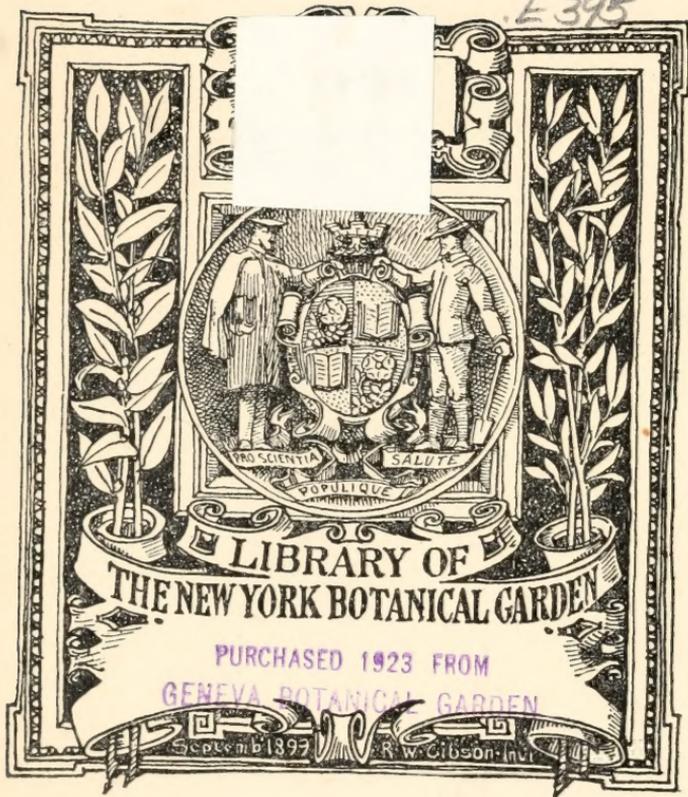




x B  
E 395



CONSERVATOIRE  
BOTANIQUE

— — — — —  
VILLE de GENÈVE

DUPLICATA DE LA BIBLIOTHÈQUE  
DU CONSERVATOIRE BOTANIQUE DE GENÈVE  
VENDU EN 1922



# Beiträge

zur

# Biologie der Pflanzen.

Herausgegeben

von

Dr. Ferdinand Cohn.

**Fünfter Band.**

Mit achtzehn Tafeln.

LIBRARY  
NEW YORK  
BOTANICAL  
GARDEN

CONSERVATOIRE  
BOTANIQUE  
VILLE de GENÈVE

Breslau 1892.

J. U. Kern's Verlag  
(Max Müller).

DUPLICATA DE LA BIBLIOTHÈQUE  
DU CONSEIL VAUDOIS DES SCIENCES DE GENEVE  
VERDU EN 1922

E 395

v. 5

1887-92

## Inhalt des fünften Bandes.

	Heft. Seite.
Die morphologische und chemische Zusammensetzung des Proto- plasmas. Von Dr. Frank Schwarz. (Mit Tafel I—VIII)..	I. 1
Untersuchungen über Bacterien. XII. Untersuchungen über die Malaria in Pola. Von Dr. Bernardo Schiavuzzi in Pola. (Mit Tafel IX.) .....	II. 245
Die Entwicklung der Sporangien bei den Saprolegnieen. Ein Beitrag zur Kenntniss der freien Zellbildung. Von W. Rothert in Strassburg i. Els. (Mit Tafel X.) .....	II. 291
Ueber <i>Dicranochaete reniformis</i> Hieron., eine neue <i>Protococcacea</i> des Süsswassers. Von G. Hieronymus. Mit Tafel XI. und XII.) .....	II. 351
Die Nutation der Blütenstiele der Papaver-Arten und der Spross- enden von <i>Ampelopsis quinquefolia</i> Michx. Von Dr. Max Scholtz. (Mit Tafel XIII und XIV.) .....	III. 373
Ueber den radialen Saftstrom in den Wurzeln. Von Dr. Paul Siedler. (Mit Tafel XV.) .....	III. 407
Beiträge zur Kenntniss der Pflanzenzellen. I. Ueber tinctionelle Differenzen verschiedener Kernbestandtheile und der Sexualkerne. Von F. Rosen. (Mit Tafel XVI.) .....	III. 443
Beiträge zur Morphologie und Biologie der Algen. I. <i>Glaucoecystis</i> <i>Nostochinearum</i> Itzigsohn. II. Die Organisation der Phycochro- maceenzellen. Von G. Hieronymus. (Mit Tafel XVII und XVIII.) .....	III. 461

## Register zum fünften Bande.

	Heft. Seite.
<b>Hieronymus, Prof. Dr. G.,</b> Ueber <i>Dicranochaete reniformis</i> Hieron., eine neue <i>Protococcacea</i> des Süßwassers. (Mit Tafel XI u. XII.)	II. 351
— Beiträge zur Morphologie und Biologie der Algen. I. <i>Glauco-cystis</i> Nostochinearum Itzigsohn. II. Die Organisation der Phycochromaceenzellen. (Mit Tafel XVII u. XVIII.)	III. 461
<b>Rosen, Dr. F.,</b> Beiträge zur Kenntniss der Pflanzenzellen. I. Ueber tinctionelle Differenzen verschiedener Kernbestandtheile und der Sexualkerne. (Mit Tafel XVI.)	III. 443
<b>Rothert, W.,</b> in Strassburg. Die Entwicklung der Sporangien bei den <i>Saprolegnieen</i> . Ein Beitrag zur Kenntniss der freien Zellbildung. (Mit Tafel X.)	II. 291
<b>Schiavuzzi, Dr. Bernardo,</b> in Pola. Untersuchungen über Bacterien. XII. Untersuchungen über die Malaria in Pola. (Mit Tafel IX.)	II. 245
<b>Scholtz, Dr. Max,</b> in Karlsruhe i. B., Die Nutation der Blüthenstiele der Papaver-Arten und der Sprossenden von <i>Ampelopsis quinquefolia</i> Michx. (Mit Tafel XIII und XIV.)	III. 373
<b>Schwarz, Dr. Frank,</b> Die morphologische und chemische Zusammensetzung des Protoplasmas. (Mit Tafel I bis VIII.)	I. 1
<b>Siedler, Dr. Paul,</b> in Berlin. Ueber den radialen Saftstrom in den Wurzeln. (Mit Tafel XV.)	III. 407

# Beiträge

zur

# Biologie der Pflanzen.

---

Herausgegeben

von

Dr. Ferdinand Cohn.

---

Fünfter Band. Erstes Heft.

Mit acht Tafeln.

---

Breslau 1887.

J. U. Kern's Verlag  
(Max Müller).



## Inhalt von Band V, Heft I.

Die morphologische und chemische Zusammensetzung des Protoplasmas. Von  
**Dr. Frank Schwarz.** (Mit Tafel I—VIII).



UNIVERSITY  
NEW YORK  
BOTANICAL GARDEN  
GRASS

# Die morphologische und chemische Zusammensetzung des Protoplasmas.

Von  
**Dr. Frank Schwarz.**

Hierzu Tafel I—VIII.

## Vorwort.

Die Untersuchung des Protoplasmas gehört zu jenen Fragen, die immer wieder aufs Neue in Angriff genommen werden müssen, will man die an Organismus auftretenden Erscheinungen weiter verfolgen. Soll eine derartige Untersuchung allgemeineres Interesse erwecken, so wird es nothwendig sein neue Methoden und Gesichtspunkte zu finden, welche systematisch durchgeführt zur Controlle der auf anderem Wege gefundenen Thatsachen dienen.

In der vorliegenden Abhandlung habe ich den Versuch gemacht, vorzüglich die chemische Zusammensetzung des Protoplasmas aus verschiedenen Proteinkörpern nachzuweisen, um unter Berücksichtigung der chemischen Eigenschaften die feinere Struktur des Protoplasmas einer genauen Untersuchung und Prüfung zu unterwerfen. Meine Arbeit liefert den Beweis für die Brauchbarkeit der von mir angewendeten Methode und wenn sich meine Angaben auch nur auf Pflanzenzellen beziehen, so glaube ich doch, dass dieselben ebenso Zoologen und Anatomen nützlich sein werden, sobald es sich um die Entwicklung und Beschaffenheit des Zellinhaltes, um Kerntheilungs- und Zellbildungsfragen handelt. Die durch solche Untersuchungen angebahnte genauere Kenntniss des Protoplasmas ist ferner nothwendig, wenn wir versuchen physiologische Erscheinungen, wie Fortpflanzungs- und Stoffwanderungsprozesse oder gewisse Reizerscheinungen, soweit dies möglich ist, auf unmittelbar wahrnehmbare Vorgänge in der einzelnen Zelle zurückzuführen. Da es bei derartigen Fragen von Vortheil sein musste, eine allgemeinere Uebersicht der Eigenschaften und Reactionen der Proteinkörper zu besitzen, andererseits in den neueren Handbüchern der Botanik und Zoologie eine derartige genauere Uebersicht fehlt, habe ich mich entschlossen, meinen eigenen Beobachtungen eine Zusammenstellung des bisher in dieser Richtung Bekannten (§ 38) beizufügen.

AUG 7 - 1923

Wenn nun auch gerade dieser Theil für den physiologischen Chemiker weniger Neues enthält, so glaube ich doch, dass meine Arbeit auch für den Chemiker einiges Interesse bietet, indem durch die vorliegende Abhandlung die in der Pflanze vorkommenden Proteinkörper näher charakterisirt werden, eine Trennung und Bestimmung derselben in der Zelle ermöglicht wird. Ein Extrahiren von Stoffen ohne Rücksicht darauf, ob analoge Substanzen ursprünglich schon vorhanden sind, führt zur Untersuchung von Stoffgemischen, die für die Beurtheilung der Vorgänge in der lebenden Zelle zumeist nicht verwendbar sein werden, während man unter Berücksichtigung des mikroskopischen Befundes zur Kenntniss, ich möchte sagen, natürlicher Proteinkörper gelangen wird.

Ich wende mich also mit dieser Arbeit nicht nur an die Botaniker, für welche sie speciell bestimmt ist, sondern auch an die übrigen Biologen und Physiologen, sowie an die physiologischen Chemiker.

Die vorliegenden Untersuchungen, welche ich im Frühjahr 1886 abgeschlossen habe, wurden zumeist im pflanzenphysiologischen Institut der Universität Breslau vorgenommen, dessen Hilfsmittel mir Herr Professor Dr. F. Cohn in der liberalsten Weise zur Verfügung stellte. Ich ergreife die Gelegenheit Herrn Professor Dr. F. Cohn für die mir zu Theil gewordene Unterstützung an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Breslau, Februar 1887.

