analoge Beziehungen vor, wie in anderen Reizwirkungen, z. B. im Heliotropismus. Auch dieser ist nicht in allen Pflanzen ausgebildet, und während gewisse Pflanzen entweder nur positive oder negative heliotropische Erscheinungen bieten, macht in anderen mit steigender Intensität der Beleuchtung der positive einem negativen Heliotropismus Platz. Fällt schon beim Heliotropismus den Strahlen ungleicher Wellenlänge eine wenigstens graduell verschiedene Reizkraft zu, so sind die chemotaktisch wirkenden Körper überhaupt spezifisch verschiedene Reizmittel, welche durch ihre besonderen Qualitäten, nicht durch die Diffusionsbewegung oder andere allgemeine physikalische Eigenschaften von Lösungen, den zur Chemotaxis führenden Reiz ausüben.

Zu diesen Schlussfolgerungen über repulsive Wirkungen kam ich im wesentlichen schon in meinen früheren Untersuchungen über Samenfäden und Bakterien³⁾. Die dort ausgesprochene Annahme, dass die Repulsion durch Concentration von den mit dieser zusammenhängenden allgemeinen physikalischen Wirkungen herrühre, ist durch die mitgetheilten erweiterten Erfahrungen widerlegt. Übrigens betonte ich schon damals die spezifisch repulsiven Wirkungen von Säuren und Alkalien und zeigte, dass die Samen-

1) PFEFFER, Unters. aus dem bot. Institut in Tübingen. Bd. I. p. 432.

2) Von den durch schnelleren Concentrationswechsel erzielten besonderen Wirkungen sehe ich hier ab. Dahin gehören z. B. die Zuckungsbewegungen der Wimpern von *Chlamydomonas* (PFEFFER l. c. p. 444), das Verhalten der Myxomyceten bei plötzlichem Übertragen in concentrirte Medien (STAHL, Bot. Zeitung. 1884. p. 166). Auch ist bekannt, dass niedere Organismen allmählich an concentrirtere Lösungen accommodirt werden können, während eine plötzliche Übertragung sie tödten würde (COHN, Nov. Act. Acad. Caes. Leopold. XXIV. 1854. 1. p. 133 Anmerkng.). Vergl. auch PFEFFER, Physiol. Bd. II. p. 451.

3) Unters. a. d. bot. Inst. in Tübingen. Bd. I. p. 384, 456.

fäden der Farne keineswegs alle für sie schädlichen Stoffe fliehen. Auch wurde hervorgehoben, dass eine Umkehrung der positiv chemotaktischen Wirkung des Sauerstoffs, mit zunehmender Menge dieses, durch ENGELMANN ¹⁾ bekannt ist und dass überhaupt in verschiedenen Fällen ein reizendes Agens mit steigender Intensität der Wirkung zu gerade entgegengesetzten Erfolgen führt.

Abstoßende Reizwirkung durch saure Reaktion.

Zum Belege, wie je nach der Relation von Attraktion durch einen Körper und von Repulsion durch eine Säure unseren Organismen ein Eindringen in die Capillare gelingt oder nicht gelingt, mögen hier folgende Versuche Erwähnung finden.

a) 4,906 % Chlorkalium (= 4 % Ka) mit 5 % Citronensäure²⁾. *Sp. undula* bildet in ziemlicher Entfernung vom Capillarmund eine Sphäre, auch *B. termo* prallt zum guten Theil zurück, doch dringen einzelne Individuen in den Capillarmund, um hier den Tod zu finden.

b) 0,194 % Chlorkalium (= 0,4 % Ka) + 0,4 % Citronensäure. *Sp. undula* und *B. termo* steuern schnell bis gegen den Capillarmund, doch dringt nur *B. termo* in mäßiger Menge ein.

c) 0,194 % Chlorkalium (= 0,4 % Ka) mit 0,04 % Citronensäure. In diese noch deutlich saure Lösung dringt *B. termo* sehr reichlich, auch *Sp. undula* ziemlich gut ein.

d) 0,0494 % Chlorkalium (= 0,04 % Ka) mit 0,04 % Citronensäure. *B. termo* sammelt sich reichlich, *Sp. undula* in geringerer Menge in der Capillare, als es ohne Zusatz der Citronensäure der Fall gewesen wäre.

Ähnlich fielen Versuche mit *Bodo saltans* und beiläufige Beobachtungen an *Spirillum tenue*, *rubrum*, *Hexamitus rostratus*, *Trepomonas agilis* aus. Auch mit Salzsäure oder Oxalsäure schwach angesäuertes Chlorkalium, sowie Pepton nach Zusatz von Citronensäure ergaben ein entsprechendes Resultat.

Die abstoßende Wirkung von Monokaliumphosphat ist aus der Übersicht p. 604 zu ersehen.

In einer Flüssigkeit mit 0,5 % Citronensäure stellen sehr bald *Sp. undula* und *Bodo saltans*, ziemlich bald auch *B. termo* ihre Bewegungen ein, während alle bei 0,4 % Citronensäure eine gewisse Zeit in Bewegung bleiben.

Aus obigen Beobachtungen, im Vereine mit der Thatsache, dass *B. termo* auch noch in schwach sauren Lösungen gedeiht, lässt sich nicht folgern, dass allgemein die Säuren am meisten abstoßend auf diejenigen Organismen wirken, welche in ihrer Entwicklung am meisten durch saure Beschaffenheit des Mediums gehemmt werden. Untersuchungen in dieser Richtung habe ich nicht angestellt, ebenso nicht hinsichtlich des Einflusses der alkalischen Reaktion auf Repulsion im Vergleiche zur Entwicklungshemmung³⁾.

Abstoßende Reizwirkung durch alkalische Reaktion.

Nach dem positiven Erfolge mit Kaliumcarbonat, Ammoniak, Äthylamin und Kaliumtriphosphat dürfte eine genügend alkalische Beschaffenheit allgemein eine abstoßende

1) Literatur vergl. PFEFFER l. c. p. 386, 456. Beobachtungen für die Beggiatoen finden sich ferner bei WINOGRADSKY, Bot. Ztg. 1887. p. 546.

2) Hierbei wird jedenfalls nur sehr wenig Salzsäure in Freiheit gesetzt, da nach THOMSEN'S Bestimmungen der Avidität (vergl. L. MEYER, Moderne Theorien d. Chemie. 4. Aufl. 1883. p. 489) sich bei gleichen Äquivalenten Salzsäure und Citronensäure im Verhältnis von 4 : 0,05 auf Basen vertheilen. Vergl. auch PFEFFER, Untersuch. a. d. bot. Institut in Tübingen. Bd. II. p. 296.

3) Lit. vergl. z. B. ZOPF, Spaltpilze. III. Aufl. 1885. p. 44 u. FLÜGGE, Mikroorganismen. II. Aufl. 1886. p. 433.

Wirkung ausüben. Die Erfolge mit Trikaliumphosphat sind in der Tabelle p. 604 angeführt, ebenso die mit Kaliumcarbonat. Zu bedenken ist, dass bei großer Verdünnung die ganze Menge des Kaliumcarbonats leicht in das stark anziehende Dicarbonat verwandelt wird. In Flüssigkeit mit 0,88 % Kaliumcarbonat (= 0,3 % Ka) kamen *Bact. termo* und *Sp. undula* sehr schnell zur Ruhe, während ihre Bewegung bei 0,177 % Kaliumcarbonat (= 0,1 % Ka) ziemlich gut sich erhielt.

a) 0,19 % Chlorkalium (= 0,1 % Ka) + 0,177 % Kaliumcarbonat (= 0,1 % Ka).

b) 0,19 % Chlorkalium (= 0,1 % Ka) + 0,0177 % Kaliumcarbonat (= 0,01 % Ka).

In die Flüssigkeit b, die übrigens deutlich alkalisch reagiert, dringen *Bact. termo*, *Sp. undula* und *Bodo saltans*, die beiden letzteren jedoch mit einem gewissen Widerstreben, gut ein, während *Sp. undula* und *Bodo* die Flüssigkeit a stark fliehen und *B. termo* nur vereinzelt in die Capillare gelangt.

c) 0,19 % Chlorkalium + 1 % Äthylamin wirkt auf *B. termo* stark und auf *Sp. undula* noch stärker repulsiv.

Gegen obige Flüssigkeiten verhielten sich ähnlich *Sp. tenue*, *Trepomonas agilis* und *Hexamitus rostratus*.

Repulsion durch Alkohol. — 0,049 % Chlorkalium + 2 % Alkohol wurde von *Sp. undula* sehr entschieden geflohen, während *B. termo* bei deutlicher Repulsion sich in mäßiger Zahl in der Capillare einfand. Diese Ansammlung unterblieb aber bei einer Steigerung des Alkohols auf 10 %.

Bei Anwendung von 0,1 % Fleischextrakt mit 2 % Alkohol prallte *Bodo saltans* an dem Mund der Capillare zurück, während dieser Organismus mit 1 % Fleischextrakt und 2 % Alkohol, wenn auch mit gewissem Widerstreben, in ziemlicher Zahl in die Capillare gelockt wurde.

Gegenüber den genannten Gemischen aus Chlorkalium und Alkohol wurden analoge Resultate mit *Sp. tenue*, *Trepomonas agilis* und *Hexamitus rostratus* beobachtet. Durch Alkohol allein konnte weder bei 1, noch bei 0,1 % Gehalt eine anziehende Wirkung auf *Sp. undula* und *B. termo* beobachtet werden, dagegen machte sich bei 1 % eine entschieden abstoßende Wirkung bemerklich. Diese ist indess bei Mangel einer anziehenden Wirkung weniger gut zu erkennen, da das Meiden der Umgebung der Capillaröffnung nicht immer auffällig ist, und so dürfte im allgemeinen die Vereinigung eines schwach anziehenden Körpers mit dem auf Repulsion zu prüfenden Stoff die empfehlenswerthere Methode sein.

Repulsion durch Concentration.

Die ungleiche Empfindlichkeit verschiedener Organismen ist genugsam aus den Tabellen zu ersehen. Es sei hier nur noch darauf hingewiesen, dass z. B. *Bact. termo* noch in eine Lösung mit 19,06 % Chlorkalium (= 10 % Ka), 20,3 % Chlornatrium (= 8 % Na) und 40 % Chlorcalcium (= 14,4 % Ca) einschwärmte und überhaupt in keinem Falle, abgesehen von Alkohol, ein neutraler Stoff eine dominierend repulsive Wirkung ergab. Übrigens wurde auch schon früher von mir diese hohe Unempfindlichkeit von *B. termo* gegenüber der stark repulsiven Eigenschaft von *Sp. undula* dargethan¹⁾. Beim Eintritt in so hoch concentrirte Lösungen wird die Bewegung schnell gehemmt und eine alleinige Anhäufung in dem Mund der Capillare ist die naturgemäße Folge. Übrigens führen auch Glycerin und Traubenzucker in concentrirten Lösungen Bewegungshemmung herbei.

Der Indifferentismus von Glycerin ergibt sich daraus, dass *Bact. termo*, *Sp. undula*, *tenue*, *Bodo saltans*, *Trepomonas agilis*, *Polytoma* und *Chlamydomonas*²⁾ in 8,55 procentige

¹⁾ Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen. Bd. I. p. 455.

²⁾ Die Reizung der Wimpern von *Chlamydomonas* (vergl. PFEFFER l. c. p. 445), die

und, soweit geprüft, auch in 47,4 procentige Lösung etwa in gleichen Zahlen steuern, wie in mit Wasser gefüllte Capillaren. Dem entsprechend bringt auch ein Zusatz von etwas Reizmittel eine gute Ansammlung im Glycerin hervor, wie ich, unter Verwendung von 47,4 procentigem Glycerin, mit Zugabe von 0,0049 % Chlorkalium (= 0,001 % Ka) für *B. termo*, und mit Zusatz von 0,049 % Chlorkalium für *Sp. undula* constatirte. Ebenso verhielten sich *Sp. undula* und *Bodo* gegen 40- und 30 procentige Traubenzuckerlösung, die 0,049 % Chlorkalium (= 0,01 % Ka) enthielt. Bei gleichem Zusatz lockte auch eine 40 procentige Dextrinlösung *Sp. undula* in die Capillare. Auch gegen dieses empfindliche *Spirillum* macht also weder Dextrin, noch Traubenzucker, noch Glycerin eine merkliche repulsive Wirkung geltend.

Die Beobachtung, ob die durch ein Reizmittel in eben merklicher Weise erzeugte Anlockung nach Zugabe eines anderen Körpers noch fortbesteht oder nicht, ist überhaupt eine allgemeine Methode, um einen Körper auf seine repulsive Wirkung zu prüfen. In dieser Weise wurde u. a. unter Anwendung von 0,049 % Chlorkalium (= 0,01 % Ka) constatirt, dass weder 0,2 % Chlorealcium, noch 0,023 % Kaliumferrocyanid (= 0,01 % Ka), noch 0,034 % Kaliumchlorat (= 0,01 % Ka) eine abstoßende Wirkung auf *Sp. undula* und *Bodo saltans* ausüben, dass eine solche also nicht wohl für den negativen Reizerfolg mit so verdünnten Lösungen der genannten Stoffe verantwortlich gemacht werden kann. Beiläufig sei hier bemerkt, dass die in 0,343 % Kaliumchlorat, resp. in 0,235 % Kaliumferrocyanid eingefangenen Organismen (*B. termo*, *Sp. undula* und *Bodo saltans*) noch nach einer Stunde sich gut bewegten, dass also diese Stoffe in solcher Verdünnung nicht besonders giftig wirken.

Aus dem Antagonismus von Attraktion und Repulsion erklärt es sich auch, dass mir früher 1) die chemotaktische Reizbarkeit von *Chlamydomonas pulvisculus* entging. Denn abgesehen von den in der Publikation genannten Gemischen kam früher u. a. 2 procentiges Fleischextrakt zur Verwendung, das in der That ohne Neutralisation keine oder doch nur unsichere Ansammlung hervorruft. Für Grasextrakt und Gemische, in denen ein guter Theil der Stoffe nur geringe Reizkraft hat, versteht man aber leicht das Ausbleiben einer merklichen anziehenden Wirkung. Eine solche konnte aber bei der minder reizbaren *Pandorina morum* noch weniger zur Geltung kommen.

Übrigens ändert die Existenz schwacher chemotaktischer Reizbarkeit nichts an den Schlussfolgerungen, welche auf die Ansammlung von *Pandorina* in Schleimmassen früher basirt wurden. Ebenso ist es aus den seiner Zeit geltend gemachten Erwägungen nach wie vor wahrscheinlich, dass sich die Gameten von *Chlamydomonas pulvisculus* nicht durch Secretion eines Stoffes anziehen.

Vermöge der negativ chemotaktischen Eigenschaften vermeiden unsere Organismen wohl manche, aber keineswegs alle schädlichen Lösungen. Gut scheinen alle Arten schädliche saure oder alkalische Medien, ferner auch Alkohol zu fliehen. Dagegen steuern die gegen Concentration neutraler Stoffe weniger empfindlichen Organismen oft massenhaft in Lösungen, die durch ihre Concentration keine Entwicklungsstätte bieten, oder auch schnell den Tod herbeiführen, während andere Organismen durch ihre negativ chemotaktische Reizbarkeit so schädliche Concentrationen mehr oder weniger gut vermeiden. Übrigens können auch *Spirillum undula*, *Bodo* u. a. durch Zusatz von etwas

auch bei *Polytoma* durch Übergang in concentrirtere Lösungen erzielt wird, hält wohl das Einschwärmen dieser Organismen in Glycerin etwas auf, ohne indess dasselbe aufzuheben.

1) L. c. p. 441.

Reizmittel in tödtliche Concentrationen von Glycerin oder Traubenzucker gelockt werden.

Auch intensive Gifte werden nicht nothwendig geflohen. So steuerten ohne merkliche Repulsion *B. termo*, *Sp. undula* und *Bodo* in Capillaren, welche neben 0,049 % Chlorkalium (= 0,04 % Ka) 0,05 oder in anderen Versuchen 0,04 % Quecksilberchlorid enthielten, obgleich baldigst nach dem Eintritt der Tod erfolgte. Auch für Samenfäden der Farne wurde schon früher der Mangel einer Repulsion gegenüber Quecksilberchlorid und ebenso gegen Strychnin hervorgehoben ¹⁾.

Ferner locken salzsaures Morphinum in 4 procentiger und salicylsaures Natrium in 4 und 0,4 proc. Lösung *B. termo* in ziemlicher Menge an und nach Zusatz von 0,049 % Chlorkalium (= 0,04 % Ka) eilt auch *Sp. undula* gut in die eben genannten Lösungen. Übrigens führen diese Stoffe erst nach 40 bis 60 Minuten den Stillstand der Bewegungen bei den genannten Bacterien herbei.

VIII. Die Reizschwelle und die Wirkung von Gemischen.

Mit Verweisung auf die frühere allgemeine Behandlung der Reizschwelle ²⁾ können wir uns hier in mancher Hinsicht zwar kurz fassen, doch müssen einige Punkte behandelt werden, welche erst durch die nähere Untersuchung der Bacterien u. s. w. klarer hervortreten.

Durch die zur Erzielung eben merklicher Reaktion, also zur Erreichung der Reizschwelle, nothwendige Concentration erhalten wir eine Vorstellung von dem relativen Reizwerthe verschiedener Körper, der, wie die schon mitgetheilten Thatsachen lehren, sehr ungleich ist. Für das empfindliche *Bacterium termo* wird durch das stark reizende Pepton z. B. schon bei 0,004 procentiger Lösung die Reizschwelle erzielt und unter diesen Umständen ist thatsächlich eine absolut sehr geringe Stoffmenge nöthig. In einem concreten Falle maß die Capillare 0,02 mm im Durchmesser und war auf eine Länge von 4,5 mm mit 0,04 proc. Peptonlösung gefüllt. Diese enthielt im Ganzen ungefähr den 200millionsten Theil eines Milligramms (0,000 000 00472 mgr) an Pepton, eine zwar absolut sehr geringe Menge, die aber keine verschwindende Größe gegenüber *B. termo* ist, von dem ein Individuum etwa den 500millionsten Theil eines Milligramms wiegen dürfte ³⁾. Thatsächlich kommt nun freilich von diesem Gesamtgehalt an Pepton nur ein sehr kleiner Bruchtheil zur Wirkung auf ein Bacterium, aber immerhin ist diese Reizwirkung durch absolut so geringe Mengen nicht wunderbarer, als etwa die

1) Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen. I. p. 388.

2) Ebend. p. 379.

3) Nimmt man für *B. termo* einen Durchmesser von 0,004 mm, eine Länge von 0,002 mm und ein spezifisches Gewicht gleich dem des Wassers an, so berechnet sich ein Gewicht von 0,000 000 00457 mgr.

Fähigkeit eines Menschen, noch den 460 millionsten Theil eines Milligramms von Merkaptan ¹⁾ wahrzunehmen, insbesondere, wenn man mit relativem Maße, also mit Berücksichtigung der Körpergröße der Organismen misst. Übrigens wurde diese Reizwirkung absolut geringer Mengen schon früher näher behandelt ²⁾. Auch ist in dieser oft citirten Arbeit erwähnt, dass gewisse Reizwirkung ein Körper schon in einer Verdünnung ausübt, welche zur Erzielung deutlicher Ansammlung nicht ausreicht, und ferner gezeigt, wie bei minimaler Reizung die Ansammlung nur unsicher ausfallen kann ³⁾. Im allgemeinen gelten diese Erwägungen auch für den Schwellenwerth der Repulsion, gleichviel ob diese aus dem Antagonismus von Anziehung und Abstoßung resultirt, oder ob ein Körper nur abstoßend wirksam ist.