**Dr. F. Schwarz,**  
Privatdocent der Botanik an der  
Universität Breslau.

# Inhaltsverzeichniss.

Einleitung .....	1
<b>Kapitel I. Die alkalische und saure Reaction des Zellinhaltes.</b>	
§ 1. Bedeutung der Reaction von Protoplasma und Zellsaft .....	12
§ 2. Reaction des Zellsaftes .....	13
§ 3. Methoden die alkalische Reaction des Protoplasmas nachzuweisen. Eigenschaften des im Braunkohl vorkommenden Farbstoffes .....	17
§ 4. Ergebnisse der Untersuchung über die Reaction des Protoplasmas .....	20
§ 5. Der Alkaligehalt des Protoplasmas und die Aschenanalysen .....	26
§ 6. Durch welche Verbindung wird die alkalische Reaction des Protoplasmas hervorgerufen .....	32
<b>Kapitel II. Chlorophyllkörper.</b>	
§ 7. Ansichten über die Struktur der Chlorophyllkörper. Eigene Auffassung .....	38
§ 8. Einwirkung von Wasser auf die Chlorophyllkörper .....	43
§ 9. Einwirkung von Zuckerlösung und Eiweiss auf die Chlorophyllkörper ...	51
§ 10. Einwirkung von Neutralsalzen verschiedener Concentration auf die Chlorophyllkörper .....	55
§ 11. Einwirkung von phosphorsauren Alkalien, Kalkwasser und freiem Alkali auf die Chlorophyllkörper .....	58
§ 12. Einwirkung von freien Säuren auf die Chlorophyllkörper .....	63
§ 13. Einwirkung einzelner Metallverbindungen auf die Chlorophyllkörper .....	71
§ 14. Einwirkung von Verdauungsfermenten auf die Chlorophyllkörper .....	72
§ 15. Hinweis auf die Methoden zur Sichtbarmachung der Struktur in den Chlorophyllkörpern .....	74
<b>Kapitel III. Zellkerne.</b>	
§ 16. Die morphologische und chemische Untersuchung des Zellkerns .....	76
§ 17. Die Beschaffenheit des Zellkerns unter verschiedenen Bedingungen .....	80
§ 18. Einwirkung von Wasser auf die Zellkerne .....	87
§ 19. Auswahl der Objecte zu den übrigen Reactionen .....	99
§ 20. Einwirkung von Neutralsalzen verschiedener Concentration auf die Zellkerne .....	100
§ 21. Einwirkung von phosphorsauren Alkalien, Kalkwasser und freiem Alkali auf die Zellkerne .....	105
§ 22. Einwirkung von freien Säuren auf die Zellkerne .....	109
§ 23. Einwirkung einiger Metallverbindungen auf die Zellkerne .....	115
§ 24. Einwirkung von Verdauungsfermenten auf die Zellkerne .....	117
§ 25. Hinweis auf die Methoden zur Sichtbarmachung der Strukturelemente in den Zellkernen .....	122

**Kapitel IV. Cytoplasma.**

	pag.
§ 26. Die Ergebnisse der bisherigen Untersuchungen des Cytoplasmas in chemischer Beziehung .....	124
§ 27. Die Struktur des Cytoplasmas .....	129
§ 28. Fällungsercheinungen und künstliche Strukturen .....	140
§ 29. Vaeuolenbildung und Entmischung.....	154
§ 30. Einwirkung von Wasser auf das Cytoplasma .....	160
§ 31. Einwirkung von Neutralsalzen verschiedener Concentration auf das Cytoplasma .....	170
§ 32. Einwirkung von phosphorsauren Alkalien, Kalkwasser und freiem Alkali auf das Cytoplasma.....	173
§ 33. Einwirkung von freien Säuren auf das Cytoplasma .....	176
§ 34. Einwirkung einzelner Metallverbindungen auf das Cytoplasma .....	178
§ 35. Einwirkung von Verdauungsfermenten auf das Cytoplasma .....	180

**Kapitel V. Die Reactionen und Eigenschaften der Proteinstoffe.**

§ 36. Eigenschaften und Vergleich der in den Pflanzen gefundenen Proteinstoffe	182
§ 37. Die den Proteinstoffen gemeinsamen Reactionen .....	190
§ 38. Eigenschaften und Unterscheidung der bisher auf macrochemischen Wege isolirten Proteinstoffe .....	194
Albumin .....	196
Vitellin .....	202
Myosin .....	206
Fibrin .....	208
Mucin .....	210
Coagulirte Albuminstoffe.....	210
Amyloid .....	211
Acidalbumin (Syntonin).....	211
Alkalbuminat .....	215
Casein .....	217
Albumose (Hemialbumose Hoppe-Seylers).....	219
Pepton .....	222
Nucleine .....	225
Die von Ritthausen dargestellten Eiweisskörper .....	229
§ 39. Vergleich der von mir gefundenen Proteinstoffe mit den macrochemisch dargestellten Substanzen.....	231
<b>Figurenerklärung .....</b>	<b>236</b>



## Einleitung.

Das Protoplasma der Pflanzenzellen — nur um diese handelt es sich bei der folgenden Untersuchung — ist ein höchst complicirter, mit den mannigfaltigsten Funktionen ausgestatteter Organismus. Eine chemische Untersuchung desselben ohne Rücksicht auf diese Zusammensetzung aus verschiedenen, speciell den morphologischen Elementen hat ungefähr denselben Werth als ob wir — um einen drastischen Vergleich zu gebrauchen — ein Kaninchen oder einen Hund mit all seinen Organen und Bestandtheilen auf seine chemischen Stoffe und Verbindungen untersuchen würden. Ich will damit sagen, dass wir vor Allem auf die morphologische Differenzirung des Protoplasmas Rücksicht zu nehmen haben, sollen die auf chemischem Wege erhaltenen Resultate für die Physiologie verwertbar sein. Die Frage nach der chemischen Zusammensetzung des Protoplasmas ist nicht zu trennen von der Frage nach der morphologischen Zusammensetzung desselben.

Wir fassen die besonders gestalteten Körper der Pflanzenzelle, wie die Kerne, Chlorophyllkörper, Stärkebildner, Farbstoffbildner, Aleuronkörner, als einzelne Organe auf, welche ebenso wie der übrige Theil des Protoplasmas, das Cytoplasma (nach dem von Strasburger dafür vorgeschlagenen Ausdrucke) bestimmte aber verschiedene Funktionen haben. Die Verschiedenheit der Funktion bedingt eine dementsprechende mannigfaltige chemische Zusammensetzung.

Wenn nun auch alle diese einzelnen Bestandtheile und Organe der Zelle eine der morphologischen analoge chemische Differenzirung aufweisen, so zeichnen sie sich dennoch durch eine hinreichende Menge von gemeinsamen chemischen und physikalischen Merkmalen aus, welche es rechtfertigen, alle diese Gebilde mit einem Namen zusammenzufassen, und welcher Ausdruck wäre natürlicher als der Name Protoplasma.

Von Flemming, einer unserer ersten Autoritäten auf diesem Gebiete, ist für die Beseitigung des Begriffes und Wortes Protoplasma plaidirt worden. Ich glaube jedoch, die Zellphysiologie kann schon aus rein praktischen Gründen einen Ausdruck für den gesammten aktiven Theil des Zellinhaltes nicht entbehren, es wäre dies nur dann möglich, wenn wir alle einzelnen, sich in der

Zelle abspielenden Prozesse auf den Kern, die Chlorophyllkörper etc. und die übrige Zellsubstanz localisiren könnten. Dies ist bis jetzt nicht der Fall.

Ich kann mich in dieser Beziehung auch auf Sachs<sup>1)</sup> berufen, welcher den Kern und somit auch die übrigen Gebilde der Zelle als einen Theil des Protoplasmas bezeichnet. Ebenso hält Strasburger<sup>2)</sup> und Pfeffer an der Bezeichnung Protoplasma fest.

Alle Einlagerungen, welche nur vorübergehend in der Zelle vorkommen, alle Producte, welche durch die Thätigkeit des lebenden Protoplasmas entstehen, wird man von diesem trennen müssen, gleichgiltig, ob dieses unlösliche, geformte Gebilde oder ob es gelöste Stoffe sind. Diese Trennung von dem Producirenden und seinen Producten hat schon bei Hanstein einen bestimmten Ausdruck gefunden, welcher das Protoplasma von dem Metaplasma schied. Ich acceptire diese Trennung, nur kann ich keinen Unterschied machen z. B. zwischen der unlöslichen Stärke und dem in Lösung übergegangenem Zucker, wenn sich der eine Stoff auch im Protoplasma, der andere im Zellsaft befindet. Demnach ist der Zellsaft nicht mit in den Begriff des Protoplasmas aufzunehmen. Unter Protoplasma verstehe ich nur den activ thätigen, producirenden Theil des Zellinhaltes, welcher sich durch bestimmte physikalische und chemische Eigenschaften auszeichnet.

Selbstverständlich ist es, dass ich den Ausdruck Protoplasma nicht auf jenen Theil beschränke, der nach Abzug aller besonders geformten Gebilde übrig bleibt, auf das Cytoplasma. Ich erwähne dies, um Verwechslungen vorzubeugen, da von einigen Forschern der Ausdruck Protoplasma in demselben Sinne gebraucht ist, wie ich Cytoplasma angewendet habe.

Was die morphologische Differenzirung des Protoplasmas anbelangt, so sind unsere Kenntnisse speciell durch die Forschungen des letzten Jahrzehnts sehr wesentlich gefördert worden. Man begnügte sich nicht damit, die einzelnen Zellorgane zu unterscheiden, man drang weiter vor und richtete sein besonderes Augenmerk auf den feinsten Bau aller Gebilde, man zerlegte die einzelnen Theile in ihre fädigen, körnigen oder homogenen Strukturelemente. Trotz der eingehendsten Studien ist man jedoch noch nicht zu vollständig einwandfreien Resultaten gelangt. Relativ am besten begründet sind die Ansichten über den Bau des Zellkernes, dagegen muss man zugeben, dass die Frage nach der Struktur des Cytoplasmas noch keineswegs erledigt ist. Hat das letztere wirklich einen fibrillärgerüstförmigen Bau, oder sind die an fixirten Objecten zu Tage tretenden Erscheinungen erst durch die angewendeten Fixirungs- und Fällungsflüssigkeiten hervorgerufen? Je nach der Meinung, welche man von solch fixirtem Material besass, wurde diese Frage in verschiedener Weise beantwortet. Aehnlich stehen die Sachen bei den Chlorophyllkörpern.

Bei dieser Unsicherheit mancher Resultate war es mir demnach nicht

1) Vorlesungen über Pflanzenphysiologie. 1882. p. 94.

2) Ueber den Theilungsvorgang der Zellkerne und das Verhältniss der Kerntheilung zur Zelltheilung. 1882. p. 4.

möglich, mich auf den ursprünglichen Zweck meiner Arbeit, die chemische Untersuchung des Protoplasmas zu beschränken, ich musste vielmehr die verschiedenen Ansichten selbst prüfen. Es ist dies zum Theil mit Heranziehung neuer Methoden geschehen, ohne dass ich es jedoch versäumt hätte, die auf anderem Wege gewonnenen Resultate mit den meinigen zu vergleichen.

Was die Untersuchung der chemischen Differenzirung des Protoplasmas anbelangt, so leidet diese unter der Einseitigkeit der bisherigen Methoden. Man weiss wohl, dass das Protoplasma zum wesentlichen aus Proteinstoffen besteht, dass auch noch andere Stoffe darin vorkommen, man nimmt fernerhin an, dass die einzelnen Strukturelemente desselben chemisch verschieden sind, aber für diese chemischen Differenzen hat man nur wenige und nicht ausreichende Anhaltspunkte und Reactionen.