In Gemischen kommt die Reizwirkung verschiedener Stoffe zur Geltung, und sofern Repulsion und chemische Umsetzungen ausgeschlossen sind, dürften sich im allgemeinen die Reizwirkungen summiren. Zur Erzielung gleichen Erfolges muss deshalb von dem weniger wirksamen Natriumsalz mehr hinzugefügt werden, als von dem Kalisalz. Auch vermag die Vereinigung zweier Körper die Reizschwelle zu erzeugen, während in der gebotenen Verdünnung jeder Stoff für sich eine merkliche Reaktion nicht hervorbringt. Dieses trifft in der That zu, und damit findet auch die obige Annahme über Wirkung von Mischungen ihre empirische Bestätigung. Die Möglichkeit von Ausnahmen ist indess zuzugeben, denn es könnte z. B. — wovon noch die Rede sein wird — der Einfluss eines Stoffes die Sensibilität des Organismus derart beeinflussen, dass ein anderer Stoff nunmehr einen anderen Reizerfolg erzielt.

Aus der Summation antagonistischer Reizwirkungen entspringen natürlich Erfolge, wie sie schon für das Zusammengreifen von Attraktion und Repulsion beschrieben wurden. So kann z. B. ein Organismus von einem schwächer reizenden Medium hinweggelockt werden, mag die stärkere Reizung nun durch ein Kalisalz, durch Sauerstoff oder durch Licht erzielt werden. Mit *Chlamydomonas* lässt sich z. B. leicht zeigen, wie, je nach der Intensität der Reizwirkung, Chemotropismus durch Phototaxis oder umgekehrt überwogen wird.

Von Versuchen mit Gemischen seien hier folgende erwähnt: 0,00095 % Chlorkalium (= 0,0005 % Ka.) und 0,0005 % Pepton lockten isolirt *Bact. termo* nicht deutlich an, erzielten aber in ihrer Vereinigung den Schwellenwerth. Gleiches Resultat wurde mit 0,00095 % Chlorkalium und 0,007 % Chlrorubidium (= 0,005 % Rb) erzielt. Eine Mischung von 1 % Kreatin und 1 % Traubenzucker zog *B. termo* merklich, *Sp. undula* und *Bodo saltans* dagegen nicht merklich an. Mit diesen beiden letztgenannten Organismen wurde aber eine dem Schwellenwerthe entsprechende Anlockung nach Hinzufügen von 0,00095 % Chlorkalium erreicht. Dass das indifferente Glycerin keinen

1) E. FISCHER u. F. PENTZOLDT, Annal. d. Chemie u. Pharmac. Bd. 239. p. 131.

2) Unters. a. d. bot. Inst. in Tübingen. Bd. I. p. 383.

3) L. c. p. 379, 453.

Einfluss auf die Anziehung durch chemotaktisch wirksame Stoffe ausübt, wurde früher mitgetheilt.

Ein vielfach benutztes Gemisch ist Fleischextrakt, welches seine Wirkung theilweise dem Kalium, theilweise anderen Stoffen verdankt. Unter Zugrundelegung der mittleren Zusammensetzung der Asche berechnet sich für das Frischgewicht des Fleischextraktes, wenn wir einen Wassergehalt von 20 % annehmen, ein Gehalt von $K_2O = 5,99$; von $P_2O_5 = 2,48$; von $Na = 4,98$ %; auch Cl ist in ziemlicher Menge vorhanden, während andere anorganische Stoffe zurücktreten¹⁾. Da aber das frische Fleischextrakt bei gleichem Procentgehalt etwa gleich viel als Reizmittel leistet, wie Chlorkalium oder Kaliumphosphat, so kann nicht seine ganze Wirkung auf Kali fallen. Thatsächlich üben auch andere geprüfte Bestandtheile des Fleischextraktes, wie Carnin, Sarkin, Taurin, Kreatin, Lecithin eine, wenn auch nicht gerade hervorragende chemotaktische Wirkung aus, die für die anderen nicht empirisch geprüften Bestandtheile unbekannt ist²⁾.

Eine gewisse individuelle Differenz der Empfindlichkeit macht sich, ebenso wie bei den Samenfäden der Farne³⁾, darin bemerklich, dass bei eben merklicher Anziehung einzelne Individuen indifferent an der Capillare vorbeisteuern. In wie weit die Empfindlichkeit durch äußere Verhältnisse modificirt werden kann, habe ich nicht untersucht, doch ist es geboten, hier den Einfluss des Nährstoffmangels zu besprechen.

Mangel an Nahrung muss natürlich eine Verlangsamung und endlich einen Stillstand der Bewegung, einen Trophotonus, erzeugen, welcher bei den Bacterien, offenbar des ansehnlichen Stoffwechsels halber, verhältnissmäßig schnell sich geltend macht. Mit Zufuhr von Nahrung zu partiell trophotonischen Organismen tritt dann eine Beschleunigung der Bewegungsthätigkeit ein, weil damit die allgemeinen Bedingungen für Thätigkeit verbessert wurden. Diese Beschleunigung kann übrigens auch durch Zugabe von Glycerin erzielt werden, das keine chemotaktischen Bewegungen erzielt. Von letzteren, welche nur durch einseitigen Angriff bestimmter Reizmittel erzeugt werden, ist der Trophotonus, resp. dessen Aufhebung, ebenso streng getrennt zu halten, wie Thermotonus von Thermotropismus oder Phototonus von Heliotropismus, wie ich übrigens auch schon früher (l. c. p. 462) hervorhob.

Kommt zu partiell trophotonischen Bacterien oder Flagellaten eine Capillare mit Fleischextrakt, so wirken natürlich Aufhebung des Trophotonus und chemotaktische Reizung zusammen, und mit dem Hinsteuern zur Capillare ist zugleich eine Beschleunigung der Bewegung verknüpft. Dagegen scheint bei chemotaktischer Anlockung zuvor best bewegter Organismen eine Beschleunigung der Bewegung nicht einzutreten und partiell trophotonische Bacterien und Flagellaten können ohne auffallende Bewe-

1) Vergl. WOLFF, Aschenanalysen. 1880. 2. Theil. p. 148. Es ist zu beachten, dass sich die Zahlenwerthe auf 1000 Th. Trockensubstanz und nicht auf 100 Th. Reinasche beziehen, wie irrtümlich als Überschrift steht.

2) Über Zusammensetzung von Fleischextrakt siehe KÖNIG, Nahrungs- und Genussmittel. 1883. II. Aufl. p. 160.

3) PFEFFER l. c. p. 384.

gungsbeschleunigung durch Chlorkalium in die Capillare gelockt werden, da dieses Salz den durch Mangel organischer Nahrung herbeigeführten partiellen Trophotonus nicht aufzuheben vermag.

Sowie ich zu diesen Schlussfolgerungen schon früher kam, habe ich auch hinsichtlich des Zuwendens der gereizten Organismen zu der Capillare nichts wesentlich Neues zu sagen¹⁾. In allen Fällen bewirkt der Reiz, dass sich die Längsachse des Körpers senkrecht gegen die Curven gleicher Concentration der Diffusionszone stellt, also im allgemeinen nach der Capillaröffnung gerichtet wird, und nach dieser hin steuern demgemäß die sich in üblicher Weise und Schnelligkeit bewegendenden Organismen. Es ist dieser Vorgang also ganz analog der phototaktischen Reizung der Schwärmsporen. Wie in dieser bewahrt bei der Wendung durch chemische Reize der Körper seine Form, denn ich konnte weder bei der Reizung der Samenfäden (l. c. p. 374), noch bei der Reizung von *Polytoma*, *Bodo saltans* und *Hexamitus rostratus* eine gestaltliche Änderung an den Individuen in dem Augenblicke sehen, wo sie chemotaktisch gerichtet wurden. Es gilt dieses insbesondere auch für den stark metabolischen *Hexamitus rostratus*, insofern nicht mechanische Hemmungen zu einer Formänderung des Körpers führen.

Bei den unipolaren Organismen geht immer ein bestimmtes Körperende voraus, während bei den bipolaren, zu welchen von den hier untersuchten nur die Bacterien gehören, der Regel nach die Bewegung abwechselnd vorwärts und rückwärts gerichtet ist. Die Reizung bewirkt dann, dass, ohne merkliche Bewegungsbeschleunigung, die Bewegung nach einer Seite hin dominirt, und dieses kann so weit gehen, dass z. B. bei *Sp. undula* eine rückwärts zielende Bewegung beim Steuern nach einem guten Reizmittel ganz unterbleibt (l. c. p. 463).

Die Annahme des Unterbleibens einer Bewegungsbeschleunigung basirt übrigens nur auf dem unmittelbaren Eindruck, dem geringere Beschleunigungen entgehen müssen. Es gilt dieses insbesondere für die Bacterien, deren Bewegung schon durch die dominirende einseitige Wanderung modificirt wird und die zudem häufig durch Übergang in ein besseres Nährmedium eine beschleunigte Bewegung in der Nähe der Capillare erfahren. Zudem gelangen nach dieser zunächst die flinksten Individuen, und dieses alles zusammengenommen erweckt der Regel nach auf den ersten Blick den Eindruck, dass in der Nähe der Capillare eine Bewegungsbeschleunigung eingetreten ist. Es ist zudem eher wahrscheinlich, dass verschiedenwerthige Nährstoffe in ungleichem Grade auf die Bewegungsfähigkeit influiren, und es ist nicht zu sagen, ob nicht, abgesehen von dem Nährwerthe, bestimmte Körper durch specifische Reizwirkung die Bewegungsthätigkeit steigern. Diese Möglichkeit ist jedenfalls um so mehr zuzugeben, als z. B.

¹⁾ L. c. p. 374, 362.

in den Drüsenhaaren von *Drosera* die Krümmungsbewegung erst durch chemische Reize ausgelöst wird und zugleich mit der Aggregation in den Zellen dieser Haare eine Beschleunigung der Protoplasmaströmung eintritt¹⁾.

Für die Repulsion gilt Analoges wie für die Attraktion. Soweit ich an *Bodo saltans*, *Polytoma* und *Hexamitus rostratus* beobachtete, erfährt die Körperachse in Folge der repulsiven Wirkung eine solche Wendung, dass der zuvor nach dem Capillarmund steuernde Organismus unter Beschreibung einer Curve in mehr oder weniger entgegengesetzte Bewegung übergeht. Bei den bipolaren Bacterien scheint die Repulsion der Regel nach ohne Körperwendung ein bevorzugtes Wandern nach entgegengesetzter Richtung zu erzielen.

Ob und in wie weit äußere Verhältnisse einen Einfluss auf die Empfindlichkeit unserer Organismen haben, wurde nicht geprüft. Es würde z. B. zu entscheiden sein, ob durch jede Bewegungshemmung die Reizschwelle verschoben wird, oder ob diese Verschiebung je nach der hemmenden Ursache verschieden ausfällt. Solche Retardirungen der Bewegungen können z. B. durch Mangel an Nahrung oder Sauerstoff²⁾ durch concentrirteres Glycerin, durch niedere Temperatur erzielt werden. Bezüglich der letzteren habe ich nur constatirt, dass bei $+ 3 - 4^{\circ}$ C. *B. termo*, *Sp. undula* und *Bodo saltans* durch 0,048 % Trikaliumphosphat (= 0,04 % Ka) gut ange lockt werden³⁾. Auch ist nicht unmöglich, dass, ohne Hemmung der Bewegung, die Empfindlichkeit eines Organismus durch spezifische Reizwirkung eines Körpers beeinflusst wird, so wie z. B. Licht die geotropischen Eigenschaften mehr oder weniger zu verändern vermag⁴⁾. Sollte solches zutreffen, so würde natürlich in diesen Fällen in Gemischen die Reizwirkung nicht gleich der der Componenten sein.

Zu entscheiden ist auch noch, ob durch verschiedene Culturbedingungen chemotaktische Differenzen angezchtet werden können. Diese Möglichkeit ist um so mehr ins Auge zu fassen, als durch die Culturverhältnisse andere Qualitäten von Bacterien, so z. B. die Ausscheidung von Fermenten und die schädliche Eigenschaft der Milzbrandbacillen, modificirt werden können.

1) DE VRIES, Bot. Ztg. 1886. p. 7.

2) Auch die Anaeroben sind noch in den Kreis der Untersuchungen zu ziehen.

3) Für Samenfäden der Farne vergl. PFEFFER l. c. p. 384.

4) Vergl. PFEFFER, Physiologie. Bd. II. p. 336, 374; STAHL, Berichte d. botan. Gesellschaft. 1884. Bd. II. p. 383. — Über den Einfluss von Chloroform auf Lichtstimmung von Schwärmsporen siehe ELFRING, Über Einwirkung von Äther und Chloroform auf Pflanzen. 1886. p. 45. (Sep.)

IX. Verhältnis von Reiz und Reaktionsgröße.

Die Beziehungen zwischen Größe des Reizes und der Reaktion wurden in meiner früheren Arbeit ausgedehnter und mit Rücksicht auf allgemeine Fragen behandelt ¹⁾. Wenn die empirischen Erfahrungen damals in Versuchen mit Samenfäden der Farne bestanden, so machten doch schon beiläufige Experimente die gleichen Beziehungen für Bacterien wahrscheinlich und diese Vermuthung hat ihre Bestätigung in den hier mitzutheilenden Versuchen gefunden.

Mit Verweisung auf die frühere Behandlung dieses Gegenstandes darf ich mich auf das beschränken, was zum Verständnis der Versuche nothwendig ist.

Über das Verhältnis von Reiz und Reaktion ist in unserem Falle kaum eine bestimmte Antwort zu erhalten, indem man Capillaren mit verschieden concentrirtem Inhalt zu den in Wasser befindlichen Organismen schiebt und aus Schnelligkeit und Ausgiebigkeit des Einschwärmens auf die Größe der Reaktion zu schließen sucht. Dagegen kann mit Erfolg benutzt werden die Bestimmung der Unterschiedschwelle, d. h. des Reizzuwachses, welcher einem schon vorhandenen Reize hinzugefügt werden muss, um eine eben merkliche Reaktion zu erhalten. Auf dieser Unterschiedschwelle basiren die verschiedenen Methoden, welche zur Ermittlung des Verhältnisses zwischen Reizzuwachs und Empfindung im Menschen angewandt wurden, und wie ich diese Methode früher auf Samenfäden anwandte, habe ich sie auch für Bacterien benutzt.

Zur Ausführung der Versuche werden die Organismen in Flüssigkeit von bekanntem Stoffgehalt gebracht und dann wird bestimmt, welche Concentration die Flüssigkeit in der zugeschobenen Capillare haben muss, um eben merkliche Reaktion hervorzurufen. Als Maß dient also stets die Reaktionschwelle, also immer dieselbe constante Größe. Mit dem Concentrationsunterschied der Flüssigkeit innerhalb und außerhalb der Capillare wird demgemäß ermittelt, um wie viel die Flüssigkeit in der Capillare jeweils concentrirter sein muss, um gegenüber der Außenflüssigkeit denselben, d. h. denjenigen Reizüberschuss zu erzielen, welcher zu eben merklicher Reaktion, also zur Erreichung des Schwellenwerthes nöthig ist.

Das Resultat mit Bacterien entspricht den früher mit Samenfäden gewonnenen Erfahrungen. Es besteht also zwischen Reiz und Reaktionsgröße dieselbe Beziehung, wie sie im WEBER'schen Gesetz für die Relation zwischen Reiz, Reizzuwachs und Empfindung ²⁾ ausgedrückt ist. Zur Erzielung eben sichtbarer Reaktion muss demgemäß bezüglich des Gehaltes an Reiz-

1) Unters. a. d. bot. Inst. in Tübingen. I. p. 395.

2) Über Empfindung und Reaktion, resp. deren Substituierung vergl. PFEFFER l. c. p. 395.

mittel immer dasselbe Verhältnis zwischen Capillar- und Außenflüssigkeit eingehalten sein und die absolute Differenz zwischen beiden wächst um so mehr, je concentrirter die Außenflüssigkeit wird. Indem wir aber die Größe des Reizes nach der Concentration des wirkenden Stoffes bemessen, ist zur Erzielung des Schwellenwerthes stets nöthig, dass der Reizzuwachs zu der schon bestehenden Reizgröße immer in demselben Verhältnis steht. Das aus solchen Erfahrungen abgeleitete WEBER'sche Gesetz lässt sich anders formulirt auch so ausdrücken: Bei Zunahme des Reizes in geometrischer Progression wächst die Reaktion (Empfindung) in arithmetischer Progression und dem entsprechend ist die Reaktion (Empfindung) proportional dem Logarithmus des Reizes ¹⁾.

Meine Untersuchungen beschränken sich auf *Bacterium termo*, dessen geringe repulsive Empfindlichkeit in diesen Experimenten von hoher Bedeutung war, da auch höhere Concentrationen zur Prüfung kommen konnten. *B. termo* wurde in üblicher Weise von der Cultur auf Agar-Fleischpepton in Fleischextraktlösung verschiedener Concentration gebracht, und dann wurde diejenige Fleischextraktlösung ermittelt, welche als Capillarflüssigkeit eben merkliche Reaktion erzeugte. Dabei wurden sorgfältigst alle Vorsichtsmaßregeln beobachtet, um das Resultat der vergleichenden Versuche möglichst exakt zu gestalten.

Die Concentrationsangaben beziehen sich auf das Frischgewicht des p. 600 erwähnten Fleischextraktes. Von diesem wurde eine 40 procentige, mit Ammoniak neutralisirte Lösung hergestellt, und indem diese entsprechend verdünnt wurde, kam in einer Versuchsreihe ganz gleiches Material zur Verwendung.

Geprüft wurden die in der folgenden Tabelle mitgetheilten Combinationen. Die erste Verticalreihe bezeichnet die Concentration der Außenflüssigkeit, die zugehörige Horizontalreihe die Concentration der Capillarflüssigkeit, welche, wie auch die Kopfüberschriften angeben, 3, 5, 8 und 40 mal mehr Fleischextrakt enthielt. Die Größe der Reaktion ist (vgl. p. 599) durch 0, ?, a_1 , a_2 bezeichnet.

Die Außenflüssigkeit enthält an Fleischextrakt:	Die Capillarflüssigkeit besitzt die			
	3-	5-	8-	40 - fache Concentration und enthält an Fleischextrakt:
1) 0,01 %	0,03 % (?)	0,05 % (a_1)	0,08 % (a_2)	0,4 % (a_2)
2) 0,4 %	0,3 % (?)	0,5 % (a_1)	0,8 % (a_2)	4,0 % (a_2)
3) 4,0 %	3,0 % (?)	5,0 % (a_1)	8,0 % (a_2)	40,0 % (a_2).

Das Resultat fiel ganz gleich an zwei verschiedenen Tagen aus, an welchen jedesmal die ganze obige Scala durchgeprüft wurde, und zwar ka-

1) Vergl. PFEFFER l. c. p. 401.

men im Ganzen für die 3- und 5fachen Concentrationen je 5, für die 8- und 40fachen Concentrationen je 3 Einzelversuche zur Ausführung. Während also bei der 3fachen Concentration der Capillarflüssigkeit die Anziehung zweifelhaft blieb, wurde eine solche bei der 5fachen Concentration immer deutlich bemerkbar und bei der 8- und 40fachen Concentration trat schon eine erhebliche Anhäufung von *B. termo* in der Capillarflüssigkeit ein.

Nach diesen Erfahrungen wird bei *B. termo* die Unterschiedsschwelle sicher erreicht, wenn die Capillarflüssigkeit fünfmal mehr Fleischextrakt enthält als die Außenflüssigkeit, und wahrscheinlich kommt die Unterschiedsschwelle bei relativ etwas geringerer, etwa der 4fachen Concentration, schon zur Geltung¹⁾. Auf eine genauere Bestimmung, die übrigens nicht leicht ist²⁾, konnte ich verzichten, da aus dem obigen Resultate mit genügender Sicherheit hervorgeht, dass zur Erzielung der Reizschwelle das Verhältnis zwischen Stoffgehalt der Außen- und Innenflüssigkeit für alle Contractionen constant sein muss. Demgemäß fallen die absoluten Differenzen in den verwandten Concentrationen sehr groß aus, denn bei 0,04 % Fleischextrakt in der Außenflüssigkeit muss die Capillarflüssigkeit nur 0,04, bei 1 % Fleischextrakt aber 4,0 % mehr von diesem Reizmittel enthalten, um gleichen Erfolg zu erzielen.

Die Benutzung von Fleischextrakt geschah, um die Bacterien in guter Nährlösung zu halten und Fehler durch partiellen Trophotonus zu vermeiden. Dass Fleischextrakt ein Gemisch ist, hat für unsere Versuche keine Bedeutung, da die verschiedenen Stoffe immer in denselben Relationen zur Anwendung kamen.

Außerdem stellte ich noch Versuche an, in welchen *Bact. termo* wiederum sich in Fleischextrakt befand, während als Capillarflüssigkeit Dextrinlösung diente. Das Resultat dieser Versuche ist nachstehend in derselben Weise wie vorhin zusammengestellt.

Die Außenflüssigkeit enthält an Fleischextrakt:	Die Capillarflüssigkeit besitzt die		
	3-	5-	10 - fache Concentration und enthält an Dextrin:
1) 0,04 %	0,02 % (0)	0,05 % (a ₁)	0,1 % (a ₂)
2) 1,0 %	2 % (0)	5 % (a ₁)	10 % (a ₂)

Mit jeder der genannten Concentrationen wurden je 3 Versuche angestellt, welche zu übereinstimmenden Resultaten führten. Diese entsprechen

1) Die frühere Bestimmung (l. c. p. 458), nach der bei dem benutzten Bacterium die Außenflüssigkeit zur Erzielung der Reizschwelle 5- bis 20fache Concentration besaß, war einmal nur beiläufig gemacht und zudem dadurch ungenau, dass die Außenflüssigkeit schon vor dem Zusatz von Fleischextrakt gelöste Stoffe enthielt.

2) Vgl. PFEFFER l. c. für Samenfäden der Farne.

ganz dem schon Gesagten und zwar ist von Dextrin, das bei gleicher Concentration von Fleischextrakt eben merkliche Reaktion erzielt (p. 604), wieder ungefähr der fünffache Stoffgehalt in der Capillarflüssigkeit nöthig, um eine merkliche Anlockung hervorzubringen. Bei Verwendung eines minder stark reizenden Körpers als Capillarflüssigkeit würde sich natürlich ein anderes Verhältnis der beiderseitigen Concentrationen ergeben, wie das auch schon aus Versuchen mit Samenfäden der Farne hervorgeht, in welchen die weniger wirksame Maleinsäure als Außenflüssigkeit und Äpfelsäure als Capillarflüssigkeit diente¹⁾. Übrigens kann nur die empirische Erfahrung entscheiden, ob die in Versuchen dieser Art zur Erreichung der Unterschiedsschwelle nöthige Relation in einem geraden Verhältnis zu der durch den Schwellenwerth der einzelnen Stoffe bemessenen Reizwirkung steht. Natürlich darf bei Verwendung anderer Stoffe der Unterschiedsschwelle entsprechende Quotient einen anderen Werth annehmen, ohne gegen das WEBER'sche Gesetz zu verstoßen. Dagegen wird im allgemeinen die Gegenwart eines indifferenten Stoffes die Unterschiedsschwelle nicht verschieben, wie solches schon in Versuchen mit Samenfäden der Farne sich ergab²⁾.

Diesen Erfahrungen entsprechend, lassen sich unsere Organismen, sofern nur die Unterschiedsschwelle überschritten wird, aus guter Nahrung in eine Lösung locken, die ihnen schädlich oder wenigstens keine dauernden Existenzbedingungen gewährt. Letzteres trifft ja für jedes einzelne Salz zu und ein Gehalt an Quecksilberchlorid zu Chlorkalium verhinderte nicht, dass zu dieser Lösung *B. termo* aus verdünntem Fleischextrakt sich bewegte. Übrigens bedarf es noch specieller Prüfung, ob nicht unter solchen und ähnlichen Umständen besondere Reizwirkungen auf thunlichstes Zurückhalten der Organismen in dem besseren Nährmedium hinarbeiten.

Das WEBER'sche Gesetz kann natürlich nur innerhalb gewisser Grenzen gelten und die bisherige Relation muss verschoben werden, sobald durch eines der Medien repulsive Wirkungen zur Geltung kommen³⁾. Das Fehlen einer solchen Abweichung lässt erkennen, dass solche abstoßende Reizwirkungen in den Versuchen mit *B. termo* für keine der angewandten Concentrationen des neutralisirten Fleischextraktes merklich hervortreten. Vielleicht wird aber eine solche abstoßende Wirkung der 40 proc. Dextrinlösung dadurch angedeutet, dass in dieser *B. termo* bis tief in die Capillare steuert, wenn die Außenflüssigkeit Wasser ist, sich aber wesentlich im Capillarmund hält, wenn sich *B. termo* in 1 proc. Fleischextrakt befindet. Übrigens kann die Verschiebung der Unterschiedsschwelle wohl methodisch verwandt werden, um noch repulsive Wirkungen aufzudecken, die bei

1) PFEFFER l. c. p. 399.

2) PFEFFER l. c. p. 398.

3) Vergl. PFEFFER l. c. p. 400.

überwiegender Anziehung sich nicht geltend machen, so lange diese Attraktion nicht durch die Reizwirkung des Außenmediums herabgedrückt ist.

Die im WEBER'schen Gesetz ausgedrückten Beziehungen zwischen Reiz und Reaktionsgröße sind nunmehr für die Samenfäden der Farne sowie für *Bacterium termo* exakt nachgewiesen und gelten augenscheinlich auch für die durch Rohrzucker reizbaren Samenfäden der Laubmoose¹⁾. Hiernach dürften wohl gleiche Verhältnisse in allen chemotaktischen Reizen bestehen, natürlich nur in so weit, als durch Abstoßung oder andere Einflüsse keine Störungen herbeigeführt werden.

In jedem einzelnen Falle muss aber die Relation im näheren durch Versuche ermittelt werden und die Existenz weitgehender Unterschiede lehren schon die bisher geprüften Objekte. Denn zur Erzielung der Unterschiedsschwelle muss das Reizmittel in der Capillare bei den Samenfäden der Farne um das 30fache, bei *Bacterium termo* nur um das 5fache concentrirter sein, als die Außenflüssigkeit. Für diese bis dahin näher präcisirten Fälle bleibt die Unterscheidung von Reizgrößen an Feinheit weit zurück gegen die Unterschiedsempfindung beim Menschen. Denn dieser vermag schon die Vermehrung eines Gewichts um $\frac{1}{3}$, der Temperatur um $\frac{1}{30}$, des Lichts um $\frac{1}{100}$ zu unterscheiden, während zur Erzielung der Unterschiedsschwelle bei den Samenfäden der Farne das 29fache, bei *Bact. termo* das 4fache zu dem schon bestehenden Reize hinzukommen muss²⁾.

Die Frage, ob und in wie weit die im WEBER'schen Gesetze ausgesprochenen Beziehungen in anderen Reizwirkungen zutreffen, liegt noch im wesentlichen so, wie ich sie früher besprach (l. c. p. 406). Jedenfalls ist gewiss, dass das WEBER'sche Gesetz nicht für alle Reizwirkungen gültig ist, und so müssen auch erst Versuche entscheiden, welches Verhältnis zwischen Reiz und Reaktion bei den abstoßenden Wirkungen besteht.

Mit Constatirung dieses Verhältnisses zwischen Reiz und Reaktion ist natürlich die Causalität dieser Beziehung nicht näher aufgedeckt. Denn die unmittelbare Aktion des zur Reizung führenden Eingriffs ist in den physiologischen Vorgängen mit dem endlichen Erfolge durchgehends durch eine Kette von Prozessen verknüpft, und es ist, wie zumeist, auch in unserem Falle ganz und gar unbekannt, in welchem Gliede dieser Kette die fragliche Beziehung ihren Ursprung nimmt, oder ob sich dieselbe als Resultante aus verschiedenen Vorgängen entwickelt. Diese allgemeinen Fragen, welche übrigens ebenso hinsichtlich der zu unserem Bewusstsein kommenden Empfindungen und der zugehörigen Reize gelten, sind im Anschluss an die Samenfäden der Farne seiner Zeit (l. c. p. 395) soweit besprochen, als zur Präcisirung der derzeitigen Sachlage nöthig ist. Mit Verweisung auf diese Darlegung sei hier nochmals darauf aufmerksam gemacht, dass die Existenz

1) PFEFFER l. c. p. 432.

2) Vergl. l. c. p. 399.

der im WEBER'schen Gesetze ausgesprochenen Relationen keineswegs eine psychische Mitte fordert, die man gewiss bei Bacterien nicht postuliren wird. Dieserhalb wird man aber auch weit mehr berechtigt sein, das Zustandekommen der fraglichen Relation zwischen Reiz und Empfindung im Menschen, z. B. mit G. E. MÜLLER in physiologischen Ursachen zu suchen, während FECHNER den Ursprung der fraglichen Beziehungen zwischen Nervenprozess und Seele, somit in psychische Funktionen legt (vgl. PFEFFER I. c. p. 405).

In den allgemeinen Fragen über Causalität der im WEBER'schen Gesetz ausgesprochenen Beziehungen sind aber die Reaktionen unserer Organismen ebensowohl zu Rathe zu ziehen, als die Erfahrungen über unsere Empfindungen im Verhältnis zu äußeren Reizen, wenn auch thatsächlich beide unter sich incommensurabel sind. Denn während die in Bewegung und Ansammlung ausgesprochene Reaktion unserer Organismen objektiv nach Maß und Zahl feststellbar ist, existiren unsere Empfindungen nur in unserer subjektiven Auffassung nach Qualität und Quantität und die verschiedene Intensität von Empfindungen resp. von Empfindungsunterschieden unter veränderten Bedingungen sind objektiver Messung mit physikalischem Maße nicht zugänglich ¹⁾. Unseren Organismen aber können wir nur in sofern Empfindung zuschreiben, als wir diese allgemein als Bedingung für Reizbarkeit ansehen, aber auch diese so supponirten Empfindungen haben für uns weder Qualität noch Quantität, denn wir kennen nur die durch den Reiz erzielten sichtbaren Reaktionen.

Kann man somit die Empfindung keineswegs schlechthin für die Reaktionsgröße substituiren, so hat doch ein Vergleich dieser mit unseren Empfindungen in sofern ein Interesse, als sich in Bezug auf äußere Reize in beiden Fällen der gleiche mathematische Ausdruck ergibt und als ferner die eigenen Empfindungen im intellektuellen Leben die Bedeutung der besprochenen Unterschiedempfindung für unsere Organismen dem Verständnis näher rücken. Nehmen wir z. B. als äußeren Reiz das Geld, so ruft ein Markstück, das der Bettler erhält, in diesem das Gefühl großen Glückes hervor, während beim Millionär das gewonnene Markstück keinen erheblichen Eindruck machen wird. Entsprechend bedarf es eines großen Zuwachses an Reizmittel, um den schon reichlich versehenen Organismus zu einer Reaktion zu bringen, während eine solche schon bei kleinem Zuwachs eintritt, wenn der Organismus nur spärlich mit dem reizenden Stoffe versorgt war. Mit Rücksicht auf Glücks- und Unglücksempfindung wurde auch schon von D. BERNOULLI und namentlich von LAPLACE eine Formel entwickelt, welche im wesentlichen einer Ausdrucksform des WEBER-FECHNER'schen Gesetzes entspricht ²⁾.

¹⁾ Vergl. A. KÖHLER in WUNDT, Philosoph. Studien. Bd. 3. 1866. p. 573 u. die dort citirte Lit., namentlich J. v. KRIES.

²⁾ HERMANN, Handbuch d. Physiolog. d. Menschen. Bd. II. 1879. Abth. 2. p. 237.

Auch bei allseitig gleichmäßigem Angriff übt also das Reizmittel einen Einfluss auf den Organismus, durch welchen die Empfindlichkeit dieses gegen den gleichen (resp. gleichsinnig wirkenden) Stoff herabgedrückt wird. Diese Stimmung aber schwindet, soweit in den besprochenen Fällen bekannt, sogleich mit der Veränderung in dem reizenden Medium. Hierin unterscheidet sich diese Stimmungsänderung von denjenigen Induktionen (oder Accommodationen), durch welche dem Organismus Eigenschaften aufgedrängt werden, welche sich nach Aufhebung der äußeren Ursachen erhalten. Doch ist dieses Erhalten nur zeitlich begrenzt in denjenigen Fällen, in welchen die inducirten Eigenschaften mit Aufheben der äußeren Ursachen schneller oder langsamer wieder schwinden¹⁾, und so werden die besprochenen Stimmungsänderungen wenigstens durch Bindeglieder mit den bleibenden Induktionen verknüpft. Die fraglichen Stimmungsänderungen gehören also zu den Erfolgen, welche sich mit dem Eingriff des Reizmittels schnell herstellen, aber auch ohne längere Nachwirkung mit Aufhebung der äußeren Ursache vergehen.

X. Modus der Ansammlung und praktische Verwendung des Einfangens.

Ich müsste nur früher Gesagtes wiederholen, wollte ich schildern, wie sich gewöhnlich die chemotaktische Anlockung abspielt²⁾ und wie beim Fortschreiten in concentrirtere Schichten der Diffusionszone, als eine Folge der Unterschiedempfindung, die Intensität des auf die Organismen ausgeübten Richtungsreizes abnimmt, wie ferner die Ausbreitung der Diffusionszone, indem sie einen minder steilen Abfall der Concentration herbeiführt, ungünstig für die sichere Führung der Organismen in die Capillare ist³⁾. Ebenso ist schon dargethan, wie und warum sich mit der Zeit durch verschiedene Umstände besondere Vertheilungen der Organismen innerhalb der Capillare herstellen können (l. c. p. 452). In diesem Sinne wirken gewöhnlich Sauerstoffmangel und Concentrationsdifferenzen zusammen. Durch die Diffusion wird natürlich eine von der Mündung aus steigende Concentration in der Capillare hergestellt, außerdem erzielt aber eine größere Anzahl eingeschwärmter Organismen einen Sauerstoffmangel, in Folge dessen die durch Sauerstoff chemotaktisch reizbaren Organismen sich zum Theil nach der Luftblase in der Capillare hin bewegen, so dass an der Grenze dieser häufig eine dichte und lebhaft bewegte Ansammlung eintritt.

Spielt beim ersten Zusammenwandern neben dem Grade der Reizbarkeit auch die Schnelligkeit der Organismen eine Rolle, so macht sich weiterhin auch noch eine Concurrenz geltend, die z. B., wie früher mitgetheilt

1) Vergl. PFEFFER, Physiologie. Bd. II. p. 163.

2) L. c. p. 373, 452.

3) L. c. p. 403.

(p. 454), zu einer ziemlichen Verdrängung des zunächst reichlich angesammelten *Spirillum undula* durch *Bact. termo* aus der Capillare führen kann, und eine gleiche Verdrängung habe ich auch für *Bodo saltans* beobachtet. Verursacht ist dieser Erfolg offenbar dadurch, dass *Bact. termo* weniger sauerstoffbedürftig ist, als die verdrängten Organismen, welche demgemäß nach der sauerstoffreicheren Außenflüssigkeit streben und also entgegen dem gleichzeitigen Reize des gelösten Körpers geführt wurden, wenn durch das zahlreicher werdende *Bact. termo* der Sauerstoffgehalt der Capillarflüssigkeit mehr und mehr abnahm.

Machen sich repulsive Wirkungen geltend, so arbeiten auch diese auf specifisch ungleiches Einschwärmen und Vertheilen in der Capillare hin. Es ist z. B. leicht zu begreifen und zu erklären, dass repulsiv empfindliche Organismen erst nach einiger Zeit bis in den Capillarmund gelangen und in dem Maße tiefer in die Capillare rücken, als die Concentration in dieser durch fortschreitende Diffusion abnimmt. Als eine Folge solcher Repulsionswirkungen durch die herausdiffundirenden Stoffe steuerte bis zu einem Fleischstückchen zunächst nur *Bact. termo*, während *Spirillum undula* in einiger Entfernung eine Sphäre bildete (l. c. p. 462). Gleiches lässt sich auch mit Stückchen Gelatine erreichen, die mit Zusatz geeigneter Stoffe hergestellt ist (vgl. l. c. p. 391).

Durch diese und andere Umstände kann sich in einer Capillare mit der Zeit eine mehr oder weniger weitgehende Separirung verschiedener Arten einstellen. So dringt z. B. bei Anwendung von 5 procentigem Fleischextrakt *Bact. termo* bald in die ganze Capillarflüssigkeit, während *Spirillum undula* erst nach längerer Zeit und dann im unteren Theil der Capillare zu finden ist. Um nur noch ein Beispiel anzuführen, erwähne ich einen Versuch, in welchem eine Capillare mit 10 procentigem Fleischextrakt zu einem Gemisch verschiedener Bacterien gebracht worden war. Nach einstündiger Ruhezeit dominirte in einer Zone, etwas oberhalb der Mündung, *Spirillum tenue*, dann kam eine Ansammlung von *Spirillum serpens* (oder einer ähnlich gestalteten Art), darauf eine solche von einem Bacillus und weiterhin, namentlich auch an der Luftblase, war wesentlich *Bact. termo* in der Capillare zu finden.

So lässt sich mit Hülfe der Reizmittel nicht nur ein Einfangen der empfindlichen Organismen erzielen, sondern auch unter Umständen eine wenn auch nicht absolute Trennung derselben erreichen. Eine empfindliche Art lässt sich z. B. schon durch schwache Reizmittel einfangen, welche auf weniger reizbare Objekte noch nicht genügend anziehend wirken. So konnte ich z. B. durch 0,2 % Fleischextrakt aus der Vereinigung von *Hexamitus inflatus* und *rostratus* den letzteren einfangen, und verdünnte Dextrinlösung zieht wohl *Bacterium termo*, aber nicht *Sp. undula* an.

Da durch genügend concentrirte Lösungen die repulsiv empfindlichen Arten zum größeren Theil fern gehalten werden, so lässt sich z. B. durch 2 — 3 % Lösung von Chlornatrium oder durch ein Gemisch von 0,4 %

Fleischextrakt mit 2 % Chlorcalcium aus einem Gemisch von *B. termo*, *Sp. undula* und *Bodo saltans* der erstgenannte Spaltpilz vorwiegend einfangen. Aber auch von den in einer Capillare eingefangenen Organismen lässt sich unter Umständen eine Art zum größten Theil wieder herauslocken. Fängt man z. B. mittelst 0,4 % Fleischextrakt eine mäßige Anzahl von *Sp. undula* und *B. termo* und schiebt dann sogleich die Capillare zu 10 % Fleischextrakt, so wandert *B. termo* theilweise heraus, während das repulsiv empfindliche *Sp. undula* mehr und mehr nach dem oberen Theil der Capillare zurückgedrängt wird. Auf diese Weise habe ich z. B. für Aussaaten Material gewonnen, in welchem viel *Sp. undula* neben wenig *B. termo* sich befand. Übrigens kann man auch zu ähnlichem Resultat kommen, wenn man beide Arten in 5 % Fleischextraktlösung bringt und eine Capillare mit 0,04 % Fleischextrakt hinschiebt.