In erster Linie war das Verhalten des fixirten, d. h. gefällten Zellinhaltes gegen Farbstoffe für die meisten Mikroskopiker maassgebend. Die verschiedene Fähigkeit, Farbstoffe fest zu halten, kann man nicht als eine unbedingt entscheidende chemische Reaction ansehen. Die verschiedene dichte Lagerung desselben Stoffes, oder die Imprägnirung eines Strukturtheils mit einer als Beize wirkenden Substanz kann sehr wesentliche Differenzen der Tinctionsfähigkeit hervorrufen. Auch die Einlagerung eines indifferenten Stoffes scheint mir unter Umständen das Färbevermögen wesentlich beeinflussen zu können. So zog z. B. ein Stückchen Gelatinegallerte Anilinfarbstoff nur wenig an, dagegen färbte sich dieselbe sehr lebhaft, wenn in der Gelatine Zucker aufgelöst war. Die Hoffnung, dass sich neue Farbstoffe finden werden, welche andere feinere Strukturelemente, als die bisher stark färbbaren, ausschliesslich färben, ist nach meiner Ansicht eine geringe, indem sich im Grossen und Ganzen die relativen Unterschiede in der Tinctionsfähigkeit der einzelnen Strukturelemente des Protoplasmas für alle Farbstoffe gleich bleiben. So glaube ich, wird es z. B. nicht gelingen, die wenig farbstoffspeichernden Chlorophyllkörper zu färben, ohne dass der Zellkern noch stärker färbt wird. Es wäre dies möglich, wenn die einzelnen Plasmastoffe mit bestimmten Farben chemische Verbindungen eingehen würden, dann könnten die Stoffe des Chlorophyllkörpers andere Farben chemisch binden als die Kernstoffe. Bei den bisher angewendeten Färbungsmethoden handelt es sich aber hauptsächlich nur um eine physikalische Zwischen- oder Anlagerung von Farbstofftheilchen und diese wird durch andere Faktoren in in einer Weise bestimmt, dass die chemische Differenz zwischen den verschiedenen Plasmastoffen in den Hintergrund treten muss.

Ich will nicht unterlassen zu bemerken, dass die Theoretiker der Färberei zu industriellen Zwecken, die, wenn es erlaubt ist vom Grossen ins Kleine zu schliessen, auch hier gehört werden müssen, das Färben überhaupt als eine Erscheinung der Flächenanziehung auffassen, die auch bei der Gasabsorption durch Holzkohle, der Entfärbung durch Knochenkohle, der Absorption von Salzen durch den Erdboden wirksam sei und um so stärker auftrete, je entwickelter die Oberfläche für einen bestimmten Cubikinhalt

sich darstelle. Deshalb färbt sich die stärker quellbare Seide und Wolle<sup>1)</sup> leichter als die Flachsfasern, deshalb wirken die colloidalen Oxyde des Aluminiums, Eisens, Chroms und Zinns als Beizen, ebenso die Gerbstoffe, die zunächst von der Faser angezogen, andererseits auch die Farbstoffe fixiren. Erst neuerdings hat R. Nietzki<sup>2)</sup> bei Besprechung der Theerfarbstoffe wieder mehr Werth auf deren basische oder saure, d. i. chemische Beschaffenheit der Farbstoffe und der Faser gelegt.

Ich will mit diesen Auseinandersetzungen den Färbungsmethoden durchaus nicht jeden Werth zur Unterscheidung verschiedener Stoffe im Zellinhalte absprechen, nur verlange ich zur Charakterisirung der verschiedenen tingirbaren Strukturelemente noch andere rein chemische Reactionen.

Vielleicht gelingt es gerade durch die Combination der Reagentienwirkung mit Färbemethoden, bestehende Unterschiede leicht erkennbar zu machen. Wenn man, wie z. B. bei der Färbung mancher im Gewebe schwer aufzufindender Bacterien zur Zerstörung des Gewebes und hiermit auch dessen Tinctionsfähigkeit, Salzsäure anwendet, wobei das Gewebe farblos wird, während die Bacterien gefärbt bleiben, so ist dies doch nur auf die grössere Widerstandsfähigkeit der Bacterien gegen die Salzsäure zurückzuführen, aber nicht als Reaction gegen den Farbstoff aufzufassen.

Gegenüber der Unterscheidung durch Färbungen muss ich es daher als einen entschiedenen Fortschritt ansehen, für die Erkennung gewisser Stoffe im Protoplasma Verdauungsfermente angewendet zu haben, welche zuerst wohl von E. Zacharias<sup>3)</sup> und von Reinke und Rodewald<sup>4)</sup> in die Pflanzenphysiologie eingeführt wurden.

Man unterschied zwischen den in künstlichem Magensaft verdaubaren Eiweissstoffen und den darin unlöslichen Nucleinen und Plastinen. Diese Unterscheidung verdiente aus dem Grunde ein besonderes Interesse, weil man vermuthen konnte, die verdaubaren, also leichter in einen löslichen Zustand überzuführenden Stoffe seien nur Nahrungsstoffe, die weniger beständig wären, sich auch zum Transport von einer Zelle zur anderen besser eigneten, während die Nucleie und Plastine mehr den höher organisirten Theil des Plasmas darstellen würden. So lange man aber nur auf diese eine Reaction — das Verhalten gegen Pepsin — Rücksicht genommen hat, blieben alle derartigen Schlussfolgerungen sehr unsicher. So sehen wir z. B., dass das Chromatin des Zellkerns durch Pepsin nicht angegriffen wird, auch gegen verdünntere Säuren relativ widerstandsfähig ist, daraus darf man jedoch nicht den Schluss ziehen, dass das Chromatin der überhaupt beständigste Theil der Zelle und des Kernes ist. Unsere Unter-

1) Bei Seide und Wolle kommt vielleicht auch die chemische Zusammensetzung mit in Betracht.

2) Encyclopädie der Naturwissenschaften. Handwörterbuch der Chemie. Lieferung 16.

3) Bot. Zeitung. 1881. p. 169.

4) Studien über das Protoplasma. 1881.

suchungen über die Eigenschaften und Löslichkeitsverhältnisse des Chromatins werden zeigen, wie verfehlt ein derartiger Schluss gewesen ist. Bei der Bedeutung, welche die Unterscheidung der verschiedenen Stoffe durch Fermentwirkungen besitzt, muss ich mich wundern, dass die Angaben von E. Zacharias keiner genaueren Prüfung und Nachuntersuchung unterworfen wurden, besonders da durch die Anwendung eines anderen Verdauungsfermentes, des Trypsins die besprochene Methode erweitert werden konnte. Wenn wir dabei auch gute Resultate erhalten, so machen dieselben doch eine weitere Untersuchung anderer Reactionen nicht überflüssig.

Die dritte Methode zur Auffindung verschiedener Stoffe im Protoplasma ist die macrochemische Darstellung und Prüfung der aus der Pflanze extrahirbaren Substanzen. Es musste hiermit der Nachweis verbunden sein, dass gleichartige Stoffe auch in der Zelle resp. in bestimmten Strukturelementen wirklich vorkommen. Da die Darstellung nur von Chemikern ausging, zum Nachweis der Substanzen in der Zelle aber nur Jemand befähigt sein konnte, der die mikroskopische Technik vollständig beherrschte, so blieb dieses Mittel der Erkenntniss unbenutzt. Es gilt dies namentlich für die Pflanzenzellen, während die thierischen Gewebe von den Physiologen wiederholten derartigen Untersuchungen unterzogen wurden.

Wir sehen demnach, die bisherigen Untersuchungsmethoden reichen nicht aus, um alle Proteinstoffe des Protoplasmas zu unterscheiden, und noch weniger, um sie durch allgemeinere Reactionen zu charakterisiren. Ich wendete daher eine neue Methode an, die ich <sup>1)</sup> in einem früheren Aufsatz als die Methode der partiellen Lösung bezeichnet habe. Jene Reagentien, welche wie Alkohol, gewisse Metallsalze und Säuren, das ganze Protoplasma unlöslich machen, sind nicht geeignet, Differenzen zwischen den einzelnen Strukturelementen resp. deren Stoffen nachzuweisen, dagegen mussten jene Reagentien, die als schlecht fixirend ausser Cours gesetzt waren, vorhandene stoffliche Unterschiede am besten aufklären, indem sie nur einen Theil der Stoffe fällen, die übrigen jedoch lösen oder zur Quellung bringen.

Bei der Auswahl der Reagentien liess ich mich von dem Gesichtspunkte leiten, womöglich jene Substanzen zur Anwendung zu bringen, welche bei der macrochemischen Darstellung und Unterscheidung der Proteinstoffe verwendet worden sind. Hierdurch wurde es mir zugleich möglich, der Frage näher zu treten, ob die von den Chemikern bisher isolirten Proteinstoffe wirklich in der Pflanze vorkommen oder nicht.

Die bei der Einwirkung des Wassers zu beobachtenden Erscheinungen sind mit grosser Vorsicht zu verwerthen, da in der Zelle sonst noch vorkommende Stoffe diese Reaction in höherem Maasse beeinflussen, als bei anderen Reagentien. Grösserer Gehalt an Kalisalzen wird die protoplasmatischen Substanzen löslicher erscheinen lassen. Gegenwart von Gerbstoff oder Säuren im Zellsafte, die bei der Verletzung der Zelle mit dem Protoplasma

<sup>1)</sup> Berichte der deutschen Botanischen Gesellschaft. 1886. Bd. IV. Heft 11. p. CIII.

in Berührung kommen, werden die Löslichkeit der einzelnen Stoffe in Wasser sehr bedeutend vermindern. Immerhin war es notwendig, die Einwirkung von Wasser zu untersuchen, um gerade die genannten secundären Einflüsse kennen zu lernen.

Das Verhalten gegen Neutralsalze charakterisirt die verschiedenen Protein-  
stoffe relativ am besten. Eine 10procentige Kochsalzlösung unterscheidet  
Globuline und Albuminate, die 20procentige Lösung die verschiedenen Glo-  
buline, die bei 30 ° C. gesättigte Lösung von schwefelsaurer Magnesia trennt  
Albumine und Globuline. Ferner zeichnet sich die gesättigte Lösung von  
schwefelsaurem Ammoniak durch die Fällung der meisten Protein-  
stoffe aus. Alle diese Stoffe mussten also Anwendung finden.

Kalilauge wurde schon vielfach bei der Untersuchung des Zellinhaltes  
verwendet, es musste jedoch eine stufenweise verschiedene Intensität der  
Alkaliwirkung auch dort zur Unterscheidung verschiedener Protein-  
stoffe führen, wo bisher bei der Kaliwirkung allein keine Differenzen zu constatiren  
waren. Die Anwendung verschiedener Concentrationen von Kalilauge genügte  
nicht, weshalb ich zum Vergleich auch die phosphorsauren Alkalien und  
Kalkwasser heranzog. Von phosphorsauren Salzen verwendete ich das  
Monokaliumphosphat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) und das Dinatriumphosphat ( $\text{Na}_2\text{KPO}_4$ ).  
Ich wählte für letzteres die Natriumverbindung und nicht die Kalium-  
verbindung, weil man jene mit Leichtigkeit rein von jeder Beimischung des  
dreibasischen Salzes erhalten konnte, während  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  nur schlecht  
krystallisirt und zu leicht mit  $\text{K}_3\text{PO}_4$  vermischt erhalten wurde. Drei-  
basische Kaliphosphate reagiren ungefähr wie Kalilauge, weshalb ich deren  
Wirkung nicht weiter untersuchte.

Ausserdem war das Verhalten von Kaliphosphaten gegen das Proto-  
plasma interessant, weil die Möglichkeit vorlag, dass dieselben schon als  
solche in der Pflanze vorkämen.

Da sich die Proteinkörper gegen verdünnte und concentrirte Lösungen  
anders verhalten, war es notwendig, Lösungen verschiedener Concentration  
anzuwenden, was natürlich bei dem Kalkwasser nicht möglich war, da  
Wasser nur wenig Kalk aufzunehmen vermag.

Es giebt eine ganze Reihe von Säuren, welche mehr oder weniger unab-  
hängig von der Concentration sämmtliche Proteinkörper in einen wasser-  
unlöslichen Niederschlag verwandeln. Hierher gehören Perisäure, Osmium-  
säure, Chromsäure, Phosphorwolframsäure (mit Zusatz von etwas Salz- oder  
Schwefelsäure) u. a. Bei der Anwendung dieser Säuren war es nicht wahr-  
scheinlich, Differenzen in der chemischen Beschaffenheit der einzelnen  
Strukturelemente zu finden, da ja alle Protein-  
stoffe gleichmässig gefällt wurden. Ich habe deshalb die Wirkung derselben nicht näher untersucht  
und mich auf jene Säuren beschränkt, die nicht vollständig fixiren, wo je  
nach der Concentration statt der Fällung auch Lösung zu erwarten war.  
Hierher gehören die Mineralsäuren und die sog. organischen Säuren. Es  
würde mich zu weit geführt haben, die Wirkung aller dieser Stoffe auf das

Plasma zu untersuchen, wesshalb ich zwei verschiedene Säuren herausgriff, die auch bei der Darstellung von Eiweissstoffen eine bedeutende Rolle gespielt haben. Es sind dies Essigsäure und Salzsäure, womit ich nicht sagen will, dass vielleicht andere Säuren nicht noch besser als Unterscheidungsmittel zu verwenden gewesen wären.

Besonders bei Unterscheidung verschiedener Kernstoffe war die Anwendung einiger Metallverbindungen von besonderem Vortheil. Ich habe nur einige wenige einwirken lassen, glaube aber, dass derartige Stoffe vorzüglich dazu geeignet sein werden, die Proteinsubstanzen in der Zelle zu charakterisiren.

Eine Lösung von Ferroeyankalium, die mit Essigsäure angesäuert wurde, hat man bisher zur Unterscheidung von peptonartigen Substanzen mit Erfolg angewendet. Bei höherer Concentration dieser Lösung und höheren Essigsäuregehalt ist diese Mischung auch zur microchemischen Untersuchung geeignet. Die von mir angewendete Mischung bestand aus 1 Volumth. wässriger Blutlaugensalzlösung (von der Concentration 1 : 10), 2 Volumth. Wasser,  $\frac{1}{2}$  Volumth. Eisessig.

Das schwefelsaure Kupfer und doppelchromsaure Kali verwendete ich in ziemlich concentrirter Lösung.

Das *Ferrum dialysatum solubile*, welches ich anwendete, ist in den Apotheken unter dem Namen lösliches Eisen bekannt. Seine Darstellung ist bei Gorup-Besanez, Lehrbuch der Chemie, angegeben.

Zur Pepsinverdauung verwendete ich eine künstliche Verdauungsflüssigkeit, welche 3 Volumth. Salzsäure von 0.2% und 1 Volumth. Pepsinglycerin enthielt.

Bei der Bereitung der trypsinhaltigen Verdauungsflüssigkeit hielt ich mich an die von W. Kühne<sup>1)</sup> angegebene Methode. Einen Gewichtstheil getrockneter Pancreas<sup>2)</sup> lässt man mit 5—10 Gewichtstheilen Salicylsäure von 1 pro mille 3—4 Stunden bei 40° C stehen, filtrirt durch ein Leinenlappchen, um die Bindegewebssubstanz zu beseitigen und nach dem Abkühlen nochmals durch Papier. Eine solche Lösung muss eine vorher erwärmte Fibrinflocke in 1 Minute zum Zerfall bringen, in 5 Minuten zu einem Brei lösen.

Die verdünnte Salicylsäure hindert die Fäulniss während der Dauer des Versuches, ist aber auf die Verdauung ohne Wirkung. Die Verdauungsflüssigkeit reagirt schwach sauer, eine einfach lösende Wirkung durch verdünnte Alkalien ist daher ausgeschlossen.

Die speciell zur Erkennung des Chromatins angewendete Färbungsmethode mit Methylviolett ist bei Kapitel III § 17 beschrieben. Ich kann diese Gran'sche Methode auf das Beste empfehlen, da sie sehr reine Chromatinfärbungen ergibt.

Zur Erklärung und zum richtigen Verständniss der auf die Löslichkeit

<sup>1)</sup> W. Kühne, Kurze Anleitung zur Verwendung der Verdauung in der Gewebeanalyse (in den Untersuchungen a. d. physiologischen Institut der Universität Heidelberg). 1878. Bd. I. p. 219.

<sup>2)</sup> Bezogen von Dr. Grübler in Leipzig.

Bezug habenden Thatsachen war es nothwendig, zwei Dinge zu berücksichtigen, nämlich einmal die im Plasma vorkommenden Salze und dann die im Zellsaft gelösten Stoffe. Letztere können, wenn sie bei der Verletzung der Zellen auf das Protoplasma zur Wirkung gelangen, an und für sich lösliche Stoffe unter dem Mikroskop leicht unlöslich erscheinen lassen, wie z. B. der im Zellsaft häufig vorkommende Gerbstoff und die organischen Säuren, welche schon in geringer Menge vorhanden, plasmatische Substanzen fixiren.

In Bezug auf die im Protoplasma löslichen Salze stellte sich als constante Thatsache heraus, dass das Protoplasma immer alkalisch reagirt, und dass in der lebenden Zelle es sich wahrscheinlich um eine Verbindung des alkalischen Salzes mit den Proteinstoffen handelt. Ich habe dieser Untersuchung ein eigenes Kapitel gewidmet, welches den übrigen Beobachtungen vorausgestellt wurde.

Allerdings handelt es sich bei allen bisherigen Untersuchungen und Methoden nur um todten Zellinhalt. Es ist dies ein Fehler, der aber, wie ich glaube, vorläufig nicht zu beseitigen ist. Immerhin bedeutet es einen Fortschritt, wenn wir wenigstens an den todten Zellen nachweisen können, von welcher Art die chemischen Differenzen sind, die zwischen den einzelnen Theilen des Zellinhaltes und zwischen den Strukturelementen dieser Theile bestehen. Differenzen in der todten Zelle bedingen auch Differenzen in der lebenden Zelle, denn wir können nicht annehmen, dass aus zwei chemisch vollständig gleichartigen Stoffen beim Verletzen der Zelle zwei verschiedene Stoffe entstehen. Ebenso ist es erlaubt, sobald verschiedene Strukturelemente in der verletzten Zelle gleiche Reactionen aufweisen, auch für die lebende Zelle eine nahe Verwandtschaft beider anzunehmen. Die Behauptung, die Stoffe der lebenden Zellen seien wesentlich verschieden von jenen der verletzten Zelle ist bisher durch nichts bewiesen, und so müssen wir uns mit dem gegenwärtig Erreichbaren begnügen.

In Bezug auf die Ausdehnung meiner Untersuchungen musste ich mir gewisse Beschränkungen auferlegen, wollte ich nicht die Publication über Gebühr hinausschieben. Ich habe daher hauptsächlich nur das Protoplasma von Zellen untersucht, welche nicht speciellen Aufgaben angepasst waren. Ich habe daher weder Fortpflanzungszellen, noch Reservestoffe speichernde Zellen untersucht, hoffe aber dies später nachtragen zu können. Speciell habe ich die Absicht, meine Untersuchungen auf die Samen auszu dehnen, da sich gerade bei diesen interessante Thatsachen über die Ein- und Auswanderung von Stoffen und die Betheiligung der einzelnen Bestandtheile der Zelle an diesen Funktionen erwarten lassen.

Trotz dieser Beschränkung auf bestimmte Zellen haben meine Untersuchungen eine Reihe interessanter Thatsachen zu Tage gefördert.

Es konnte eine grössere Anzahl verschiedener Proteinstoffe<sup>1)</sup> in der Pflanzenzelle nachgewiesen werden, welche als die Bestandtheile der einzelnen

<sup>1)</sup> Unter Proteinstoffen fasse ich im Anschluss an Reinke (Bot. Zeitung 1886 p. 241) Eiweissstoffe, Nucleine und die verwandten Körper zusammen.

Strukturelemente erkannt wurden. Diese Stoffe sind durch eine Reihe von Reactionen charakterisirt, welche ich im fünften Kapitel zusammengestellt habe.

Da die gefundenen Stoffe in ihren Reactionen den auf macrochemischen Wege dargestellten Proteinstoffen nicht vollständig glichen, war ich gezwungen, für dieselben eigene Namen einzuführen, welche ich den morphologischen Verhältnissen entsprechend ausgewählt habe. Ausserdem habe ich aber Rücksicht genommen auf die chemische Verwandtschaft der einzelnen Stoffe, indem ich Substanzen, welche sich in ihren Reactionen sehr nahe stehen, mit demselben Worte bezeichnete und nur durch die Verbindung mit einem zweiten Worte von einander schied. So kommt in den Chlorophyllkörpern eine Plastinstanz vor, welche sich nur wenig von der Plastinstanz des Cytoplasmas unterscheidet, ich habe diese beiden Stoffe als Chloroplastin und Cytoplastin unterschieden. In den Chlorophyllkörpern kommt ausserdem noch eine zweite Proteinstanz vor, welche ich, da sie die Zwischenräume zwischen den Chloroplastinafibrillen ausfüllt, als *Metaxin* bezeichnet habe (nach τὸ μετὰξὺ der Zwischenraum).

Im Kern weicht die Substanz der Kernmembran und der Nucleolen nur wenig in ihren Reactionen von einander ab, ich habe daher die Substanz der Nucleolen *Pyrenin*, die der Membran *Ampūipyrenin* genannt (ὁ πυρήν der Kern). Die Gerüstsubstanz des Kerns und die dazwischen befindliche Substanz wurde als *Linin* und *Paralinin* bezeichnet (von τὸ λίνον der Faden). Für die von der Kernfigur stammende stark tingirbare Substanz habe ich den Ausdruck *Chromatin* beibehalten.

Wie schon durch diese Benennungen ausgedrückt ist, fehlen sämtliche Kernstoffe in dem übrigen Protoplasma. Durch Einwirkung bestimmter Reagentien war es mir möglich dieselben allein heraus zu lösen, während die Substanzen des übrigen Protoplasmas ungelöst blieben. Diese Thatsache, dass sich die Bestandtheile des Kerns derartig charakterisiren lassen, rechtfertigt die Bezeichnung Strasburgers der Kernsubstanzen als *Nucleoplasm*, wenn dies auch sonst vielleicht weniger praktischen Werth besitzt.

Vergleichen wir Cytoplasma, Chlorophyllkörper und Kern in Bezug auf die Zahl der verschiedenen Proteinstoffe, welche diese Gebilde zusammensetzen, so stellt sich heraus, dass im Cytoplasma sich nur ein Proteinstoff nachweisen lässt, in den Chlorophyllkörpern zwei, in den Kernen fünf verschiedene Stoffe nachweisen lassen. Im Cytoplasma kommen zwar gelöste Stoffe in grösserer Menge vor, die man auch als Zwischensubstanz bezeichnen kann, dieser Lösung fehlen jedoch wenigstens in den erwachsenen Zellen die Proteinstoffe. Es ergibt sich aus dieser verschiedenen Zusammensetzung, dass der Kern ein unvergleichlich complicirter Organismus ist als das Cytoplasma und auch als die Chlorophyllkörper, welche letztere dem Cytoplasma zwar nahe stehen, aber doch ebenfalls etwas höher organisirt sind.

Das Cytoplasma besitzt auch keinen fibrillärgerüstförmigen Aufbau wie Chlorophyllkörper und Kerne, es gleicht vielmehr einer Mischung. Es ist also auch in dieser Hinsicht einfacher organisirt. Der Beweis für diese

Thatsachen findet sich im vierten Kapitel. Dort sind auch die durch Fällung entstehenden künstlichen Strukturen beschrieben, welche zu der Annahme eines gerüstförmigen Aufbaus Veranlassung gegeben haben.