Unter Beachtung der specifischen Reaktionsfähigkeiten lässt sich diese Methode verschiedentlich modificiren und ausnutzen. Freilich wird auf solche Weise nicht leicht eine gänzliche Separirung einer Art erzielt, da selbst unempfindliche Organismen gelegentlich in die Capillare gelangen, doch kann auch schon eine partielle Isolirung Werth haben. Bei etwas größeren Arten ist auch das Einfangen eines einzelnen Individuums un schwer auszuführen, indem man sogleich nach beobachtetem Eintritt die Capillare entfernt, und es ist nicht schwer, so z. B. ein einzelnes Exemplar von *Trepomonas* oder *Hexamitus rostratus* zu erhalten.

Indem man die Capillare nach gutem Abspülen in Wasser legt, ist es leicht, den Inhalt durch langsame partielle Evacuation zu entleeren. Wünscht man aber die gefangenen Arten in den Flüssigkeitstropfen des Objektträgers zu bringen, so ist folgendes Verfahren vorzuziehen. Nach Abschneiden des geschlossenen Endes der nicht zu kurz gewählten Capillare bringt man an dieses mit Hülfe von Fließpapier einen Wassertropfen und taucht dann die vertikal gehaltene Capillare mit dem anderen Ende in den Flüssigkeitstropfen des Objektträgers. Durch Zusammenwirken von Capillarität und Gewicht der Flüssigkeitssäule wird das Reizmittel langsam aus der Capillare in den Flüssigkeitstropfen getrieben. War innerhalb der Capillare eine Separirung verschiedener Arten eingetreten, so ist durch zuvoriges Abtrennen des der Mündung benachbarten Theiles eine Trennung der in diesem Abschnitt angesammelten Organismen zu erreichen.

Um reizbare Organismen zu sammeln, kann man Capillaren direkt in das Wasser bringen, welches jene bewohnen. Man wird hierbei gut thun, etwas weitere und längere Capillaren zu wählen und übrigens mit diesen in noch zu besprechender Weise zu verfahren. Meist habe ich es aber vortheilhafter gefunden, die zerstreut lebenden Arten zunächst durch einen größeren Köder zusammenzulocken.

Stehen z. B. schlammige oder andere Massen in einer Schale zur Ver-

fügung, so verdünne ich nöthigenfalls zunächst mit Wasser, lasse absetzen, stelle eine flache Uhrschale auf den Bodensatz und lege in diese einen oder auch einige nicht zu dünne Erdwürmer, welche zuvor durch Eintauchen in kochendes Wasser getödtet sind. Durch die von dem Köder aus diffundirende Masse werden allmählich die in den Bereich der Attraktionsphäre kommenden reizbaren Organismen angelockt und je nach Umständen ist eine größere oder kleinere Zahl dieser schon nach einigen oder erst nach 24 bis 48 Stunden um den Wurm vorhanden. Indem man an der Oberfläche dieses einen Tropfen mittelst Pinzette abhebt oder auch einen solchen von dem vorsichtig herausgehobenen Wurm abtropfen lässt, erhält man schon einen Überblick über die versammelten Arten. Zur weiteren Isolirung der chemisch reizbaren ist es aber vielfach vortheilhaft, eine Capillare in die Nähe des Wurmes zu bringen, in welche nun, trotz der Wirkung der Diffusionssphäre auf kleinere Distanz, die dichter zusammengedrängten Organismen leichter und zahlreicher eingefangen werden. Es ist auch hier vortheilhaft, die Capillaren nicht zu eng und zu kurz zu nehmen und gleichzeitig zwei zu verwenden, von welchen die eine mit neutralem 5 % Fleischextrakt, die andere mit 1 % Fleischextrakt oder auch mit einem Gemisch aus je 1 % Fleischextrakt und Pepton gefüllt ist. Ebenso empfiehlt es sich, den Erfolg nach einigen Minuten und ebenso nach längerer Zeit wiederholt zu controliren, da, wie früher bemerkt, auch Verdrängungen vorkommen können und ferner durch die fortschreitende Diffusion mit der Zeit alle möglichen Abstufungen der Concentration des Reizmittels zur Geltung kommen. Treten Bacterien zu störend auf, so kann man diese zum Theil von größeren Organismen trennen, indem man die den Wurm umgebende Flüssigkeit auf ein Filter bringt und dieses nach Abwaschen und Einlegen in wenig Wasser mit den Capillaren in Berührung setzt.

Um Organismen im Freien aus Gewässern zu sammeln, pflege ich Gläschen mit 40 bis 30 ccm Inhalt und 40 bis 45 mm Halsweite, nach Beschickung mit einem oder einigen todten Würmern und nach Verbinden mit grobem Stramin zu benutzen. Dieser Schluss hindert das Wegfressen des Köders durch größere Thiere, während er dem Einwandern kleinerer Organismen nicht hinderlich ist. Für Anlockung dieser dürfte in den meisten Fällen die Mündung des Glases vortheilhaft auf den Boden des Gewässers, auch wohl zwischen die dort liegenden Pflanzenreste gebracht werden. Zweckmäßig ist es, das Gläschen an einen Stab zu binden und diesen in den Boden zu stecken, wodurch zugleich das Wiederauffinden erleichtert wird. Beim Herausnehmen wird, wenn thunlich, der Hals durch Auflegen des Daumens geschlossen gehalten.

Weniger vortheilhaft fand ich, die Fanggläser partiell mit 10 % Gelatine zu füllen, welcher 5 % Fleischextrakt zugesetzt waren. Ganz zweckmäßig ist es aber auch, den todten Wurm in ein Haus von *Helix pomatia*

zu bringen, das schon durch Einlegen eines Steinchens partiell geschlossen werden kann und das nach Anbringen eines Loches an der Mündung leicht an einem Faden zu befestigen ist. Selbstverständlich kann man auch zufällig aufgefundene todte Organismen sich nutzbar machen, indem man sie mitsammt ihrer Umgebung in ein Gefäß schöpft.

Zumeist werden auch in dieser Weise die vorbeisteurnden Organismen nur allmählich angesammelt und es wird wohl gewöhnlich vorthellhaft sein, erst nach 24 Stunden oder auch nach 2 bis 3 Tagen die Sammelapparate auszuheben. Im weiteren pflege ich dann in der schon beschriebenen Weise zu verfahren.

Thatsächlich finden sich auch immer chemotaktisch nicht reizbare Organismen um den Köder ein, doch wird ein leichtes Einwandern in das Lockmittel einer Capillare schon für chemische Reizbarkeit sprechen. In jedem Falle lassen sich auf diese Weise viele niedere und insbesondere auch chemotaktische Organismen sammeln. So konnte ich z. B. *Trepomonas* fast in allen Gewässern um Tübingen und oft auch die für selten gehaltenen *Hexamitus*-Arten einfangen. Außerdem fanden sich die verschiedensten Bacterienarten und Flagellaten ein, unter welchen letzteren auch öfters anscheinend noch unbekannte Formen auftauchten.

Das Einfangen niederer Organismen in der besagten Weise oder auch unter Verwendung von Pflanzentheilen als Köder habe ich seit einigen Jahren wiederholt benutzt. Übrigens läuft auch die bekannte Gewinnung von Saprolegnien, deren Schwärmosporen chemotaktisch reizbar sind, durch Einbringen von Fliegen u. s. w. in Sumpfwasser auf ein Einfangen hinaus. Neuerdings hat ZOPF¹⁾ Blütenstaub zum Einfangen gewisser parasitischen niederen Organismen systematisch benutzt.

In analoger Weise wie für Sauerstoff können die Bacterien auch als Reagens für das Vorhandensein von Reizmitteln ausgenutzt werden, die ja allein Ursache der Ansammlung sind, sobald eine solche durch ungleiche Sauerstoffvertheilung ausgeschlossen ist²⁾. Zeigt eine Ansammlung von Bacterien nicht, wie ein Zusammenwandern der Samenfäden von Farnen und Moosen, einen bestimmten Stoff an, so wird es doch in vielen Fällen Werth haben, nur die Existenz von gelösten Stoffen zu erkennen und z. B. festzustellen, ob aus einer Pflanze irgend ein Körper austritt. Die Empfindlichkeit der Bacterien ist aber ansehnlich genug, um schon den Austritt sehr kleiner Mengen eines guten Reizmittels durch eine Ansammlung anzuzeigen. Eine solche ist thatsächlich (z. B. bei Benutzung von *B. termo*) nach Verletzung von Zellen sogleich vorhanden, während durch lebende Zellen der Wurzelhaare von *Trianea bogotensis* und der Staubfadenhaare von

1) Sitzungsber. d. Naturf. Ges. zu Halle. 22. Mai 1886. Separatabzg. u. Über einige niedere Algenpilze. 1887. Vergl. auch ZOPF, Botan. Centralblatt. Bd. 10. 1882. p. 33.

2) PFEFFER l. c. p. 466.

Tradescantia virginica eine Anziehung nicht zu bemerken war. Die Ansammlung von Bacterien um die Archegonien von Farnen, um Zoosporangien und Oogonien von *Saprolegnia* ¹⁾ ist ebenfalls ein Erfolg entleerter Massen, und es ist wohl möglich, dass Secretionen aus lebenden Zellen noch vielfach durch die angedeutete Methode nachzuweisen sein werden.

Die spezifische Sensibilität kann aber möglicherweise auch zur Charakterisirung von Arten oder Varietäten benutzt werden. Bemerkenswerth ist jedenfalls die geringe chemotaktische Reizbarkeit der Typhus- und Cholerabacillen. Sofern nicht andere stärker reizende Körper gefunden werden, können demgemäß chemotaktische Reize auf die Vertheilung dieser Organismen im inficirten Körper keinen Einfluss ausüben und schon dieses Indifferentismus halber ist nicht daran zu denken, diese beweglichen pathogenen Organismen etwa durch chemische Reizmittel zu entfernen.

XI. Allgemeines.

Unter den reizbar befundenen Bacterien, Flagellaten und Volvocineen sind nur die letzteren chlorophyllführend, alle übrigen frei von Chlorophyll. Die chemotaktische Reizbarkeit ist aber keineswegs bei allen locomotorisch beweglichen Repräsentanten dieser Familien ausgebildet, vielmehr finden sich alle Abstufungen von hoher Empfindlichkeit bis zu gänzlicher Unempfindlichkeit. Trotz dieser weitgehenden graduellen Abstufung der Reizbarkeit sind im allgemeinen für alle empfindlichen Organismen dieselben Stoffe, wenn auch in etwas specifisch verschiedener Weise, Reizmittel, doch ist wohl möglich, dass in dieser Hinsicht größere Differenzen weiterhin gefunden werden.

Diese Reizbarkeit dient offenbar dazu, unsere Organismen nach guter Nahrung zu führen, resp. sie in solcher festzuhalten, und aus vegetabilischen oder animalischen Körpern diffundiren stets Kalisalze oder auch andere organische Stoffe, welche gute Reizmittel sind. Die repulsive Reizwirkung concentrirter, sowie saurer und alkalischer Lösungen ist geeignet, gelegentlich vor Eintritt in schädliche Medien zu bewahren, doch kommt unseren Organismen nicht die Fähigkeit zu, alle schädlichen Stoffe zu meiden (p. 627).

Es ist aber wohl zu beachten, dass ohne chemotaktische Reize die unbeweglichen Bacterien, alle Infusorien und viele Flagellaten ebenso gut die Bedingungen für ihre Ernährung finden. Jedenfalls bedarf es eingehender biologischer Studien, um für die verschiedenen Fälle die Bedeutung von Vorhandensein und Fehlen chemischer Reizbarkeit zu überschauen und um

¹⁾ Vergl. u. a. PFEFFER l. c. p. 419, 427; HARTOG, Quarterly Journal of Microscop. Soc. 1887. New ser. Part. 3. Bd. 27. p. 435; BERTHOLD, Protoplasmamechanik. 1886. p. 310.

z. B. abzuschätzen, ob letztere bei den Volvocineen eine ernährungsphysiologische Bedeutung hat. Ohnehin wirken chemotaktische Reize nur auf kleinere Distanz und dienen also wohl wesentlich zum Festhalten der in die Nähe geführten Organismen, während für die Verbreitung auf größere Entfernung durch die herumschweifenden Bewegungen und ganz besonders durch mechanisches Fortführen im Wasser oder auch in der Luft gesorgt wird.

Vorhandensein und Fehlen chemischer Reizbarkeit ist nicht an die Aufnahme fester oder flüssiger Nahrung gekettet. Denn während Bacterien, *Polytoma*, *Chlamydomonas*, schon der Umkleidung mit fester Zellhaut halber, nur Gelöstes aufnehmen, verschlingen *Bodo*, *Trepomonas*, *Hexamitus* feste Bissen (p. 595 ff.). Letzteres ist aber auch der Fall bei *Tetramitus* und Infusorien, welche ebensowenig chemotaktisch reizbar sind, als die auf Aufnahme flüssiger Nahrung angewiesenen *Chilomonas*, Euglenen (z. Th.) und die unbeweglichen Bacterien. Ein Anlocken durch die Nahrung kann aber auch den feste Bissen aufnehmenden Organismen nutzbar sein, mögen diese nun die zur Anlockung Veranlassung gebenden Massen selbst verschlingen, oder durch solche Reize zu Wohnstätten von Bacterien u. s. w. geführt werden, welche ihnen als Nahrung dienen.

Die mannigfachsten Erfahrungen an höheren und niederen Organismen lehren bekanntlich, dass die Ausbildung besonderer Reizbarkeit weit mehr nach biologischen als nach systematisch verwandtschaftlichen Verhältnissen geregelt ist. So ist es auch um so weniger nöthig, hier die verwandtschaftlichen Beziehungen¹⁾ unserer Organismen näher zu besprechen, als ja nicht einmal alle Repräsentanten derselben Familie eine chemische Reizbarkeit besitzen. Übrigens ist nicht zu verkennen, dass sich die Bacterien durch arthrospore Formen niederen Flagellaten nähern, und dass diese Familie mit den Volvocineen, aber auch mit den Infusorien Verwandtschaft besitzt. Ferner besteht Verwandtschaft zwischen Monadineen und Myxomyceten. Letztere sind, wie durch STAHL²⁾ bekannt ist, chemotaktisch reizbar, fliehen auch concentrirtere Lösungen, doch ist bis dahin die Qualität der specifischen Reizmittel nicht näher bestimmt³⁾.

Dienen chemische Reize nicht allgemein dazu, um locomotorische niedere Organismen zur Nahrung zu leiten, so sind sie doch auch zu anderen Zwecken ausgebildet. So werden durch chemotaktische Reize die Samenfäden gewisser Pflanzen zur Eizelle geführt und in verschiedener Weise

1) Vergl. DE BARY, Morphol. u. Biologie d. Pilze. 1884. p. 513; BÜTSCHLI in BRONN'S Klassen u. Ordnungen des Thierreichs. Bd. I. p. 803; KLEBS, Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen. Bd. I. p. 334, 359.

2) Bot. Zeitung. 1884. p. 445.

3) Auch die Schwärmsporen von *Saprolegnia* werden durch Fleischextrakt angelockt, doch ist nicht ermittelt, welche Stoffe im näheren Reizmittel sind. Vergl. PFEFFER l. c. p. 467.

dürften solche Reize mitspielen, um Parasiten oder Saprophyten in ihre Existenzbedingungen gelangen zu lassen. Ebenso habe ich schon früher darauf hingewiesen, dass chemische Reize wohl öfters Krümmungsbewegungen in den nicht locomotorisch beweglichen Pflanzen und auch im Innern des Organismus in mannigfacher Weise Ernährungs-, Wachstums- und Bewegungsvorgänge veranlassen oder reguliren dürften¹⁾. Auch ist die aus jeweiligem Zustand des Organismus und dem zutretenden Stoff entspringende Wechselwirkung offenbar vielfach von Bedeutung für die Stoffaufnahme in die Zelle²⁾.

Bei der Verschiedenheit der specifischen Einrichtungen und Eigentümlichkeiten muss man sich hüten, auf Grund einzelner Erfahrungen zu weitgehend zu generalisiren. Ebenso, wie z. B. der Blütenstaub theilweise durch Wind, theilweise durch Insekten an seine Wirkungsstätte geschafft wird, sind nicht immer chemische Reize benutzt, um Sexualzellen zusammenzuführen oder niedere Organismen zur Nahrung zu leiten. Ich habe dieses auch schon früher betont und an Beispielen den Mangel chemischer Reizbarkeit in copulirenden Gameten nachgewiesen³⁾. Bei dieser Gelegenheit wies ich auf die Möglichkeit eines Contactreizes als Mittel zur Vereinigung von Sexualzellen hin und inzwischen hat DEWITZ⁴⁾ gezeigt, wie ein Contactreiz die Samenfäden in das Ei der Küchenschabe führt.

Sicherlich werden aber, sowohl für das Zusammenführen von Eizellen, als für die Beförderung von locomotorisch beweglichen Organismen zur Nahrung oder anderen Existenzbedingungen, noch mannigfach verschiedene Reizwirkungen benutzt werden. Der Contactreizung bei einzelnen Infusorien wurde schon gedacht, ebenso des gelegentlichen Haftens oder zur Ruhe Kommens durch mechanische oder auch andere Wirkungen; auch die Reizung durch Sauerstoff ist erwähnt, welche übrigens den chemischen Reizen sich anreicht⁵⁾. Es ist aber auch wohl möglich, dass in gegebenen Fällen durch Wasserströmung, durch die Diffusionsbewegung als solche, durch ungleiche Dichte des Mediums, durch elektrische⁶⁾ oder noch andere Einflüsse Reizwirkungen ausgeübt werden.

1) Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen. Bd. I. p. 447, 468. — Über die Befruchtungsschläuche der *Dudresnaya* etc. vergl. BERTHOLD, Protoplasmamechanik. 1886. p. 282. — Pollenschläuche sollen im Anhang besprochen werden.

2) PFEFFER, Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen. Bd. II. p. 304.

3) Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen. I. p. 442.

4) PFLÜGER'S Archiv. Bd. 39. 1886. p. 4.

5) Eine Anlockung durch saure und alkalische Reaktion wäre auch möglich. Mit negativem Resultate prüfte ich z. B. darauf die Samenfäden von *Marchantia* und die Gameten von *Chlamydomonas pulvisculus*.

6) Eine Anlockung durch schwache elektrische Ströme fand ich nicht bei Samenfäden von *Marchantia* und bei den Gameten von *Chlamydomonas*. Vermuthungen, dass solche Ströme anziehende Reizmittel sein könnten, sind ausgesprochen von NÄGELI, Abstammungslehre. 1884. p. 221, 387, und DODEL-PORT, Biologische Fragmente. 1885. p. 47,

Während die festgewurzelten Pflanzen durch mannigfache Krümmungsbewegungen auf Reize antworten, werden die locomotorischen Organismen durch Reize veranlasst, mit den ihnen zu Gebote stehenden Bewegungsmitteln nach bestimmten Richtungen zu steuern. Dabei ist die Bewegung nicht immer mit gleichen Mitteln erreicht¹⁾. So kriechen die auch chemotaktisch reizbaren Myxomyceten amöboid herum, während die anderen hier behandelten Organismen frei im Wasser schwimmen und zum Theil ihre Körperform überhaupt nicht ändern. Meine Aufgabe ist es indess nicht, näher auf die Bewegungsmittel und die Mechanik der Bewegungen einzugehen, welche letztere insbesondere der Aufhellung noch sehr bedürftig ist. Es genüge, darauf hinzuweisen, dass bei Volvocineen und Flagellaten die Bewegung durch arbeitende Wimpern gewonnen wird, während es fraglich bleibt, ob sie bei Bacterien immer in dieser Weise erzielt wird²⁾. Des Mangels der sonst allgemeinen Achsendrehung während des Schwimmens bei *Bodo* wurde schon gedacht (p. 594).