Mit der Verschiedenheit der chemischen Zusammensetzung hängt auch die Verschiedenheit der Functionen der einzelnen Zellgebilde zusammen. Wenn wir dagegen eine gleichartige chemische Beschaffenheit vorfinden, werden wir wenigstens auch auf ähnliche Functionen schliessen dürfen. Die ernährungsphysiologische Function der Chlorophyllkörper macht es daher wahrscheinlich, dass auch das Cytoplasma bei der Ernährung und Stoffumwandlung in hervorragender Weise theilhaftig ist.

Auch einen direkten Vortheil für die mikroskopische Forschung bieten meine Untersuchungen, indem es durch die angegebene Methode möglich ist, morphologisch ähnliche oder gleichartigbare Gebilde und Strukturelemente zu unterscheiden. Vielfach kann der Zusatz eines bestimmten Reagens entscheiden, ob ein fraglicher Bestandtheil der Zelle vorhanden ist und wie er beschaffen ist. Gerade in dieser Hinsicht ist eine Verbesserung und Erweiterung der mikroskopischen Methoden möglich und für viele Fälle auch nothwendig. Meine ganze Abhandlung zeigt, dass der von mir eingeschlagene Weg zu einer genauen Feststellung der Struktur des Protoplasmas führt.

Vergleichen wir die Stoffe verschiedener Pflanzen miteinander, so sehen wir, dass sich in den Reactionen der homologen Zellgebilde verschiedener Pflanzen eine weitgehende Gleichheit kundgibt. Speciell Cytoplasma und Chlorophyllkörper zeigen überall dieselben Eigenschaften. Bei den Kernen der verschiedenen Pflanzen machen sich kleine Differenzen geltend, die meist jedoch nur qualitativer Natur sind, indem bei den einen Pflanzen die Stoffe etwas leichter löslich oder quellbar sind als bei den anderen. Immerhin sind die Unterschiede so gering, dass ich es für gerechtfertigt hielt, die sich entsprechenden Stoffe der verschiedenen Pflanzen mit demselben Namen zu belegen. Die etwas grösseren Differenzen in den Reactionen des Kerns sind möglicherweise auch dadurch bedingt, dass die Kernstoffe für geringe, aus dem Zellsaft stammende Säure- und Gerbstoffmengen empfindlicher sind als die übrigen Gebilde, vielleicht ist der Kern aber auch der Träger jener Eigenschaften, wodurch sich die Pflanzen von einander unterscheiden. Wäre letzteres richtig, so würden wir als Träger dieser Qualitäten das Kerngerüst (das *Linin*) anzusprechen haben, da dies vor allem die relativ grössten Differenzen aufweist, während das Chromatin bei allen Pflanzen sich nur sehr wenig oder gar nicht verschieden verhält. Das Chromatin ist auch viel weniger widerstandsfähig gegen die meisten Reagentien, als das Linin und Paralinin. Die leichtere Löslichkeit lässt aber auf ein geringeres Molekulargewicht schliessen, während gerade jener Stoff, der die vererbaren Qualitäten des Organismus enthält, wahrscheinlich ein sehr hohes Molekulargewicht haben muss und da die vererbaren Qualitäten sich fast gar nicht verändern, innerhalb der Pflanzen niemals in Lösung übergehen darf, falls er nicht seinen micellaren Aufbau und mit diesem seine Eigenschaften verlieren soll.

Ich möchte nicht weiter auf diese Hypothesen eingehen, da ich zu deren Begründung auf ein ganz anderes Gebiet übergehen müsste, ich wollte hier nur erwähnen, dass die chemische Untersuchung sehr wohl geeignet ist, auf derartige von der Biologie neuerdings vielfach ventilirte Fragen einiges Licht zu werfen.

Da ich die Absicht hatte, die in den Pflanzen gefundenen Proteinstoffe mit den bisher macrochemisch dargestellten Substanzen zu vergleichen, habe ich mich entschlossen, in diese Abhandlung zugleich eine Uebersicht der Eigenschaften aller jener Stoffe aufzunehmen. Es stellte sich jedoch heraus, dass die von mir gefundenen Eigenschaften nicht vollständig übereinstimmen. Nichtsdestoweniger ist diese Zusammenstellung zur Orientirung über die Proteinkörper wohl geeignet, zumal da in der botanischen und zoologischen Litteratur darauf wenig Rücksicht genommen wird. Da ausser den von mir untersuchten Proteinstoffen noch eine grössere Anzahl anderer Proteinstoffe vorkommt, namentlich im Zellsaft und wahrscheinlich auch in den Reservestoffbehältern, so wird diese Zusammenstellung auch für zukünftige Fälle beim Vergleich verschiedener Proteinkörper von Werth sein.

Wir sehen aus den hier angeführten Thatsachen, wie mannigfaltig die Fragen sind, welche sich an die chemische Untersuchung des Protoplasmas anschliessen und ich darf wohl hoffen, dass man auf dem hier eingeschlagenen Wege zu weiteren für das Pflanzenleben wichtigen Resultaten gelangen wird.

## Kapitel I.

### Die alkalische und saure Reaction des Zellinhaltes.

#### § 1. Bedeutung der Reaction von Protoplasma und Zellsaft.

Interessant wäre es, die vollständige Vertheilung der anorganischen Stoffe in der Zelle kennen zu lernen. Man könnte daraus Schlüsse ziehen über die Bedeutung der einzelnen Aschenbestandtheile für die Funktionen und die Eigenschaften der Zellen. Dazu gehört jedoch eine vollständige Kenntniss aller in der Zelle vorkommenden, auch der organischen Verbindungen, über welche wir derzeit noch keineswegs verfügen.

Ich beschränkte mich daher auf die Frage, wie reagiren Protoplasma und Zellsaft, kommt beiden eine bestimmte, constante Reaction zu und welche Bedeutung hat die Reaction derselben für die Funktionen der Zelle?

Beim Zellsaft finden wir bei den einzelnen Pflanzen verschiedene Reaction, meist sauer, jedoch auch in vielen Fällen alkalisch. Trotz dieser Verschiedenheit functioniren die Zellen in ähnllicher Weise; Athmung, Assimilation, Stoffwanderung etc. werden durch die Reaction des Zellsaftes nicht beeinflusst. Ganz anders gestaltet sich die Sachlage bei dem Protoplasma. Dies reagirt, so lange die Zelle noch ihre normale Lebensthätigkeit besitzt, immer alkalisch. Diese Constanz belehrt uns darüber, dass die Zellfunctionen sowie die Eigenschaften des Protoplasma in innigem Zusammenhang stehen mit seiner Alkalinität. Die Bedeutung dieser Thatsache wird uns klar, wenn wir bedenken, dass die Proteinstoffe des Protoplasmas durchwegs schon durch sehr geringe Mengen freier Säure gefällt wurden, ja schon saure Salze, wie das zweifach saure phosphorsaure Kali ( $K H_2 P O_4$ ) bringen Fällungen hervor. In verdünnten Alkalien und alkalisch reagirenden Salzen behält das Protoplasma den ihm eigenthümlichen gequollenen Zustand, die Verschiebbarkeit seiner Theilchen bei. Bei saurer Reaction müsste durch die Ausfällung bedeutender Stoffmengen die Bewegungsfähigkeit, Dehnbarkeit, Elasticität des ganzen Plasmas solchen Veränderungen unterliegen, dass die Zelle nicht mehr normal functioniren könnte.

Indem wir nachweisen konnten, dass das Kali die Reaction des Plasmas bedingt, wurde zu gleicher Zeit die Bedeutung dieses Stoffes für das Leben der Pflanze in das richtige Licht gestellt. Dasselbe ist nothwendig zur Bildung von Proteinstoffen, wie sie uns die Pflanze liefert; es ist dies die Hauptfunction, und wenn De Vries<sup>1)</sup> behauptet, dass das Kali hauptsächlich zur Neutralisation der organischen Säuren und zur Erhöhung der Turgorkraft im Zellsaft diene, so ist dies nur sehr bedingt richtig, indem ja die Hauptmenge des Kalis an das Protoplasma gebunden ist.

Der Zellsaft enthält ohnehin eine Reihe von osmotisch stark wirksamen Stoffen, denen das Protoplasma eine gleiche osmotische Wirkung entgegenzusetzen muss. Die colloidalen Proteinstoffe des Protoplasmas vermögen diese Leistung nicht hervorzubringen<sup>2)</sup>, es werden vielmehr die alkalischen Stoffe des Protoplasmas dafür einzutreten haben.

Ist eine derartig constante alkalische Reaction des Plasmas gefunden, so gewährt uns dies einen Anhaltspunkt für das Vorkommen einer ganzen Reihe von Verbindungen, die nur bei alkalischer oder neutraler Reaction in Lösung bleiben oder wie z. B. das Chlorophyll sich nur in alkalischen Medien unverändert erhalten. Für den Chemismus der Zelle ist dies von grosser Wichtigkeit.

Die Anwesenheit von Alkalien wird sich aber nicht nur in der lebenden Zelle geltend machen, sondern auch in der verletzten Zelle. Eiweissstoffe, die in Wasser unlöslich sind, wie z. B. die Globuline, können unter dem Mikroskop sich als löslich erweisen, wenn eine gewisse Menge von Alkali vorhanden ist. Es ist dies von Wichtigkeit, wenn es sich um den Vergleich der in der Zelle vorkommenden Proteinstoffe und der macrochemisch dargestellten Substanzen handelt.

Ich glaube, die angeführten Gründe reichen hin, um unser Interesse an der Frage zu rechtfertigen.

## § 2. Reaction des Zellsaftes.

Es kommt uns hier besonders darauf an, die Verbreitung des sauren Zellsaftes kennen zu lernen und zu sehen, in wie weit Ausnahmen von der Regel zu constatiren sind, dass der Zellsaft sauer reagirt. Hierzu dient uns der im Zellsaft gelöste Farbstoff als Reagens, der bei saurer Reaction roth, bei neutraler violett, bei alkalischer Reaction rein blau wird. Ich habe eine grosse Anzahl von Pflanzentheilen in dieser Richtung untersucht und gefunden, dass in den bei weiten meisten Fällen der rothe Farbstoff vorherrscht, sich auch schon an ganz jungen Pflanzentheilen vorfindet. Da das Roth bei stärkerem Säuregehalt mehr ziegelroth, weniger violett roth wird, so kann man an manchen Pflanzen auch verfolgen, wie mit dem Alter der Zellen die Säuremenge zunimmt. Immerhin bleibt die im Zellsafte vorhandene Säuremenge eine sehr geringe, wir sehen dies aus der Thatsache, dass

1) Pringsheims Jahrbücher f. wiss. Bot. 1881. Bd. XIV, p. 598.

2) Vgl. Pfeffer, Osmotische Untersuchungen. 1877. p. 175.

Zellen mit rothem Farbstoff, in eine sehr verdünnte Ammoniaklösung gelegt, in welcher sie vollständig lebendig bleiben, durch das in den Zellsaft diffundirende Ammoniak sehr leicht einen alkalischen d. h. blauen Zellsaft erhalten. Zur Neutralisation der Säure genügen also schon ganz geringe Mengen alkalischer Stoffe.