Abgesehen von den Bacterien und von *Pandorina* sind die hier untersuchten Organismen unipolar ausgebildet und demgemäß geht, mit und ohne Reiz, immer ein bestimmtes Ende in der Bewegung voraus. Sind die Cilien nur einseitig (*Euglena*, *Polytoma*, *Chlamydomonas*), so pflegen diese nach dem Bewegungsziele hin gerichtet zu sein³⁾ und gleiche Stellung hat auch eine oder haben einige der Wimpern bei den Organismen, welche mit sog. Schleppgeißeln versehen sind (*Bodo*, *Hexamitus*) oder einen besonderen Wimperapparat besitzen, wie *Trepomonas* (nach den Beobachtungen von KLEBS). Die bipolaren Bacterien pflegen abwechselnd vorwärts und rückwärts zu gehen und bei *Pandorina* ist eine ausgesprochene Polarität nicht vorhanden⁴⁾.

Unter den hier behandelten Organismen besitzen die Bacterien und Volvocineen eine abhebbare Zellhaut, welche den Flagellaten abgeht. Unter diesen kommt *Hexamitus* und *Euglena* (dgl. *Monas guttula*) Metabolie zu, welche *Bodo*, *Trepomonas*, ferner den Volvocineen und Bacterien abgeht. Diese Metabolie wird indess bei den chemotaktischen Reizen nicht in Anspruch genommen, denn auch *Hexamitus* und *Euglena hyalina* können ohne

54. — Die Wirkung stärkerer Ströme, welche COHN und MENDELSON (Beiträge zur Biologie. Bd. 3. 1883. p. 144) beobachteten, war eine Folge der Zersetzung von Salzen.

1) Vergl. PFEFFER, Physiologie. Bd. II. p. 361.

2) Vergl. DE BARY, Morphologie u. Biologie d. Pilze. 1884. p. 493; Vorlesungen über Bacterien. II. Aufl. 1887. p. 6. — Beiläufig sei bemerkt, dass bei *Spirillum volutans* die Wimpern sehr thätig sich bewegen. — Hinsichtlich der Frage, ob bei Flagellaten vielleicht noch in anderer Weise, als durch die Cilien, Bewegung zu Stande kommt, vergl. BERTHOLD, Protoplasmamechanik. 1886. p. 128.

3) Nachgeschleppt wird die einzige Wimper bei *Chytridium vorax* (STRASBURGER, Wirkung d. Lichtes und d. Wärme auf Schwärmosporen. 1878. p. 13, und bei *Oxyrrhis* (BÜTSCHLI in BRONN'S Klassen u. Ordnungen d. Thierreichs. Bd. I. p. 852).

4) Vergl. PFEFFER, Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen. I. p. 443.

Gestaltänderung des Körpers durch Reizmittel abgelenkt und in eine Capillare gelockt werden (p. 634). Gleiches fand ich auch für Samenfäden der Farne, welche, wenigstens bei mechanischen Zerrungen, gestaltlicher Änderungen fähig sind¹⁾. Dagegen führen die Myxomyceten alle Bewegungen in amöboider Weise aus.

Dass nicht Schnelligkeit der Bewegung Hand in Hand mit hoher Empfindlichkeit geht, ist schon früher (p. 648) hervorgehoben.

Da die Bewegungsbahn unserer Organismen stets in bestimmter Beziehung zur Körperachse steht, genügt eine auf diese ausgeübte Richtkraft, um die dauernd sich fortbewegenden Organismen nach einem Ziele zu locken. In solcher Richtung des Körpers, nicht aber in Bewegungsbeschleunigung (p. 631) besteht der Erfolg der chemischen Reizung. Durch diese wird sowohl bei positiver wie negativer Chemotaxis die Längsachse des Körpers senkrecht gegen die Curven gleicher Concentration gerichtet²⁾ und die ungleiche Vertheilung des Reizmittels, wie sie durch Diffusion zu Stande kommt, ist Bedingung für die chemotaktische Bewegung³⁾. Für eine solche ist keine Veranlassung gegeben, sobald der Körper allseitig gleichmäßig von dem Reizmittel afficirt wird, das indess unter diesen Umständen nicht ohne Wirkung ist, wie die dem WEBER'schen Gesetze entsprechende Herabsetzung der Empfindlichkeit gegen das hinzudiffundirende Reizmittel lehrt.

Diese und andere Verhältnisse der chemotaktischen und anderer Reizungen wurden schon in meiner früheren Arbeit besprochen, auf welche ich, um Wiederholungen zu vermeiden, verweisen muss (l. c. p. 474). An dieser Stelle ist u. a. auch wiederum hervorzuheben, dass mit der Kenntnis der äußeren Reizbedingung und der endlichen Aktion, selbst wenn die mechanische Vermittlung dieser thunlichst aufgedeckt ist, noch keine volle Einsicht in die Kette der Prozesse gewonnen ist, die von der Perception des Reizes ab zum endlichen Erfolge führt. Spricht sich auch dieser in gleichförmigen Krümmungen oder Bewegungen nach bestimmtem Ziele aus, so können dieserhalb doch sogar schon in der mechanischen Vermittelung Differenzen bestehen und bei Gleichheit dieser ist nicht ausgeschlossen, dass in dem Akte der Perception des Reizes oder auch den zunächst sich anschließenden Vorgängen Unterschiede der verschiedenen Organismen und in demselben Organismus für verschiedene Reizmittel vorhanden sind. Ob solche Unterschiede bestehen, ist ebenso wenig hinsichtlich des Heliotropismus, als derjenigen chemotaktischen Vorgänge bekannt, welche durch verschiedene Reizmittel in demselben Organismus erzeugt werden und die in

1) L. c. p. 392.

2) Eine dem Transversalheliotropismus entsprechende Richtung ist zur Zeit für chemotaktische Reize nicht bekannt. Vergl. auch PEEFFER l. c. p. 475.

3) Dass die Ansammlungen nicht etwa nur zu Stande kommen, weil die zufällig einschwärmenden Organismen beim Versuch des Entfliehens zurückschrecken, lehrt die direkte Beobachtung. Vergl. übrigens PEEFFER l. c. p. 378, 464.

der Gestaltung der durch die Bewegung ausgesprochenen Reaktion übereinstimmen. Jedenfalls ist es unwahrscheinlich, dass der Auslösungsvorgang durch einseitigen Angriff von Sauerstoff mit anderen chemotaktischen Reizen gänzlich übereinstimmt. Denn z. B. auch die durch Kalisalze u. s. w. nicht anlockbaren Infusorien erweisen sich gegenüber Sauerstoff in hohem Grade chemotaktisch, und da demgemäß die Fähigkeit für Perception des Sauerstoffreizes unabhängig von der Existenz der Reizbarkeit durch Kalisalze ist, so muss irgend ein Unterschied, mindestens in dem unmittelbaren Akte der Reizung, bestehen. Ebenso ist zur Zeit nicht zu sagen, in welcher Weise sich die zu negativer oder positiver Chemotaxis führenden Reizwirkungen unterscheiden (vgl. auch p. 624).

In allen Bestrebungen nach tieferem Eindringen müssen zwar stets die gesammten Reizungsvorgänge ins Auge gefasst werden, doch ist es wohl möglich, dass gerade durch die chemischen Reize einmal einige Fortschritte zu gewinnen sein werden. Denn da einige Organismen nur durch einen einzelnen Körper, andere in gleichförmiger Weise durch sehr verschiedene Stoffe gereizt werden können, dürfte es bei sorgfältiger Beachtung der Eigenschaften der reizbaren Organismen und der Eigenschaften wirkender und nicht wirkender Körper wohl gelingen, wenigstens einzelne Lichtblicke herauszuschälen. Dass mit der Ausbildung der Reizbarkeit durch bestimmte Stoffe Eigenschaften des Organismus geschaffen wurden, die allgemein mit bestimmten Qualitäten ausgestatteten Körpern eine Reizung gestatten, ist daraus zu entnehmen, dass auch Lithium, Rubidium, ferner auch organische Körper Reizmittel sind, welche in der Natur dem Organismus gar nicht geboten werden. Gleiches gilt auch hinsichtlich der Reizbarkeit der Samenfäden der Farne durch Maleinsäure.

Zur Zeit vermag ich freilich ein tieferes Eindringen in diese Reizungsvorgänge nicht zu bieten und die folgenden Auseinandersetzungen können deshalb nur dazu dienen, einzelne Fragen zu präzisiren und darzuthun, in welchen Umständen die Ursache der Reizung begründet ist.

Hinsichtlich der Reizempfänglichkeit des Organismus muss ich es, ebenso wie früher für die Samenfäden der Farne ¹⁾, unentschieden lassen, ob der ganze Körper oder nur bestimmte Theile dieses den Reiz percipiren. Zwar sind die Wimpern die mechanischen Mittel zur Bewegung und also auch der durch Reiz veranlassten Körperwendungen, doch kann dieserhalb die Direktion von dem an anderer Stelle sensiblen Körper ausgehen. Die Thatsache, dass die Wimpern von *Chlamydomonas* und *Polytoma* ²⁾ durch Contact reizbar sind, lässt es wohl möglich erscheinen, dass sie auch die Perceptionsorgane für chemische Reize sind. Eine sichere Entscheidung ist indessen aus solchem Analogieschluss ebensowenig abzuleiten, wie aus der

1) L. c. p. 409.

2) L. c. p. 444 u. diese Arbeit p. 618.

Erfahrung, dass die Wimpern unter äußeren Einflüssen am leichtesten leiden ¹⁾. Andererseits geht aus der chemotaktischen Reizbarkeit der wimperlosen Myxomyceten nicht hervor, dass die Cilien auch bei unseren Organismen die reizempfindlichen Organe nicht sein können.

Auch aus den Organismen, welche nicht nur einseitig Cilien tragen, kann derzeit kein bestimmtes Argument abgeleitet werden. Vielmehr bleibt für diese noch zu entscheiden, in welcher Weise die ungleichwerthigen Geißeln bei der Reizwendung und eventuell bei der Perception des Reizes betheiligt sind.

Leider ist heute eine Frage von fundamentaler Bedeutung nicht zu entscheiden, ob nämlich, um reizend zu wirken, ein Stoff ins Innere des Organismus aufgenommen werden muss oder nicht. Freilich werden als Nährmaterialien Körper aufgenommen, welche zugleich chemotaktisch reizen können, doch ist damit nicht gesagt, dass zur Auslösung des Reizes die Aufnahme nothwendig ist, und dieses wäre zu negiren, sobald in einem Falle das Zustandekommen chemotaktischer Reizung ohne Stoffaufnahme feststände.

Die Entscheidung, ob eine geringe Stoffmenge eintritt, ist indess schon an großen Zellen sehr schwer oder unmöglich. Und wenn thatsächlich für Indigocarmin und Anilinblau, die beide mäßig starke Reizmittel sind, ein Eindringen in Zellen anderer Pflanzen ganz zu unterbleiben scheint ²⁾, so kann man daraus doch kein sicheres Argument in unserem Falle ableiten. Auch die hohe Reizwirkung von Dextrin gegenüber *Bact. termo* fällt hier nicht ins Gewicht, da thatsächlich Dextrin als Nahrung aufgenommen wird und die Größe des gelösten Moleküls überhaupt nicht eine Nichtaufnahme oder eine verlangsamte Aufnahme in lebensthätige Zellen bedingt ³⁾.

Sollte die Reizung ohne Stoffaufnahme zu stande kommen, so würden sich die chemotaktischen Reize als eine besondere Kategorie den Contactreizen anreihen, die bei den Ranken auch nur durch ganz besondere Stoßwirkungen ausgelöst werden ⁴⁾. Die chemotaktische Reizung käme dann freilich nicht schlechthin durch den Anprall gelöster Moleküle, sondern insbesondere durch die wechselseitigen Anziehungen zwischen diesen und der Oberfläche des Protoplasmakörpers, resp. des den Reiz percipirenden Organes zu Wege, Wechselwirkungen, welche ja auch in die Stoffaufnahme entscheidend eingreifen. Als eine Folge der Besonderheiten des Organismus wäre die specifische Reaktionsfähigkeit unter solcher Annahme ebenso gut verständlich, wie bei supponirter Aufnahme des Reizmittels in das Innere.

1) KLEBS, Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen. I. p. 255; FISCH, Unters. über einige Flagellaten. 1885. p. 52.

2) PFEFFER, Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen. Bd. II. p. 268.

3) PFEFFER l. c. p. 299.

4) PFEFFER l. c. Bd. I. p. 499.

Sollte es aber der Aufnahme für Auslösung des Reizes nothwendig bedürfen, so müssen doch besondere Wechselwirkungen während oder nach der Aufnahme entscheidend sein, denn die local ungleiche Aufnahmehätigkeit, wie sie in der Diffusionszone zu stande kommen mag, kann nicht schlechthin die Ursache der richtenden Reizwirkung sein. Dies geht daraus hervor, dass Glycerin, obgleich es nachweislich als guter Nährstoff aufgenommen wird, nicht als chemotaktischer Reiz auf Bacterien wirkt, und sicherlich dringen in Samenfäden der Farne viele der Stoffe, welche keine chemotaktische Reizung erzielen. Auch führt zu gleichem Schlusse die Erwägung, dass in homogenem Medium keine chemotaktische Bewegung eintritt, obgleich die Aufnahme der gelösten Stoffe sicherlich nicht gleich schnell an allen Stellen der Körperoberfläche von statten geht¹⁾. Nach der Aufnahme verbreiten sich aber die Stoffe sehr bald gleichmäßig im Körper dieser kleinen Organismen, und so müsste entweder in der specifischen Wirkung während der Aufnahme oder doch während der gleich darauf folgenden Vertheilung im Körper die Ursache der Reizung zu suchen sein.

Eine Entscheidung dieser Alternativen ist weder für die attraktiven, noch für die repulsiven Reizwirkungen zur Zeit möglich. Immerhin kann man aus obigen Erwägungen entnehmen, dass die auslösende Wirkung im Contact der specifischen Reizmittel mit der Oberfläche des lebendigen Organismus recht wohl zu stande kommen könnten. Hiergegen könnten natürlich auch ausgelöste innere Vorgänge nicht sprechen, die ja thatsächlich auch bei den nur äußerlich applicirten Contactreizen als Ursachen der mechanischen Ausführung der Krümmungsbewegungen von statten gehen.

In jedem Falle ist die specifische Sensibilität der Organismen in erster Linie entscheidend und von dieser von Fall zu Fall veränderten Größe hängt es ab, dass die Samenfäden der Farne durch Äpfelsäure, die Samenfäden der Moose durch Rohrzucker, Bacterien und Flagellaten in graduell verschiedener Weise durch mannigfache Stoffe chemotaktisch gereizt werden. Schon aus diesen Besonderheiten kann man mit Sicherheit schließen, dass der Reizwerth der Körper nicht aus den bis dahin bekannten physikalischen und chemischen Qualitäten erklärt werden kann.

Dass eine ausgesprochene Beziehung zwischen Reizwerth und Atomgewicht oder Molekulargewicht nicht besteht, geht genugsam aus früheren Mittheilungen hervor (p. 607). Schon die zum Theil wirkungslosen organischen Verbindungen lehren, dass ein Element nicht in allen Verbindungen reizend wirkt, und der Veränderlichkeit des Reizwerths von Kalium, sowie des Moleküls der Äpfelsäure wurde gedacht. Es genügt übrigens z. B. die Chloride der Alkalien zu vergleichen, um den Mangel solcher Beziehungen auch da zu erkennen, wo sämmtliche Salze reizend wirken. Denn das Atomgewicht (und entsprechend das Molekulargewicht der Chloride)

1) Vergl. PFEFFER l. c. Bd. I. p. 476.

des sehr wirksamen Kaliums (=39), liegt zwischen den Atomgewichten von Natrium (= 23) und Caesium (= 133), die beide nur schwächer und ungefähr gleich stark reizend wirken, während dem Lithium (Atomgewicht = 7) wieder, wenigstens gegen *Bact. termo* ein höherer Reizwerth zukommt. Ferner sind z. B. die Reizwerthe der Chloride der alkalischen Erden nicht sehr verschieden, während die Atomgewichte dieser Elemente zwischen 24 (Mg) und 137 (Ba) zu liegen kommen.

Allerdings wird die relative Größe der in Lösung befindlichen Moleküle nicht durch das Molekulargewicht angezeigt¹⁾. Dagegen bestehen sicher Beziehungen zwischen der Größe der gelösten Moleküle einerseits und der Diffusionsschnelligkeit und namentlich der osmotischen Leistung andererseits²⁾. Da aber weder Diffusionsschnelligkeit, noch osmotische Leistung in einem Verhältnis zur Reizwirkung der Stoffe stehen, ist diese nicht von der Größe der gelösten Moleküle abhängig.

Dass die Reizwirkung eines Stoffes nicht nach dessen osmotischer Leistung bemessen wird, ist leicht aus den Thatsachen zu entnehmen. Schon die spezifische Reizbarkeit der Samenfäden allein durch Äpfelsäure spricht entschieden dagegen und gegenüber Bacterien und Flagellaten begegnen uns als gute und schlechte Reizmittel sowohl Krystalloide als Colloide, obgleich die osmotische (plasmolytische) Leistung der letzteren auf den lebenden Protoplasmakörper bekanntlich nur sehr gering ist³⁾. Ich will nur daran erinnern, dass das indifferente Glycerin bei gleicher gewichtsprocentiger Concentration ungefähr ebenso stark plasmolytisch wirkt, wie das stark reizende Kaliumsulfat, und dass von Colloiden Pepton und zum Theil auch Dextrin sehr gute Reizmittel sind. Auch ist früher (p. 623) schon gezeigt, dass die repulsive Wirkung nicht schlechthin von der osmotischen Leistung der Stoffe abhängig ist.

Aus der Thatsache, dass sowohl unter krystalloiden als colloiden Körpern gute und schlechte Reizmittel sich finden, ergibt sich auch sogleich das Fehlen einer Beziehung zwischen Diffusionsschnelligkeit und Reizwirkung. Es ist unter diesen Umständen unnöthig zu zeigen, dass auch die nähere Berücksichtigung bekannter Diffusionsschnelligkeit von Körpern zu gleichem negativen Resultate führt.

Nach dem Gesagten kann die osmotische Leistung der in der Diffusionszone ungleichen dichteren Lösung nicht durch Erzielung einer Wasserbewegung in dem lebendigen Organismus als Reiz wirken. Denn eine solche, welche innerhalb der Zelle von der dünneren zur dichteren Lösung gerichtet sein würde, käme im Verhältnis der osmotischen Leistung der gelösten Stoffe zu stande⁴⁾.

1) LOTHAR MEYER, Die modernen Theorien d. Chemie. IV. Aufl. 1883. p. 305.

2) Vergl. LOTHAR MEYER l. c. p. 345; ferner DUHAM, Ber. d. chem. Ges. 1887, Referate p. 244 u. namentlich VAN'T HOFF, Zeitschrift f. physik. Chemie. Bd. I. 1887. p. 484.

3) PFEFFER, Osmot. Unters. 1877. p. 75, 175.

4) Ebenda p. 225.