Wie übrigens die saure Reaction des Zellsaftes ohne Belang ist für die Functionen der Zelle, ersehen wir am leichtesten aus dem Vorkommen blauer und rother Blüten bei Varietäten derselben Pflanzenspecies, z. B. bei *Hyacinthen*, *Geranien* etc., ohne dass eine sonstige Differenz im Leben und der Entwicklung zu bemerken wäre. Ferner sehen wir anfangs rothe Blüten mit der Zeit blau werden, z. B. *Pulmonaria*, *Anchusa*, *Lathyrus*, ohne dass dies als pathologische Erscheinung aufgefasst werden könnte. Bei *Orobis vermus* und desgleichen bei *Orobis alpestris*, wo ein analoger Farbenwechsel eintritt, ist dies allerdings ein Vorbote des Absterbens, obwohl die Zellen noch in concentrirter Zuckerlösung plasmolysirbar geblieben sind. Es färbt sich der roth violette Zellsaft zuerst blau, dann blaugrün, schliesslich grün, ganz die Farbescala darbietend, welche der Farbstoff bei wachsendem Alkaligehalte annimmt (vgl. § 3 dieses Kap.), dazwischen bleiben immer noch violettgefärbte Zellen oder bei Grünfärbung blaue Zellen übrig. Das Protoplasma quillt jedoch sehr leicht bei der Plasmolyse auf und wird bei Wasserzusatz leicht desorganisirt. Es ist diese Empfindlichkeit ein Zeichen des beginnenden Absterbens.

Ich glaube, dass es sich in diesem Falle um einen Uebertritt alkalischer Substanzen aus dem Plasma in den Zellsaft handelt. Dieselbe Erscheinung kann man an jüngeren plasmareicheren Zellen mit roth violettem Zellsaft hervorrufen, wenn man die Schnitte längere Zeit (über 24 Stunden) in einer neutralen concentrirten Zuckerlösung liegen lässt. Es treten auch dann alkalische Stoffe in den Zellsaft über, bevor noch die Zellen ihr lebendiges Aussehen und ihre Ausdehnungsfähigkeit nach der Plasmolyse (das relativ beste Zeichen des Lebens) verloren haben. Ich konnte diese Erscheinung an Blättern von *Calathea sp.* und an Braunkohlblättern constatiren.

In farblosen Zellen wird es nothwendig sein, auf eine andere Weise die saure Reaction nachzuweisen, und zwar wird wohl die von Pfeffer angegebene Methode <sup>1)</sup> am brauchbarsten sein, nach welcher man von den lebenden Zellen einen Farbstoff aufsaugen lässt, den man sonst beim Titriren als Indicator benutzt. Es kommt darauf an, die Pflanze in möglichst verdünnte Farbstofflösung zu bringen, in welcher das Protoplasma dann lebend bleibt und im Zellsaft die natürliche Reaction ermittelt werden kann. Nur wenn man sich überzeugt hat, dass das Protoplasma vollständig intact ist, wird das Resultat einwandfrei sein, denn schon bei geringen schädlichen Einflüssen diffundiren, wie oben gezeigt wurde, Alkalien aus dem Protoplasma in den Zellsaft. Aehnlich wie das längere Liegenlassen in concen-

<sup>1)</sup> Bot. Zeitung. 1886. p. 123.

trirter Zuckerlösung wirken sehr schwache Inductionsströme und ich zweifle nicht, dass ein solcher Uebertritt des Alkalis auch noch bei anderen schädlichen Einflüssen stattfinden kann.

Ich wendete die Pfeffer'sche Methode nicht an, da sie mir erst nach Abschluss meiner Arbeiten bekannt wurde und ich ausserdem nicht auf ein Gebiet mich einlassen wollte, wo von Seiten Pfeffers erst eine vorläufige Mittheilung vorlag.

Vielleicht empfiehlt es sich, bei Pflanzentheilen mit farblosem Zellsaft die selben mit verdünntem Alkohol zu extrahiren, da hierbei das Protoplasma in einer Weise gefällt wird, dass es seine alkalischen Salze nicht abgibt und doch zugleich die Stoffe des Zellsaftes austreten können. Die gefundene Säuremenge wird hier möglicher Weise etwas zu klein ausfallen im Vergleich zu der wirklichen Säuremenge im Zellsaft, da gewisse Theile des Protoplasmas, ebenso wie sie Gerbstoff speichern können, auch die Pflanzensäuren festzuhalten vermögen.

Abgesehen von diesen directen Methoden können wir in einer Reihe von Fällen uns auf indirektem Wege von der Acidität des Zellsaftes überzeugen. Der aus angeschnittenen Zellen und zerquetschten Pflanzentheilen austretende Saft wird von einer Reihe von Autoren als Zellsaft bezeichnet, aber mit Unrecht. Wir wählen den allgemeineren Namen „Pflanzensaft“, da die Flüssigkeit sowohl die Stoffe des eigentlichen Zellsaftes als auch Stoffe aus dem Protoplasma enthält. In Pflanzentheilen, wo die Menge des Protoplasmas, der Eiweissstoffe und der darin enthaltenen Alkaliverbindungen überwiegt, wird die ausgepresste Flüssigkeit alkalisch reagiren, während umgekehrt, wenn der Zellsaft in den Vordergrund tritt, die saure Reaction sicher zu constatiren ist. Da das Protoplasma immer alkalisch reagirt, so muss bei saurer Reaction des ausgepressten Pflanzensaftes auch der Zellsaft sauer gewesen sein. Ist dagegen der aus den verletzten Zellen austretende Saft alkalisch, so ist damit noch gar nicht entschieden, ob der Zellsaft ebenfalls alkalisch war oder ob er nur durch die Stoffe des Protoplasmas neutralisirt wurde.

So fand schon Sachs<sup>1)</sup>, dass an den jüngsten Theilen der Pflanzen und im Siebtheil (Leitzellen, wie es im Original heisst) der Gefässbündel der austretende Saft alkalisch, sonst immer sauer reagirte. Die genannten Gewebe sind aber besonders reich an Protoplasma und Eiweissstoffen, daher die Reaction. Aber auch an Vegetationspunkten, namentlich an Laubknospen, findet man Zellen, die gefärbten Zellstoff enthalten. Der letztere ist roth, also sauer. Da ausserdem in dem von Vegetationspunkten entnommenen Saft Säuren nachgewiesen sind, so darf man wohl annehmen, dass dieselben ebenfalls wie in den älteren Zellen aus dem Zellsaft kommen. Ueber die Säuremenge ist natürlich nichts zu sagen.

1) Bot. Zeitung. 1862. p. 257—265.

Bei G. Kraus<sup>1)</sup>, der mit zerriebenen Pflanzentheilen operirte, handelt es sich ebenfalls um ein Gemisch von saurem Zellsaft und alkalischem Protoplasma. Er fand den ausgepressten Saft immer sauer reagirend, wenn auch in verschiedenem Grade, also dürfen wir annehmen, auch der Zellsaft sei immer sauer gewesen. Zweifelhaft scheint mir nur die Richtigkeit einer Angabe, welche sich auf die Acidität des Saftes aus blauen Blüthen bezieht. Da der blaue Zellsaft uns eine alkalische Reaction anzeigt, das Protoplasma ebenfalls alkalisch reagirt, so kann ich nicht angeben, woher die saure Reaction kommt, wenn nicht nachträglich Umsetzungen, eventuell durch Absorption von Kohlensäure, eingetreten sind. Namentlich beim Titriren, wie dies von Kraus geschehen, mit Phenolphthalein als Indicator, das auch auf  $C O_2$  reagirt, ist eine Täuschung möglich.

Ich halte daher die Angaben von Vogl<sup>2)</sup>, welcher bei blauen Blüthen vollkommen neutrale oder sogar schwach alkalische Reaction beobachtet hat, für richtiger.

Während Gregor Kraus durchgehends für die Säfte des Parenchyms saure Reaction annimmt, fand C. Kraus (Triesdorf)<sup>3)</sup>, dass der aus Parenchymzellen gewonnene Saft häufig amphotere Reaction zeigt, d. h. rothes Lakmuspapier blau färbte, blaues Lakmuspapier dagegen röthete. Er untersuchte ebenfalls die aus verletzten Zellen hervortretende Flüssigkeit und gerade die amphotere Reaction beweist uns, dass eine Mischung von Zellsaft und Plasmasalzen vorlag, da bekanntlich ein Gemisch des sauer reagirenden Monokaliumphosphats mit dem wahrscheinlich im Plasma vorkommenden Dikaliumphosphat, welches alkalisch reagirt, amphotere Reaction zeigt. Ausserdem fand C. Kraus den ausgepressten Saft noch alkalisch oder sauer, was durch das Vorwiegen des Plasmas oder des Zellsaftes leicht zu erklären ist. Trotz der Fehler, welche den genannten Arbeiten anhaften, müssen wir, insofern das Protoplasma immer alkalisch ist, annehmen, dass die gefundenen Säuren sich immer im Zellsaft befinden.

Ausserdem wurde durch die Arbeiten von G. Kraus, C. Kraus, Warburg und De Vries eine andere Thatsache festgestellt, welche für uns von Interesse ist. Die Säuremenge in den Pflanzen und demnach auch im Zellsaft ist eine sehr wechselnde. In erster Linie kommt dabei das Alter und das Entwicklungsstadium des betreffenden Pflanzentheils in Betracht, insofern als ältere Zellen im Allgemeinen mehr Säure enthalten als jüngere. Diese allmähliche Anhäufung von Säuren bewirkt, dass beim Verletzen von Zellen, wobei die Säuren des Zellsaftes direkt auf die Eiweissstoffe des Plasmas wirken, in älteren Zellen oft Fällungen eintreten, während dieselben Stoffe in jüngeren Entwicklungsstadien sich als löslich erweisen. Ferner

1) G. Kraus, Die Acidität des Zellsaftes. Sonderabdruck a. d. Abhandlungen der naturforschenden Gesellschaft zu Halle. Bd. XVI. 1884. p. 10.

2) Vogl, Sitzungsberichte der Münchener Academie. 1879. Bd. IX. pag. 20.

3) Bot. Centralblatt Bd. XXI. No. 12. 1885. pag. 373 und Berichte der deutschen bot. Gesellschaft Bd. III. p. XX—XXVI.

ist der Säuregehalt von äusseren Umständen beeinflusst, die auf das Protoplasma wirken und täglich Schwankungen hervorrufen können. Die Pflanzensäuren sind nach Warburg Producte der Athmung, sie werden also von dem bei der Athmung activ betheiligten Protoplasma erzeugt und dann in den Zellsaft abgeschieden, sie können aus demselben jedoch wieder verschwinden, d. h. vom Plasma weiter verarbeitet werden. Es besteht also ein Stoffwechsel zwischen Protoplasma und Zellsaft, welcher uns den letzteren gewissermaassen als ein Reservoir für bestimmte Stoffe erscheinen lässt.

### § 3. Methoden die alkalische Reaction des Protoplasmas nachzuweisen. — Eigenschaften des im Braunkohl vorkommenden Farbstoffes.

Da eine getrennte Untersuchung von Zellsaft und Protoplasma nicht möglich ist, kann man die Resultate der Aschenanalysen nicht ohne Weiteres zur Bestimmung der Protoplasmareaction verwenden. Es wäre dies höchstens in einzelnen Fällen zulässig, wo die Menge des Zellsaftes im Vergleich zum vorhandenen Protoplasma verschwindend klein ist, so z. B. an Vegetationspunkten und Schleimpilzen.