Aus dem Mangel einer Beziehung zwischen Diffusionsschnelligkeit und Reizwirkung folgt auch unmittelbar, dass nicht etwa der nach der Größe und der Bewegungsschnelligkeit geregelte Anprall der Moleküle zum Reize führt, sobald diese molekularen Stöße den Organismus an verschiedenen Stellen des Körpers in ungleicher Zahl treffen. Jedenfalls müssen also bei unseren Organismen spezifische, aus der Qualität der Stoffe entspringende Wirkungen entscheidend sein, doch ist es wohl möglich, dass in anderen Fällen einmal eine nur von der Diffusionswirkung abhängige Reizung, also ein Diffusiotropismus, resp. Diffusiotoxis, aufgedeckt wird ¹⁾.

Ebensowenig kann eine Bewegung der Wassermoleküle die Ursache der Reizung werden. Übrigens wurde für *Bodo saltans* der Mangel eines Rheotropismus²⁾ dadurch constatirt, dass sehr langsames Einsaugen oder Ausströmen von Wasser aus einer Capillare nicht als Reiz wirkte. Stärkere Wasserströmungen sind natürlich unzulässig, da durch diese auch die kräftigeren Organismen mechanisch fortgerissen werden.

Durch die ungleiche Vertheilung eines gelösten Stoffes um den Organismus wird im allgemeinen eine gewisse Differenz in der Oberflächenspannung des Protoplasmakörpers erzielt werden und es ist wohl möglich, dass noch Beispiele bekannt werden, in denen durch solche Verhältnisse Auslösung von Reizen stattfindet ³⁾. Eine solche Reizung einfach durch physikalische Differenz in der Oberflächenspannung kann indess in unseren Fällen nicht vorliegen, da jedenfalls concentrirte Lösungen indifferenten Stoffe höhere Unterschiede in der Oberflächenspannung herbeiführen, als die so sehr verdünnten Lösungen starker Reizmittel, die zudem nur mit dem minimalen Unterschiede der Concentration am vorderen und hinteren Ende der winzigen Organismen als chemotaktische Reize in Betracht kommen.

Nach allen Erwägungen müssen wir uns mit der Erkenntnis bescheiden, dass wir die behandelte spezifische Reizwirkung von Stoffen aus den derzeit bekannten Eigenschaften derselben, im Vereine mit den in der Diffusionszone bestehenden Verhältnissen nicht erklären können. Dieses würde auch dann noch zutreffen, wenn es entschieden wäre, ob für die Reizung nur ein Anprall an die Außenfläche, oder ein Eindringen in das Innere des Körpers nöthig ist. Den Thatsachen tragen wir aber jedenfalls Rechnung, indem wir die ungleiche Vertheilung, d. h. also die fallende Concentration der wirksamen Stoffe als äußere Ursache des chemotaktischen Reizes ansprechen. Dabei bleibt noch unentschieden, ob schon in dieser Vertheilung als solcher die Reizursache gegeben ist, oder ob der in der Diffusion entwickelte Bewegungszustand mitzuwirken hat. Ferner bleiben damit alle die

1) Vergl. auch Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen. Bd. I. p. 390.

2) Über Rheotropismus von Myxomyceten vergl. STAHL, Bot. Zeitung. 1884. p. 147.

3) Vergl. BERTHOLD, Protoplasmamechanik. 1886. p. 129. — BERTHOLD kommt in einseitiger Ausbeutung eines Principi vielfach zu Schlussfolgerungen, denen man sich nicht anschließen kann.

Faktoren unbestimmt, welche aus der Wechselwirkung zwischen dem Organismus und dem Reizstoff entspringen, Faktoren, in denen in jedem Falle das Entscheidende liegt, da ja in diesen Eigenschaften die Reizfähigkeit begründet ist ¹⁾).

Solche spezifische und theilweise so überaus feine Sensibilität erscheint vielleicht nicht so außergewöhnlich, wenn man unsere eigenen, zum Theil ja auch sehr feinen Sinneswahrnehmungen zum Vergleiche herbeizieht. Denn auch die spezifischen Reizwirkungen von Stoffen, die uns im Geschmack und Geruch zur subjektiven Wahrnehmung kommen, können aus den zur Zeit bekannten physikalischen und chemischen Eigenschaften der Körper nicht vorausgesagt und erklärt werden und u. a. lehren die in dieser Beziehung verschiedenen Qualitäten organischer Körper sogleich, dass jene Reizeigenschaften eine Funktion des Moleküls, also nicht unveränderlich mit einem Elemente verkettet sind. Sind auch diese psychischen Vorstellungen mit der objektiv wahrnehmbaren Reaktion der außerhalb stehenden Organismen nicht direkt zu vergleichen (vgl. p. 638), so dürfte doch in Berücksichtigung jener eine Mahnung vorliegen, dass wir uns die Verhältnisse in anderen Organismen nicht zu einfach vorzustellen und uns zu hüten haben, durch eine voreilige, scheinbar befriedigende Erklärung das Streben nach tieferem Eindringen zu lähmen. Die Möglichkeit, stufenweise vorwärts zu kommen, ist auch in den hier behandelten Problemen gegeben, da alle diese Vorgänge in letzter Instanz aus Bewegung und Veränderung materieller Theilchen entspringen.

XII. Anhang. Beobachtungen an Samenfäden und Pollenschläuchen.

Anhangsweise sollen hier einige weitere Erfahrungen über die Samenfäden der Farne, sowie über Pollenschläuche in Kürze mitgetheilt werden.

Samenfäden der Farne. Für diese wurde festgestellt, dass die inaktive Äpfelsäure ebenso wie die optisch aktive Äpfelsäure wirkt, Äpfelsäure-Äthyläther aber keine chemotaktische Reizung ausübt.

Aus Fumarsäure durch Herrn Dr. ANSCHÜTZ dargestellte Äpfelsäure stand mir durch die Güte des Herrn Collegen WALLACH in Bonn zur Verfügung. Die Prüfung ergab, dass diese inaktive Säure ebenso und ebenso stark reizte, wie die optisch aktive Säure, denn für beide wurde die Reizschwelle (als Natronsalz) mit 0,004 % Lösung erreicht ²⁾. Ebenso verhielt sich auch die aus Asparaginsäure dargestellte inaktive Äpfelsäure ³⁾.

Nach den Beobachtungen von ANSCHÜTZ ⁴⁾ und VAN'T HOFF ⁵⁾ sind übrigens

1) Vergl. Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen. I. p. 477.

2) PFEFFER, Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen. Bd. I. p. 379.

3) PFEFFER l. c. p. 442.

4) Berichte d. deutsch. chem. Ges. 1885. p. 1949.

5) Ebenda. 1885. p. 2170.

die oben genannten und auch die auf anderen Wegen dargestellten Äpfelsäuren identisch.

Von wesentlicher Bedeutung ist, wie schon früher (p. 607) hervorgehoben wurde, dass der Diäthylester der Äpfelsäure¹⁾ nicht als Reiz auf Samenfäden der Farne wirkt. Weder mit 0,4 noch mit 4 % Lösung konnte irgend eine Spur von Attraktion bemerkt werden. Dabei hat dieser Äpfelsäureäther keine abstoßende Wirkung, denn die anziehende Wirkung einer 0,001 % Äpfelsäurelösung (als Natronsalz) wurde durch Zusatz von 0,5 % Äpfelsäure-Diäthylester nicht modificirt.

Es genügte aber, die 0,4 % Lösung des Diäthylesters einige Minuten mit einigen Tropfen Kalilauge zu kochen, um dann, nach dem Neutralisiren mit Salzsäure, eine intensive Anlockung der Samenfäden durch die nun frei gemachte Äpfelsäure zu erhalten.

Fernere Untersuchungen müssen entscheiden, in wie weit die Reizwirkungen der Äpfelsäure in anderen Verbindungen modificirt werden. Nach früheren Untersuchungen hat die Äpfelsäure sowohl als freie Säure, wie auch in Verbindung mit Natrium, Ammonium, Calcium und Baryum jedenfalls annähernd gleiche Wirkung. In neuerer Zeit prüfte ich noch die gesättigte wässrige Lösung des schwer löslichen Äpfelsäurechloralids²⁾. Die Samenfäden schwärmten reichlich in die Capillare, fanden aber bald nach dem Eintritt ihren Tod. Es muss indess dahin gestellt bleiben, ob sich in der Lösung dieser leicht zersetzbaren Verbindung nicht etwa Äpfelsäure gebildet hatte.

Eine schwache Anziehung der Samenfäden der Farne erhielt ich durch 4 % Monobrombernsteinsäure (als Natronsalz), während die 0,4 % Lösung keine bemerkliche Reizung erzielte. Da indess aus dieser Säure verhältnismäßig leicht Äpfelsäure entsteht und schon minimale Mengen dieser zur Reizung genügen, so muss es zweifelhaft bleiben, ob der beobachtete Erfolg nicht auf beigemengte Äpfelsäure fällt. Dass die Reizwirkung den in ihrer Struktur der Äpfelsäure nahestehenden Verbindungen nicht zukommen muss, geht aus dem negativen Verhalten von Fumarsäure, Asparagin und Asparaginsäure hervor, während Maleinsäure eine Reizwirkung ausübt³⁾.

Die zu obigen Versuchen benutzte Species wurde nicht näher bestimmt, dürfte indess eine *Adiantum*-Art gewesen sein. Übrigens besitzen die Samenfäden aller Farne wesentlich gleiche Empfindlichkeit⁴⁾.

Sphagnum acutifolium. Einige Versuche mit den Samenfäden dieses Torfmooses wurden im Jahre 1884 von dem inzwischen verstorbenen Studiosus FEHLNER angestellt. Geprüft wurde in der üblichen Weise mit Rohr-

1) Ich erhielt diese Verbindung durch Herrn Dr. SCHUCHARDT in Görlitz.

2) Vergl. BEILSTEIN, Organische Chemie. II. Aufl. Bd. I. p. 763. — Auch diese Verbindung verdanke ich Herrn Collegen WALLACH.

3) Vergl. PFEFFER l. c. p. 412.

4) PFEFFER l. c. p. 381.

zucker, Dekokt und frisch ausgepresstem Saft des obigen Moooses, mit Tragantschleim, ferner mit angeschnittenen Haaren von *Urtica dioica*. In allen Fällen konnte keine Anziehung bemerkt werden. Die Samenfäden dieses Torfmooses reagiren also nicht, wie die der Laubmoose, auf Rohrzucker und stimmen mit den Samenfäden von *Marchantia* darin überein, dass für beide bisher das specifische Reizmittel noch nicht aufgedeckt ist. Ob beide durch gleiche oder verschiedene Reizmittel in die Archegonien gelockt werden, kann nur empirisch entschieden werden.

Pollenschläuche. Bei früherer Gelegenheit¹⁾ habe ich darauf hingewiesen, wie wohl öfters Krümmungsbewegungen durch chemische Reize zu stande kommen dürften. Vermag ich nun auch zur Zeit keine exakte Untersuchung über einen Fall von Chemotropismus zu liefern, so mögen doch hier in Kürze einige Experimente mit Pollenschläuchen mitgetheilt werden, welche ich durch meinen Assistenten, Herrn Dr. GRABENDÖRFFER, im Sommer 1886 ausführen ließ.

Für viele Zwecke sind weit besser als Culturen in Zuckerlösung oder Gelatine frei in die Luft wachsende Pollenschläuche geeignet und solche gestatten z. B. auch weit mehr die Verhältnisse nachzuahmen, die in der Fruchtknotenhöhle dem zum Eimund wachsenden Pollenschlauch geboten sind. Solche Culturen erhält man mit vielen Pflanzen, indem man die mit einem kürzeren oder längeren Griffelstück abgeschnittenen Narben mit dem zugehörigen Pollen bestäubt und diese Objekte in einem vollständig dampfgesättigten Raume hält. Um letzteren zu erreichen, ist eine Feuchtkammer von mäßiger Größe unter eine mit Wasser gesperrte Glocke zu bringen und das Ganze bei sehr gleichmäßiger Temperatur zu halten. Die Pollenschläuche wuchsen dann z. B. bei *Epilobium angustifolium*, *Gentiana lutea*, *Digitalis purpurea* frei in die Luft und dieses traf ebenso zu, wenn ganze Blüten von *Helianthemum vulgare* in gleicher Weise behandelt wurden.

Solche freie Pollenschläuche erhält man auch zum Theil sehr schön, indem man die Narben z. B. der oben genannten Pflanzen bestäubt, nach dem Ankeimen in gewöhnlicher Luft den Griffel näher oder ferner unterhalb der Narbe durchschneidet und diesen abgetrennten Theil in völlig dampfgesättigten Raum bringt. Die Pollenschläuche wachsen dann aus der Schnittfläche, ohne irgend eine bemerkliche Ablenkung, in die feuchte Luft und können unter diesen Umständen eine erhebliche Länge erreichen.

Bei den sogleich mit der Aussaat in einen dampfgesättigten Raum gebrachten Objekten dringen entweder keine, oder doch nur einzelne Pollenschläuche in den Griffel ein. Deshalb kann aber von der Narbe kein einigermaßen ablenkender Reiz ausgegangen sein, denn sonst hätte eine Ablenkung

1) L. c. p. 469.

der Pollenschläuche zu stande kommen müssen, gleichviel ob die Reizung durch chemische Wirkungen, durch Contact oder durch andere Verhältnisse erzielt worden wäre. Das geradlinige Hervorwachsen der Pollenschläuche auch aus schiefer Schnittfläche des Griffels spricht ebenfalls gegen eine Reizbarkeit durch Contact. Auch an den in Gelatine cultivirten Pollenschläuchen konnte KNY¹⁾ keine Contactreizung entdecken und die in solcher Weise von GRABENDÖRFFER angestellten Versuche führten ebenfalls zu negativem Resultat.

Ein merklicher Hydrotropismus war ebenfalls nicht für die Pollenschläuche zu entdecken. Denn entsprechende Krümmungen traten nicht ein, als nach dem Erscheinen der Schläuche die Feuchtkammer einseitig geöffnet und Feuchtigkeitsdifferenzen so weit hergestellt wurden, als es ohne Schlawwerden der Schläuche möglich war²⁾. Ein Collabiren tritt aber leicht ein und verhindert, dass Pollenschläuche von der Narbe aus in Luft gewöhnlicher Dampfsättigung wachsen können. Sofern also ein im Ursprung von der Narbe abgewandter Pollenschlauch nicht durch Collabiren auf feuchtes Substrat zurücksinkt, kommt er überhaupt nicht zur Entwicklung und dieses mag, bei Mangel aller Reizwirkungen, genügen, um auch die zunächst abgewandt entstehenden Pollenschläuche nach der Narbe hin zu dirigiren und auf deren Anschmiegen hinzuarbeiten. Da gleiche Resultate auch im Dunkeln erhalten werden, spielt Heliotropismus keine Rolle, der nach KNY's (l. c.) Versuchen zudem den Pollenschläuchen abgeht. Für diese wurde auch kein Thermotropismus gefunden, auf den ich mit Rücksicht auf die oft ansehnliche Erwärmung von Blüthentheilen prüfen ließ.

Nach diesen Erfahrungen ist STRASBURGER's³⁾ Annahme von Contactreizen und chemischen Reizen als Ursachen der Lenkung des Pollenschlauches gegen den Griffel nicht zutreffend. Auch wenn, wie aus STRASBURGER's Beobachtungen zu entnehmen, beim Eindringen des Pollenschlauches in den Griffel Wechselwirkungen eine Rolle mitspielen, so folgt daraus doch nicht die Existenz von vorausgegangenen Richtungsreizen.

Ob nun zur Direktion des Pollenschlauches zum Fruchtknoten die Gestaltung des Leitgewebes ausreicht, oder ob noch andere Umstände eine Rolle spielen, ist noch nicht klar gelegt. STRASBURGER's Meinung (l. c. p. 93), der Pollenschlauch werde durch Trophotropismus nach dem Fruchtknoten gelenkt, dürfte schwerlich der Wahrheit entsprechen, und wenigstens an Zuckerarten kann die Narbe reicher sein, als das Leitungsgewebe, ohne das Vordringen des Pollenschlauches in den Griffel aufzuhalten.

Unbekannt sind auch die Ursachen, welche den Pollenschlauch zum Eimund führen. Irgend eine die Bahn bestimmende Ursache muss jedenfalls

1) Sitzungsber. d. Brandenburger Bot. Vereins. 12. Juni 1884. p. 5 des Separatabzugs.

2) Auf Grund unzureichender Versuche hat TOMASCHEK (Sitzungsber. d. Wiener Akad. Bd. 84. 1884. Abth. 1. p. 612) Hydrotropismus der Pollenschläuche vermuthet.

3) Jahrb. f. wiss. Botanik. Bd. XVII. 1886. p. 92.

vorhanden sein und die Beobachtungen, z. B. an Orchideen¹⁾, drängen unmittelbar die Überzeugung einer Lenkung des Pollenschlauches zum Eimund auf. Doch muss dieserhalb die Ursache nicht ein chemischer Reiz sein, und wenn man auch geneigt sein mag, zunächst auf einen solchen zu schließen, so darf man doch nicht vergessen, dass andere Möglichkeiten vorliegen und dass dieser vermuthliche, vom Eichen ausgehende Reiz in concreten Fällen durch die Luft, also durch gasförmige Körper, vermittelt werden muss. Jedenfalls hat auch STRASBURGER (l. c. p. 97) kein bestimmtes Argument für einen chemischen Reiz geliefert.

In feuchter Luft wuchsen die Pollenschläuche an den abgetrennt hinzugebrachten Samenknospen vorbei²⁾. Auch wurde früher³⁾ ein negatives Resultat bei Versuchen in Gelatine erhalten, die freilich, des Gehaltes an Nährstoffen halber, wenig beweisend sind. Eine besondere Neigung der Pollenschläuche, sich in Spalten zu drängen, scheint auch nicht vorhanden zu sein. Wenigstens wuchsen im feuchten Raume verschiedene Pollenschläuche ohne Ablenkung über die Wasserspalten der Blätter von *Impatiens noli tangere*, *Tropaeolum majus* und über die Spaltöffnungen im Thallus von *Lunularia vulgaris*.

Nach Versuchen mit *Gentiana lutea*, *Digitalis purpurea*, *Antirrhinum majus* u. a., in welchen die Samenknospen ganz oder theilweise, zuweilen auch nur aus einem Fache des Fruchtknotens entfernt waren, scheint die Gegenwart der Samenknospen einen Einfluss auf die Richtung der Pollenschläuche nach den Fruchtknoten hin auszuüben. Im Grunde genommen würde dieses nur die Umkehrung des Verhältnisses bei Orchideen sein, bei welchen das Eindringen des Pollenschlauches in den Griffel bekanntlich das Fortbilden der entfernt liegenden Samenknospen anregt.

Vielleicht gelingt es mir fernerhin, diese Verhältnisse klarer zu stellen. Mit einigen Vermuthungen, die mir die Erfahrungen aufdrängten, möchte ich zurückhalten, um nicht unnöthig Hypothesen auszusprechen.

XIII. Übersicht einiger Resultate.

In einem Theil der farblosen Flagellaten und der chlorophyllführenden Volvocineen, sowie in vielen locomotorischen Bacterien veranlassen verschiedene Körper chemotaktische Reize, in Folge deren diese Organismen entweder nach der concentrirteren Lösung steuern oder auch, bei genügend repulsiver Wirkung, die concentrirtere Lösung fliehen.

1) Vergl. STRASBURGER l. c. p. 97.

2) Diese Versuche mit abgetrennten Samenknospen sind wohl zu unterscheiden von Versuchen STRASBURGER'S, in denen der in die Fruchtknotenöhle gebrachte Pollen die intacten Samenknospen befruchten konnte (l. c. p. 67).

3) PFEFFER l. c. p. 470.

Die Reizbarkeit ist bei den einzelnen Arten in sehr verschiedenem Grade ausgebildet, und es finden sich alle Abstufungen von hoher Empfindlichkeit bis zu völliger Unempfindlichkeit.