Die einfachste Art, die Alkalinität des Protoplasmas nachzuweisen war, dasselbe mit Farbstoffen zu tingiren, die schon für geringe Reactionsänderungen empfindlich sind. Zur Zeit, wo ich meine Untersuchungen vornahm, schloss ich mich der allgemein gültigen Anschauung an, dass lebendes Protoplasma keinen Farbstoff aufnehme und verwendete daher nur todtes Protoplasma zur Reaction. Dabei war es wesentlich, eine Tödtungsart anzuwenden, bei welcher die alkalischen Stoffe aus dem Plasma nicht herausdiffundirten und zugleich das Plasma selbst möglichst gut färbbar gemacht wurde. Bei nicht mit Wasser durchtränkten Pflanzentheilen, z. B. trockenen Samen genügte es, dünne Schnitte längere Zeit in einer neutralen oder schwach sauren Lösung des von mir angewendeten Kohlfarbstoffes liegen zu lassen. Die Tinction selber gelingt besser nach vorheriger kurzer Behandlung der Schnitte mit Alkohol. Bei der Untersuchung turgescenter Gewebe ist eine Tödtung durch Säure selbstverständlich zu vermeiden, ebenso sind Metalloxyde sowie Stoffe, welche den Farbstoffindicator verändern, unbrauchbar. Erwärmen ist auch nicht vortheilhaft, da hierdurch, wie ich mich durch Versuche überzeugte, leicht die alkalischen Stoffe aus dem Protoplasma entfernt werden. Mit Erfolg kann man dagegen kurze Zeit durch Alkohol fixirtes Material anwenden, am besten geschieht die Tödtung jedoch auf electrischem Wege, wodurch zugleich die Möglichkeit gegeben ist, die Färbung des Plasmas unter dem Mikroskope zu verfolgen.

Ich verfuhr dabei folgendermaassen: Auf einem Objectträger wurden 1—2 mm von einander entfernt 2 breite Staniolstreifen durch in Spiritus gelösten Siegellack aufgeklebt. Zwischen diese Streifen wurde der Schnitt mit unverletzten Zellen oder die abgezogene Epidermis angebracht u. z. so, dass

dieselben auf dem Staniol auflagen. Bei Pflanzentheilen mit gefärbtem Zellsaft lagen die Schnitte in Wasser, da hier der Farbstoff des Zellsaftes als Indicator diente, bei ungefärbten Zellen wurde ein Zusatz der aus Braunkohl gewonnenen, später zu beschreibenden Farbstofflösung nothwendig. Nach dem Auflegen des Deckglases wurde der Objectträger unter das Mikroskop gebracht. Die den Strom zuführenden Drähte wurden auf die freien, unter dem Deckglas hervorragenden Stanioltheile aufgesetzt und zugleich mit einem Du Bois-Reymond'schen Inductionsapparat mit constanter Stromunterbrechung und einem ziemlich starken Element in Verbindung gebracht.

Der vorhandene Strom genigte binnen kurzer Zeit, die Zellen zu tödten und so das Plasma für den Farbstoff tingirbar zu machen. Ein Unterschied zwischen den beiden Eintrittstellen des Stromes war nicht vorhanden und da die Resultate an den electricisch getödteten Zellen mit den auf anderem Wege gefundenen Ergebnissen übereinstimmten, dürfen wir annehmen, dass die Alkalinität des Protoplasmas schon ursprünglich vorhanden ist, nicht etwa erst durch die Zersetzung von Verbindungen durch den electricischen Strom hervorgerufen wird.

Als Indicator für die Reaction des Zellinhaltes ist fast durchgehends der im Zellsaft vorkommende Farbstoff verwendbar, der bei saurer Reaction roth, bei alkalischer Reaction blau ist. Der rothe Farbstoff wird nicht, wie Kabsch<sup>1)</sup> behauptet, durch den electricischen Strom zerstört und zersetzt, sein Verschwinden aus der Zelle bei Anwendung schwacher electricischer Ströme ist dadurch verursacht, dass er aus der Zelle leicht in die umgebende Flüssigkeit diffundirt und dort wegen der grossen Verdünnung nicht mehr deutlich zu sehen ist. Doch hat auch schon Kabsch an verletzten Blumenblättern von *Aquilegia*, *Vinca*, *Viola*, *Delphinium* und *Campanula* nach dem Durchschlagen des Funkens statt des schönen Violettblau eine dunklere oder hellere blaugrüne Farbe — d. h. eine Verfärbung durch das Alkali des Protoplasmas auftreten sehen. Auch Kühne<sup>2)</sup> fand gelegentlich der Einwirkung electricischer Ströme auf die Staubfadenhaare von *Tradescantia virginica*, dass der Farbstoff des Zellsaftes das todtte Plasma tingire.

Für unsere Zwecke nicht verwendbar ist der übrigens nur selten, z. B. in der rothen Rübe vorkommende Farbstoff, der sich mit Alkalien nicht blau färbt, vielmehr durch schwaches Alkali farblos, durch starkes Alkali gelb wird. Beim Ausbleiben der Blaufärbung des Plasmas hat man sich also zunächst zu überzeugen, ob der im Zellsaft vorhandene Farbstoff durch Alkalien überhaupt blau gefärbt wird.

Bei der Untersuchung von Zellen mit farblosem Zellsaft erhielt ich die besten Resultate bei Zusatz des Farbstoffs aus dem Braunkohl (*Brassica oleracea* var. *crispa* Garcke), der dem gewöhnlichen roth-blauen Farbstoff des Zellsaftes wohl sehr nahe steht, wenn nicht identisch mit demselben ist.

1) Bot. Zeitung. 1861. p. 363.

2) Untersuchungen über das Protoplasma. 1864. p. 96.

Dieser Kohlfarbstoff zeichnet sich durch eine grosse Empfindlichkeit gegen Alkalien und alkalische Salze aus, worin er Lakmus und andere Indicatoren entschieden übertrifft. Bei den kleinen Mengen von alkalisch reagirenden Stoffen, welche in einem mikroskopischen Schnitt vorhanden sind und wirken, ist eine solche Empfindlichkeit dringend geboten. Ausserdem giebt der Kohlfarbstoff mit Säuren und Alkalien je nach der Stärke der Reaction verschiedene Farben, wodurch es uns möglich ist die Stärke der eingetretenen alkalischen Reaction des Plasmas wenigstens abzuschätzen.

Wir finden folgende Abstufungen.

<b>Reaction:</b>	<b>Farbe des Kohlfarbstoffes:</b>
stark sauer . . . . .	gelbroth
sauer . . . . .	purpurroth
schwach sauer . . . . .	rothviolett
neutral . . . . .	violett
schwach alkalisch . . . . .	blau bis blaugrün
stärker alkalisch . . . . .	grasgrün
concentrirtes Alkali . . . . .	gelb — gelborange.

Die Gelbfärbung durch zu starkes Alkali beruht auf einer Zerstörung des Farbstoffes, denn durch Säurezusatz wird die blaue und rothe Farbe nicht wieder hergestellt, während bei den übrigen Nuancen eine Umwandlung in die entsprechende Farbe durch Zusatz von Säuren resp. Alkalien immer wieder möglich ist. Durch sehr concentrirte Säuren ist der Farbstoff weniger leicht zerstörbar, als durch Alkalien, wenn er auch bei längerer Wirkung namentlich von concentrirten Mineralsäuren zersetzt wird.

Einen weiteren Vortheil, den ich bei der Frage verwerthen konnte, welche Stoffe das Plasma alkalisch machen, bietet der Farbstoff dadurch, dass er sich mit freiem Alkali anders färbt als mit gewissen hier in Betracht kommenden Alkalisalzen.

Aetzkali führt den rothen Farbstoff je nach der Menge des Zusatzes in blau, in grün, schliesslich in gelb über. Anders verhalten sich die Salze der Alkalien.

$K_3 PO_4$ , Trikaliumphosphat, auch als neutrales phosphorsaures Kali bezeichnet, reagirt auf Lakmus stark alkalisch, es färbt unseren Kohlfarbstoff spahngrün, ohne ihm jedoch auch bei stärkerem Zusatz zu zerstören, färbt ihn also niemals gelb.

$K_2 HPO_4$ , Dikaliumphosphat, auch als einfach saures phosphorsaures Kali bezeichnet, wirkt auf Lakmus oder Curenma wie Alkali, färbt auch bei ziemlich starkem Zusatz den Kohlfarbstoff nur blau — blaugrün und erst bei höherer Concentration rein grün, ohne ihm jedoch zu zerstören.

$K H_2 PO_4$ , Monokaliumphosphat, auch doppeltsaures phosphorsaures Kali genannt, reagirt auf Lakmus sauer, färbt in kleinen Mengen den Kohlfarbstoff rothviolett, bei stärkerem Zusatz roth.

Die Gewinnung des Farbstoffes aus Kehlblättern ist sehr einfach. Da derselbe hauptsächlich in der Epidermis zu finden ist, zieht man dieselbe

von den Blattstielen ab und erwärmt langsam mit Wasser auf circa 45—55° C. Der Farbstoff diffundirt bei dieser langsamen Tödtung aus den Zellen in die umgebende Flüssigkeit, ohne dass zu viel vom Plasma absorbiert würde. Man kann jedoch auch, die ganzen Kohlblätter in Stücke geschnitten, mit warmen Wasser extrahiren, nur bekommt man dann zu viel andere Extractivstoffe mit in die Farbstofflösung. Eine stärkere Erwärmung als die oben angegebene ist zu vermeiden, da man sonst durch Extraction von anorganischen Stoffen aus dem Plasma eine stärker alkalische blaue bis blaugrüne Färbung erhält. Es ist gut die von den Pflanzentheilen abfiltrirte Farbstofflösung durch Aufkochen von den erst bei höherer Temperatur coagulirbaren Proteinstoffen zu reinigen. Da jedoch noch andere organische Stoffe zurückbleiben und die Farbstofflösung daher der Fäulniss unterworfen ist, wir ausserdem zum Nachweis der alkalischen Reaction des Plasmas eine saure Lösung bedürfen, setzt man etwas Säure zu, am besten Salicylsäure, welche nicht stark sauer reagirt und die Lösung haltbar macht.

Die nach Abschluss meiner Untersuchungen von Pfeffer<sup>1)</sup> publicirte Methode, durch Aufsaugen von verdünntem Cyanin durch lebende Zellen die Alkalinität des Protoplasmas zu beweisen, wollte ich nicht anwenden, bevor Pfeffer die in dieser vorläufigen Mittheilung angezeigte Abhandlung über die Stoffaufnahme veröffentlicht hatte.

#### § 4. Ergebnisse der Untersuchung über die Reaction des Protoplasmas.

Betrachten wir zunächst die Resultate, welche wir mittelst der eben angegebenen Methode der electricischen Tödtung erhalten haben. Ich verwendete mikroskopische Schnitte durch die Pflanzentheile oder Stücke der abgezogenen Epidermis, die unverletzte Zellen enthalten mussten, wenn die Reaction deutlich hervortreten sollte. Lagen Zellen mit rothem, saurem Zellsaft vor, war die Erscheinung viel frappanter, als bei Zellen mit blauem, alkalischem Zellsaft, die ersteren Objecte (vgl. pag. 23 ff.) dürften sich daher besonders zur Demonstration des Vorganges eignen. Der Farbenwechsel, der uns auf die alkalische Reaction des Plasmas schliessen lässt, vollzieht sich direkt vor unseren Augen, indem sich das Protoplasma nicht roth wie der Zellsaft, sondern blau färbt. Häufig tritt vor der Färbung des Protoplasmas aus demselben eine gewisse Menge alkalischer Stoffe in den Zellsaft über, welche genügt, denselben blau zu färben. Auch bei den Zellen mit blauem oder blauviolettem Zellsafte macht sich die Alkalinität des Protoplasmas geltend, indem letzteres eine mehr blaugrüne Färbung annimmt, welche auf eine Verstärkung der alkalischen Reaction schliessen lässt.