Während in den Samenfäden der Farne und Moose nur ein Stoff oder ganz wenige Stoffe Chemotaxis veranlassen, sind für die genannten Organismen sehr verschiedene organische und anorganische Körper, doch in sehr ungleichem Grade, Reizmittel.

Für den ungleichen Reizwerth der Körper ergibt sich vielfach eine ähnliche Relation beim Vergleich verschiedener Organismen, doch fehlt es auch nicht an Abweichungen von dieser Regel. So gehört z. B. Dextrin mit zu den besten Reizmitteln für *Bacterium termo*, während es auf *Spirillum undula* nicht merklich chemotaktisch wirkt.

Von den untersuchten anorganischen Körpern pflegen im allgemeinen die Salze des Kaliums das beste anlockende Reizmittel zu sein. Unter den organischen Körpern kommt Pepton zumeist ein relativ hoher Reizwerth zu, während z. B. die Kohlehydrate theilweise eine nur geringe und Glycerin gar keine chemotaktische Wirkung ausübt.

Schon die Existenz wirkender und wirkungsloser organischer Körper lehrt, dass die Atome in eine Verbindung nicht etwa einen constanten Reizwerth tragen, dieser vielmehr aus den Eigenschaften des Moleküls entspringt. Dem entsprechend wird der Reizwerth der Verbindungen des Kaliums auf unsere Organismen nicht schlechthin nach dem Gehalt an diesem Metall bemessen, und die Äpfelsäure verliert in ihrer Äthylverbindung die spezifische Reizwirkung auf Samenfäden der Farne.

Ein Fliehen der Organismen, also negative Chemotaxis, ist allgemein durch Alkohol, sowie durch saure und alkalische Reaktion, ferner in vielen Fällen durch genügende Steigerung der Concentration einer Lösung erreichbar.

Hinsichtlich der negativen Chemotaxis bestehen namentlich weitgehende spezifische Unterschiede gegenüber concentrirteren Lösungen neutral reagirender Körper. Durch solche wird *Bacterium termo* nur wenig, *Spirillum undula* in hohem Grade zurückgetrieben, und zwischen diesen Extremen bewegt sich die Empfindlichkeit der anderen untersuchten Organismen.

Diese repulsive Reizwirkung ist indess nicht schlechthin eine Funktion der Concentration, d. h. der allgemein damit eintretenden physikalischen Wirkungen, vielmehr von der Qualität des Körpers abhängig. Es geht dieses z. B. daraus hervor, dass empfindlichere Organismen durch neutrale Metallsalze schon bei mäßiger Concentration, durch Glycerin aber bei keiner Concentration der Lösung zu negativer chemotaktischer Bewegung veranlasst werden.

Die verschiedenen Arten werden auch in ungleichem Grade durch Alkohol, sowie durch freie Säuren und Alkalien zum Fliehen gereizt. Eine

solche negative Chemotaxis ist auch, wie z. B. die genannten Körper lehren, möglich, ohne dass in irgend einer Concentration eine Attraktion zu stande kommt. Auch ist mit starker positiver Reizwirkung bei steigender Concentration nicht nothwendig eine besonders starke Repulsion verknüpft.

Durch Zugabe von Alkohol, Säure oder Alkali zu einem gut anlockenden Reizmittel kann die positive Wirkung dieses ganz oder theilweise eliminiert werden. Ebenso treten mit zunehmender Concentration eines Stoffes häufig Attraktion und Repulsion in Antagonismus.

Des letzterwähnten Antagonismus halber wird die zu Tage tretende Attraktion gering werden oder auch ganz unterbleiben können, wenn die positive Reizwirkung erst in einer Concentration merklich werden würde, in welcher bereits die mit der Concentration zunehmende repulsive Wirkung sehr ansehnlich ist oder dominirt. Ein solcher Erfolg ist, insbesondere bei repulsiv empfindlicheren Organismen, sowohl möglich bei Verwendung eines schlechteren Reizmittels als auch bei Verwendung eines weniger reizbaren Organismus, der zur Anwendung dichter Lösungen zwingt.

Die positiv chemotaktische Reizbarkeit ist offenbar für unsere Organismen vortheilhaft, um sie zu guten Nährmitteln zu führen, resp. in deren Nähe festzuhalten. Die repulsive Reizwirkung veranlasst öfters ein Meiden schädlicher Medien. Doch kommt diesen Organismen keineswegs die Fähigkeit zu, alle schädlichen Stoffe zu fliehen.

Der Reizwerth eines Körpers steht aber in keiner bestimmten Beziehung zu dessen Nährwerth, und Glycerin ist z. B. auch für diejenigen Bacterien kein Reizmittel, für welche es eine gute Nahrung abgiebt. Aus toten Organismen diffundiren aber immer Stoffe, denen chemotaktische Reizfähigkeit zukommt.

Von den besten Reizmitteln genügt zu merklicher Anlockung schon eine minimale Menge. Gemische wirken, so weit bekannt, nach Maßgabe des Reizwerthes ihrer Componenten.

So lange repulsive Wirkungen nicht störend eingreifen, gelten die im WEBER'schen Gesetz ausgedrückten Beziehungen zwischen Reiz und Empfindung auch für unsere Organismen. Es muss also der Reiz zu der Reizgröße, zu welcher er hinzukommt, immer in demselben Verhältnis stehen, und zur Erzielung des Schwellenwerthes fällt demgemäß die absolute Differenz in dem Stoffgehalt der Capillarflüssigkeit und der Außenflüssigkeit um so ansehnlicher aus, je reicher letztere an Reizmittel wird. Hieraus ist zu entnehmen, dass in homogener Vertheilung ein Reizmittel zwar nicht richtend wirkt, wohl aber die Reizempfänglichkeit des Organismus beeinflusst.

Zur Erzielung chemotaktischer Reizung bedarf es ungleicher Vertheilung des Reizmittels um den Körper, wie solche durch Diffusion hergestellt wird. Die Auslösung hängt indess nicht von der Diffusionsbewegung als solcher ab, sondern von der specifischen Wirkung des diffundirenden

Körpers. Demgemäß bringen nicht alle diffundirenden Stoffe chemotaktische Reizung hervor und gute wie schlechte Reizmittel finden sich sowohl unter Krystalloiden als Colloiden.

Ein uns gleichsinnig erscheinender Reaktionserfolg fordert keine völlige Identität im Akte der Perception des Reizes oder in der Gesamtheit der sich an die Auslösung anschließenden Prozesse. Irgend eine solche Differenz dürfte in der That zwischen der Reizung durch Sauerstoff und durch andere chemische Stoffe bestehen, da unsere Organismen durch beide Reizmittel, die Infusorien aber nur durch Sauerstoff angelockt werden.

Die Reizung in der Diffusionszone veranlasst eine bestimmte Richtung der Körperachse und erreicht damit, dass der Organismus mittelst seiner üblichen Bewegungsthätigkeit gegen das Reizmittel oder, bei Repulsion, von diesem hinweg steuert. Es geschieht dieses ohne Steigerung der Bewegungsschnelligkeit, die indess, unabhängig von der chemotaktischen Reizung, erhöht werden kann, wenn dem partiell trophotischen Organismus mit dem Reizmittel zugleich geeignetes Nährmaterial zugeführt wird.

Die Körperwendungen in chemotaktischen Reizungen werden durch die üblichen Bewegungsmittel ausgeführt, und eine Veränderung der Körperform wirkt selbst bei denjenigen Organismen nicht mit, welche zur Metabolie befähigt sind.

Die chemotaktische Reizung lässt sich in vortheilhafter Weise zum Einfangen entsprechend empfindlicher Organismen und öfters auch zu einer partiellen Separation verschiedener Arten verwenden. Auch können chemotaktisch empfindliche Organismen als Reagentien, z. B. zum Nachweis der Ausscheidung von Reizmitteln benutzt werden.

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
I. Einleitung	582
II. Methodisches	584
III. Die benutzten Organismen	589
IV. Versuche mit <i>Bacterium termo</i> , <i>Spirillum undula</i> und <i>Bodo saltans</i>	598
V. Versuche mit anderen Organismen	612
VI. Mangel an Chemotaxis und verschiedene Ursachen der Ansammlung.	617
VII. Repulsionswirkungen	621
VIII. Die Reizschwelle und die Wirkung von Gemischen	628
IX. Verhältnis von Reiz- und Reaktionsgröße	633
X. Modus der Ansammlung und praktische Verwendung des Einfangens	639
XI. Allgemeines	644
XII. Anhang. Beobachtungen an Samenfäden und Pollenschläuchen	654
XIII. Übersicht einiger Resultate	658



Fig. 1.

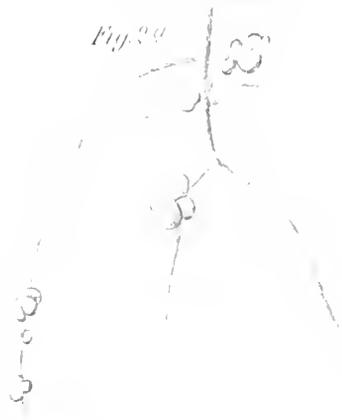


Fig. 2^a

Fig. 5.



Fig. 4

Fig. 7.

Fig. 3.

m
B
C
b
g B

B



Fig. 10^b

Fig. 10^a



Fig. 6.

a.

b.

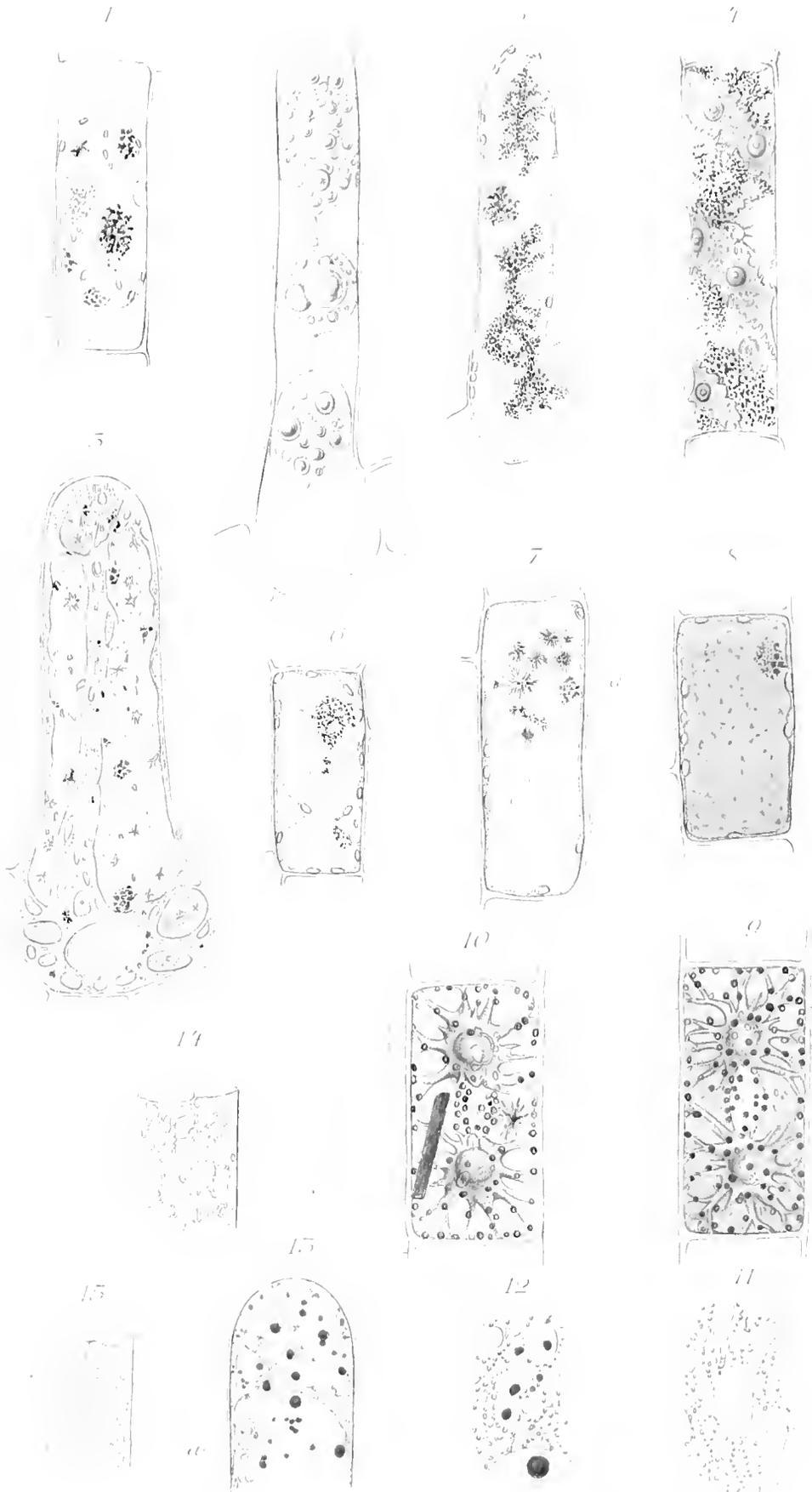
Fig. 8.

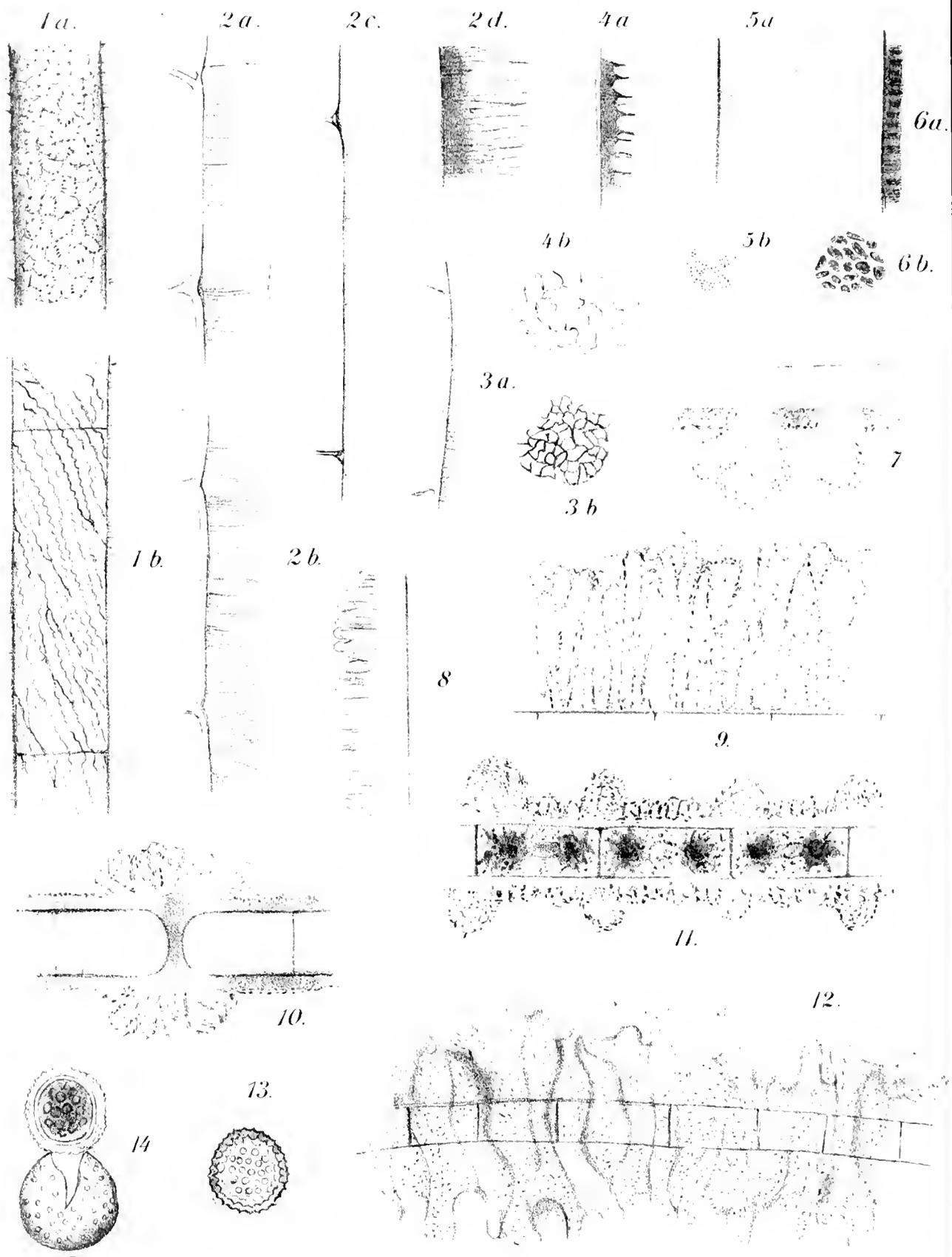
Fig. 9.

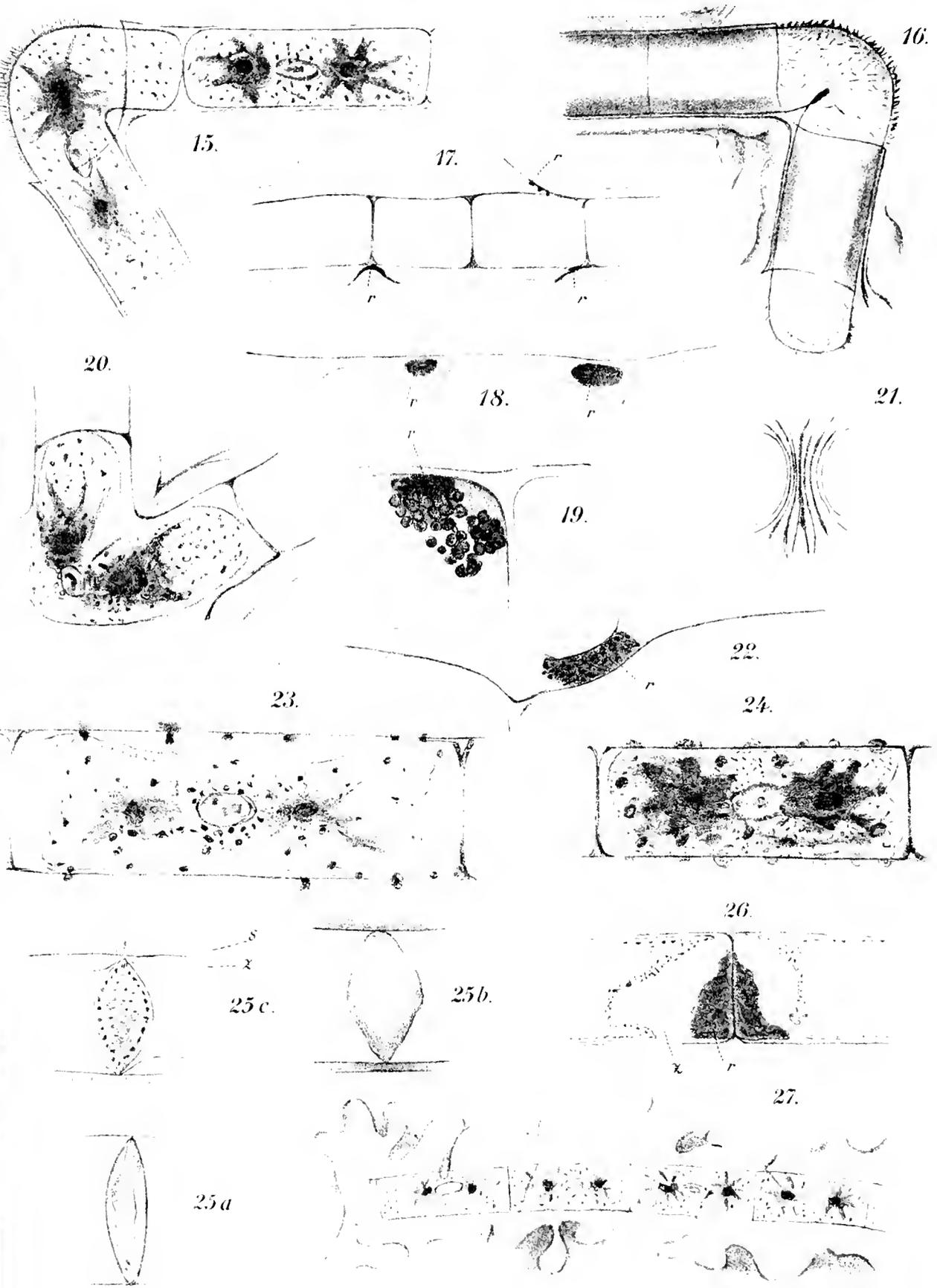
Fig. 11.

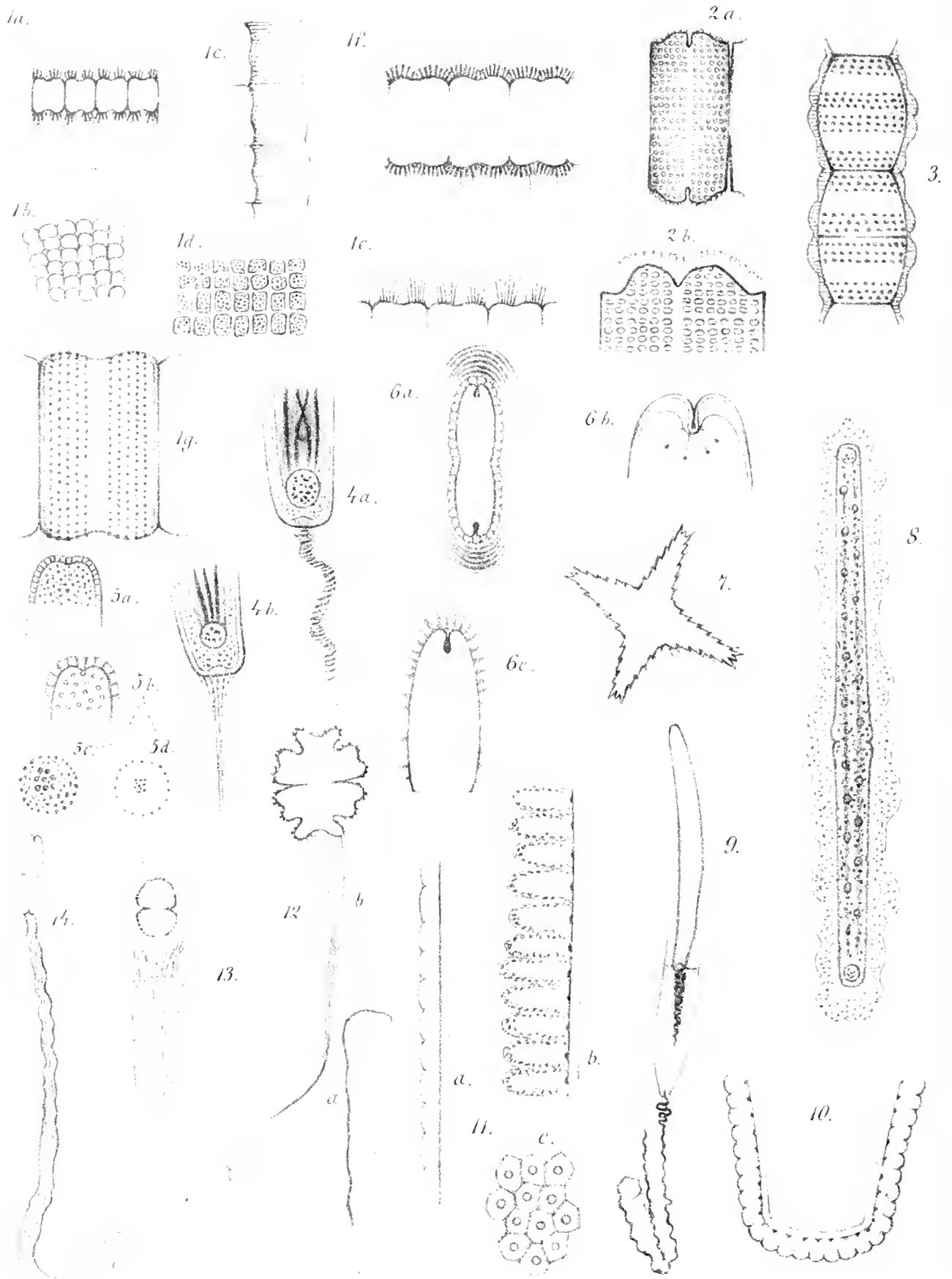
Fig. 12^a

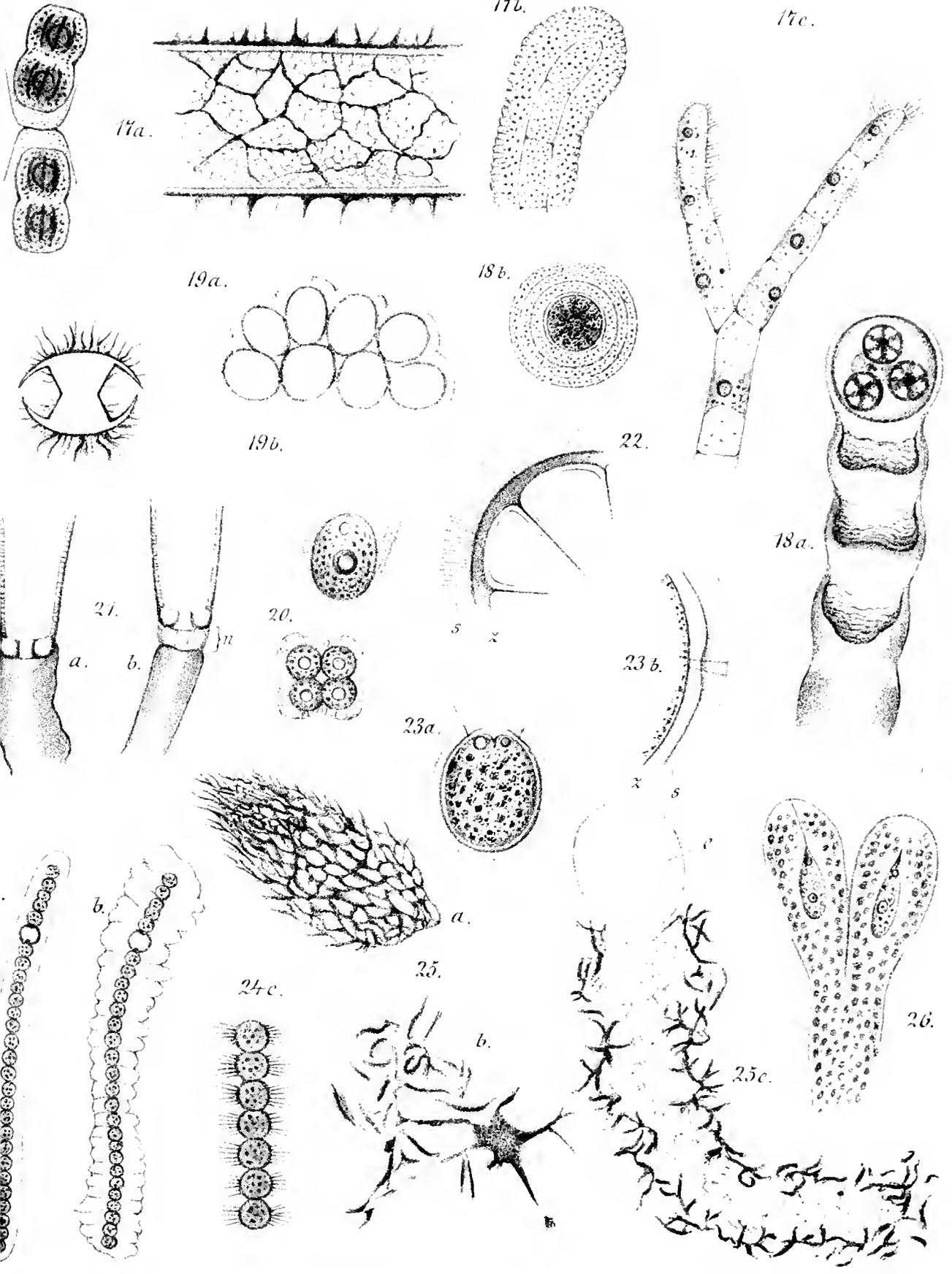
Fig. 12^b

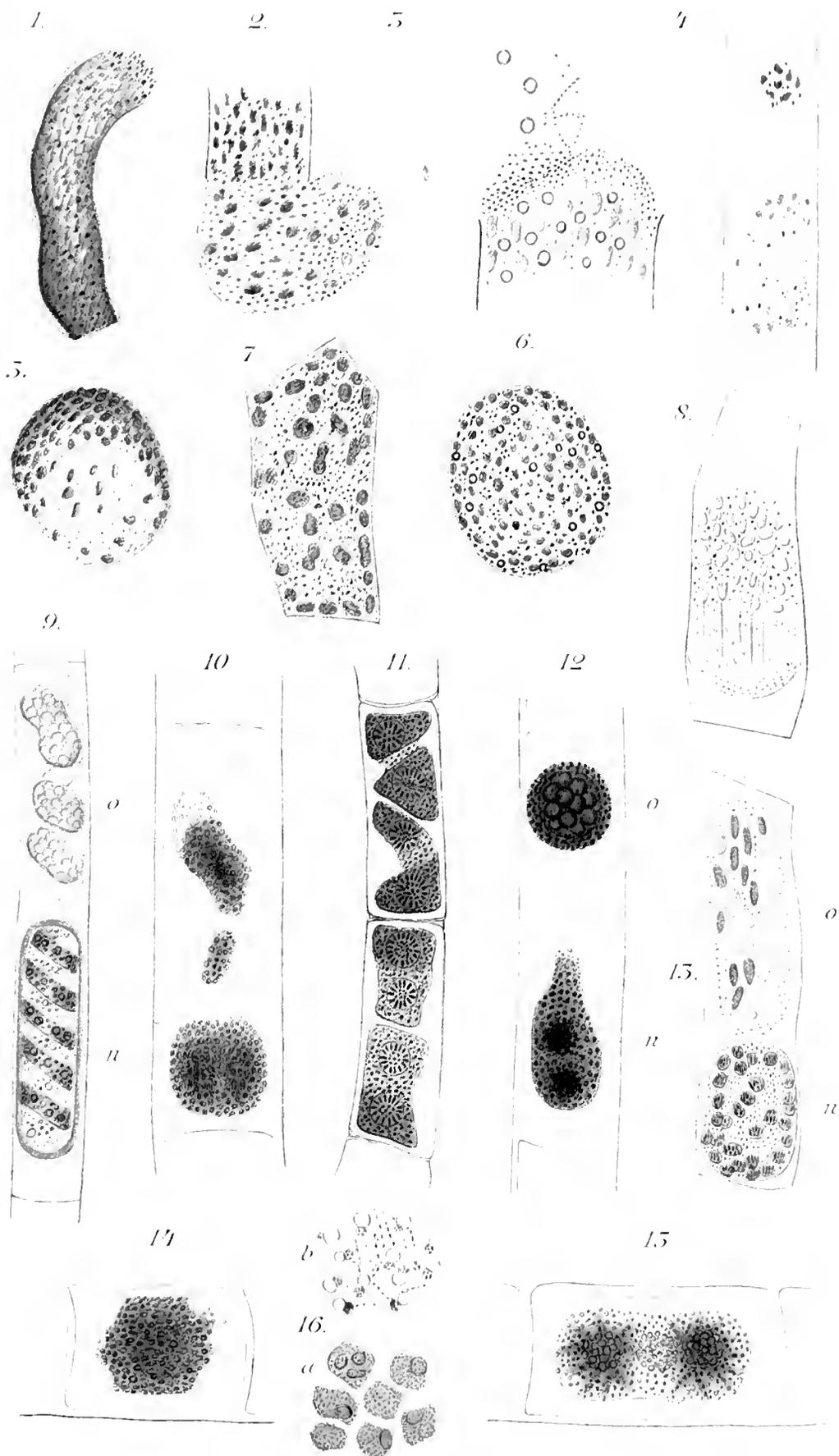


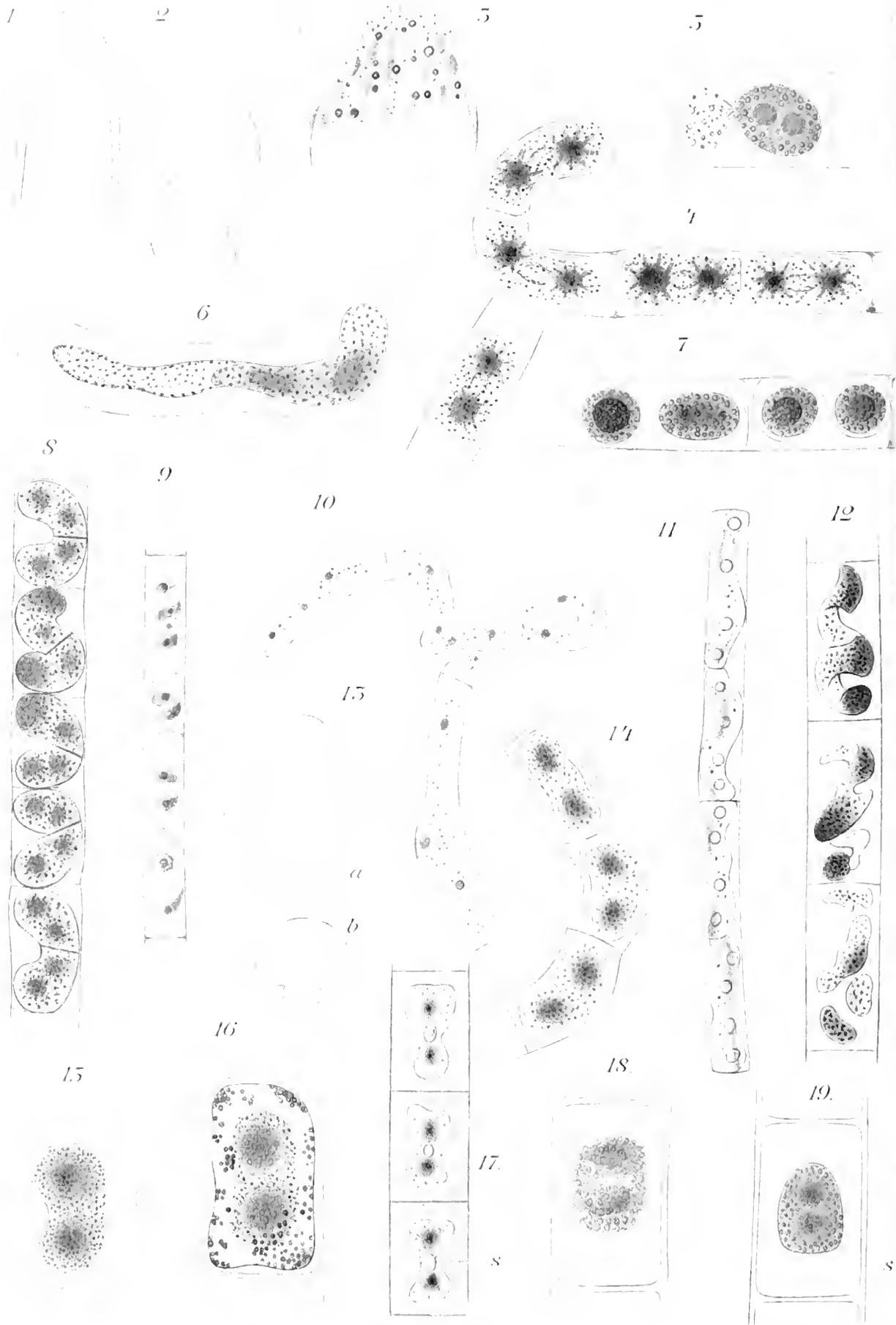






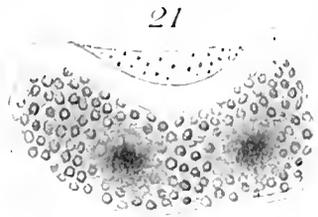








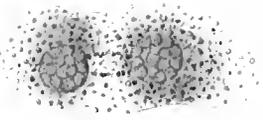
23.



21.



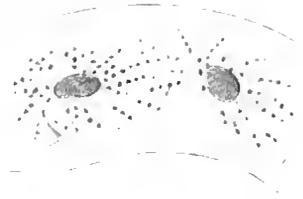
22.



24.



25.



26.



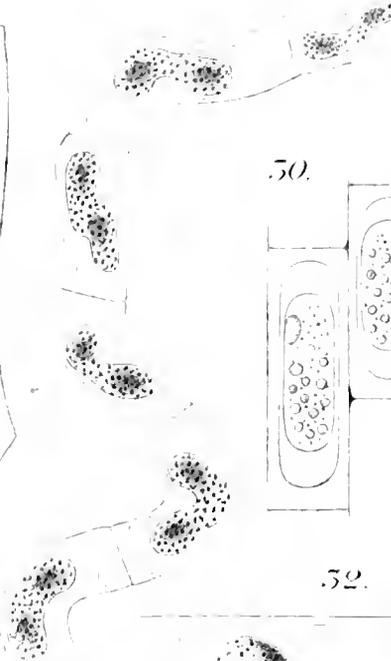
o

n

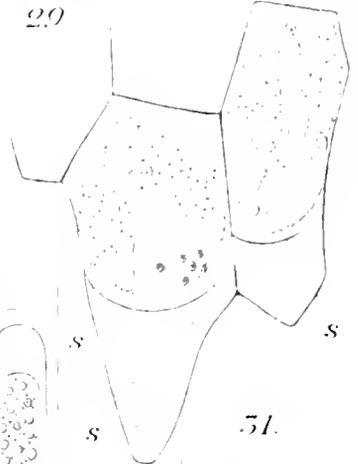
27.



28.



29.



s

s

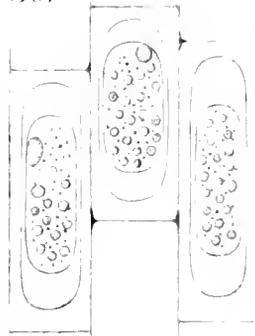
s

s

s

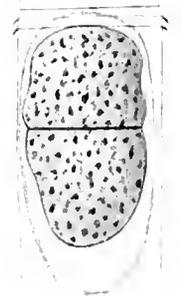
30.

31.



s

32.

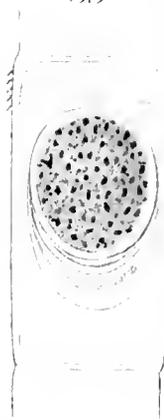


33.

34.



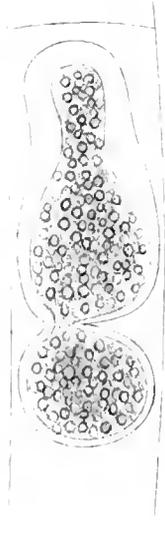
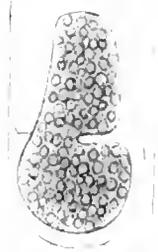
35.



36.



37.





New York Botanical Garden Library



3 5185 00258 2607