Nur sehr selten, z. B. bei einigen jungen blauen Hyacinthenblüthen geht dies soweit, dass das Grün rein d. h. ohne Beimischung einer blauen Nuance

<sup>1)</sup> Bot. Zeitung. 1886. p. 123.

erscheint, eine gelbgrüne Färbung wie sie reines Alkali hervorbringt, kommt niemals zu Stande. In dem ersten Falle handelt es sich um Neutralisation saurer Säfte, im zweiten Falle um Verstärkung der alkalischen Reaction. Niemals wurde umgekehrt der blaue Zellsaft durch das Protoplasma geröthet. Naturgemäss hat auf die Umwandlung der rothen in die blaue Farbe sowohl die Menge des im Plasma vorhandenen Alkalis, als die Menge der im Zellsaft vorhandenen Säure einen bedeutenden Einfluss. Im Allgemeinen kann man annehmen, dass je mehr Protoplasma in den Zellen enthalten ist, desto mehr Alkali vorhanden ist und desto besser tritt die alkalische Reaction zu Tage. Junge Pflanzentheile eignen sich daher am besten zum Nachweis. Bei älteren Pflanzentheilen nimmt nicht nur die Menge des Protoplasmas ab und damit die Quantität der alkalischen Stoffe, sondern es nimmt auch der Säuregehalt zu; trotzdem genügen meistens auch dann noch die im Protoplasma vorhandenen Stoffe, die alkalische Reaction hervorzurufen. Erschwert wird der Nachweis hauptsächlich dadurch, dass die Tinctionsfähigkeit des Inhaltes älterer, substanzarmer Zellen bedeutend abnimmt, wie denn überhaupt, in den Fällen, wo man zweifelhaft sein konnte, die geringe Tinctionsfähigkeit eine genaue Entscheidung ausschloss. Dazu kommt noch, dass manchmal z. B. beim Blumenblatt von *Franciscea eximia* im Zellsaft kugelige Körper ausgefällt wurden, welche auf den Farbstoff stärker anziehend wirkten als das Protoplasma, welches dann ungefärbt blieb. Dergleichen ist der Nachweis erschwert bei Zellen, die sehr wenig Farbstoff enthalten.

Die Methode, die vorher mit Alkohol behandelten Pflanzentheile durch schwach saure Farbstofflösung zu färben, gab dieselben Resultate, nur war die Tinctionsfähigkeit geringer als bei dem auf electrischem Wege getödteten Material. Ebenso gelang es an Zellen, welche durch Druck, Verletzung oder Erhitzen getödtet waren, die alkalische Reaction des Protoplasmas nachzuweisen.

Trotz der angegebenen Schwierigkeiten lässt sich die Alkalinität des Protoplasmas an allen Theilen und Organen der Pflanzen nachweisen. Ich untersuchte Stengel und Wurzeln, Blätter und Blüthentheile, auch Samen und Früchte: immer wieder dieselbe Reaction, wenn auch nicht immer mit derselben Schärfe. Also trotz der Verschiedenheit der Funktionen der einzelnen Pflanzentheile bewahrt das Protoplasma seine alkalische Reaction, was uns darauf schliessen lässt, dass für die physikalischen Eigenschaften und die physiologischen Funktionen desselben, dieser Gehalt an Alkali von Bedeutung ist.

Aber nicht nur für die Plasmata verschiedener Pflanzenorgane herrschte Uebereinstimmung, sondern auch für die einzelnen Theile des Zellinhaltes. Am leichtesten war der Nachweis für den Zellkern, indem derselbe am besten den Farbstoff aufnahm. An günstigen Objecten z. B. an Braunkohlblattstielen, bei Keimlingsstengeln von *Brassica napus*, bei *Primula japonica* (Stengel) u. a. liess sich constatiren, dass nicht nur das Chromatin und die Nucleolen, sondern auch die Gerüstsubstanz alkalisch reagirten.

Bei weniger günstigen Objecten färbte sich besonders das Chromatin und die Nucleolen.

Diese Blaufärbung der Kerne bei rothem Zellsaft hat für einzelne Fälle schon G. Kraus<sup>1)</sup> beobachtet, ohne die Sache weiter zu verfolgen. Ebenso erwähnt Schmitz<sup>2)</sup>, dass beim Tingiren von Zellkernen dieselben sich oft anders färben, als die zugesetzte Färbeflüssigkeit, dass bei Zusatz roth gefärbter Haematoxylinlösung die Kerne sich manchmal violett, ja geradezu blau färbten.

Ist genügende Menge von Farbstoff vorhanden und die Zellsubstanz gut tingirbar, so färben sich auch die übrigen Theile des Zellinhaltes, das Cytoplasma, in demselben besonders die Microsomen, die Chlorophyllkörner und Stärkebildner mit einer der Alkalinität entsprechenden Farbe.

Auch in Samen zeigte Cytoplasma und Kern alkalische Reaction, dagegen blieben in einigen Fällen z. B. der Kleber der Gerste, sowie die Eiweiss-substanz von Saubohnen ungefärbt, trotzdem sie circa 24 Stunden in der Färbeflüssigkeit lagen. In anderen Fällen, z. B. bei Wicken- und Erbsensamen färbten sich auch die Aleuronkörner ausser dem Protoplasma mit dem Kohlfarbstoffe blau.

Ich glaubte die Alkalinität des Protoplasmas der Samen besonders betonen zu müssen, da Ritthausen<sup>3)</sup> angibt, dass unter anderem der wässrige Auszug aus Saubohnen (*Vicia faba*) stark sauer reagire, ebenso das angefeuchtete Pulver aus diesen Samen. Bei Erbsen ist die Stärke der sauren Reaction des wässerigen Auszuges verschieden, theilweise reagirt der Auszug neutral, je nach der gewählten Erbsenvarietät.

Die Angaben Ritthausen's konnte ich bestätigen, doch glaube ich, muss man die saure Reaction nicht auf das Protoplasma beziehen, sondern auf den Rückstand des Zellsaftes, der ja auch nach dem Trocknen der Samen und dem Wiederanfeuchten unverändert bleiben kann. Dagegen, dass das Protoplasma und die eingelagerten Eiweisskörper die saure Reaction hervorrufen, spricht erstens die Blaufärbung an Schnitten, zweitens aber die Inconstanz der sauren Reaction, die ja nach Ritthausen ganz verschwinden kann, ja ich fand sogar bei Erbsen auch ganz schwach alkalische Reaction des kalten wässerigen Auszugs. Die Eiweissstoffe der verschiedenen Erbsenvarietäten können nur ganz unbedeutend differiren, weshalb der in allen vorkommende Eiweissstoff, wie Ritthausen annimmt, das Legumin vermöge seines Phosphorsäuregehaltes die saure Reaction des Auszugs nicht hervorrufen kann. Dieselbe müsste dann constant auftreten, da dieser Leguminartige Stoff immer vorhanden ist. Für den stark sauer reagirenden Auszug

1) G. Kraus, Sitzungsberichte der naturforsch. Gesellschaft zu Halle. Sitzung vom 23. Febr. 1884. p. 6 d. Sep.

2) Ueber die Struktur des Protoplasmas und der Zellkerne. Sitzungsber. der niederrheinischen Gesellschaft für Natur- und Heilkunde. 1880. pag. 2. Anmerkung.

3) H. Ritthausen, Die Eiweisskörper der Getreidearten, Hülsenfrüchte und Oelsamen, 1872. p. 158—162 und 169.

aus gelben Lupinen nimmt Ritthausen<sup>1)</sup> übrigens an, dass es durch einen beträchtlichen Gehalt an sauren Salzen der Oxalsäure, Citronensäure oder Aepfelsäure hervorgerufen sei. Diese Säuren kommen aber nicht im Protoplasma, sondern im Zellsaft vor, denn das Protoplasma reagirt alkalisch. Es ordnen sich diese Fälle nach meiner Ansicht den Ergebnissen aus saftreichen Pflanzentheilen unter, wo wir ebenfalls trotz der sauren Reaction des ausgepressten Saftes eine alkalische Reaction des Protoplasmas fanden.

Zur besseren Uebersicht lasse ich ein Verzeichniss der untersuchten Pflanzen und Pflanzentheile folgen mit den Angaben der Farbe des Zellsaftes, woraus man auf die Reaction desselben schliessen kann und mit Bemerkungen, ob die alkalische Färbung des Protoplasmas mehr oder weniger deutlich zu sehen war. Bei farblosem Zellsafte wurde eine schwach saure Lösung des Kohlfarbstoffes hinzugefügt. Was die Methode anbelangt, so bedeutet E. Tödtung auf electricischem Wege, A. durch Alkohol mit darauf folgendem Einlegen in die Farbstofflösung, H. Tödtung durch Erhitzen, V. einfache Verletzung durch Druck oder Zerreißen.

### Stengeltheile:

Pflanze.	Zellsaft.	Methode der Tödtung.	Blaufärbung des Plasmas.
Primula japonica.....	roth od. farblos.	—	deutlich.
Brassica oleracea v. crispa Garcke (Braunkohl) .....	rothviolett.	E, A, H.	sehr deutlich.
Brassica napus L. (Rapskeimling)	—	A.	deutlich.
Lupinus luteus, Hypocotyl ....	—	A.	deutlich.
*Vicia sativa, Epicotyl.....	—	A.	Plasma violett.
Impatiens parviflora .....	roth.	V.	deutlich.
Episcia metallica .....	roth.	E.	sehr deutlich.
Asparagus officinalis .....	rothviolett.	E.	Zellsaft blau werdend.
— — .....	—	A.	Plasma wenig gefärbt.
Solanum tuberosum .....	rothviolett.	V.	sehr deutlich.

### Wurzeln:

Phaseolus multiflorus.....	—	A.	deutlich.
Elodea canadensis.....	—	A.	deutlich.
Pisum sativum.....	—	A.	ziemlich deutlich.
Salix viminalis.....	—	A.	gering.
Monstera deliciosa, Luftwurzel.	—	A.	gering.
Chlorophytum inornatum, Luft- wurzel .....	—	A.	wenig Plasma vorhanden, Färbung deutlich.

### Laubblätter:

Brassica oleracea v. crispa....	rothviolett.	E, A, H.	sehr deutlich.
Begonia zebрина.....	roth.	E.	Zellsaft wird schwach blau.
Sinningia nigra .....	roth.	E.	Zellsaft violett, Plasma nach längerem Durchleiten des Stromes blau.

<sup>1)</sup> l. c. p. 188.

**Laubblätter:**

Pflanze.	Zellsaft,	Methode der Tödtung.	Blaufärbung des Plasmas.
Maranta princeps .....	roth.	E.	sehr deutlich, bis zum Grün gehend.
Calathea illustris .....	roth.	E.	sehr deutlich, bis zum Grün gehend.
Hyacinthus orientalis .....	—	A.	deutlich.
Narcissus tazetta .....	—	A.	deutlich.
Ficus barbata (jung) .....	roth.	V.	deutlich.
Rumex hamatus .....	intensiv roth.	E, A.	sehr deutlich.
*Acer campestre (Blattstiel) .....	ziegelroth.	E.	Zellsaft wird violett, Plasma wenig gefärbt.
*Tradescantia zebrina .....	violett.	E.	violette Färbung.
*Begonia cœlebogynifolia .....	roth.	E.	Zellsaft violett.
*Saxifraga peltata .....	roth.	E.	keine Veränderung.

**Blumenblätter:**

Crocus vernus .....	violett.	E.	deutlich, im Zellsaft Kugeln den Farbstoff anziehend.
Hyacinthus orientalis .....	blauviolett	E.	sehr deutlich bis grünblau.
— — junge Blüthe	—	A.	deutlich.
— — .....	roth.	E.	gering, Zellsaft wird violett.
Scilla sibirica .....	reinblau	E.	sehr deutlich, auch nach Ansäuern des Zellsaftes.
Hemerocallis fulva .....	roth.	E, V.	deutlich.
Muscari Scovitzianum .....	blau od. violett.	A.	deutlich.
Orobis vernus .....	rothviol. oder blaugrün.	E.	gering.
Dicentra spectabilis .....	roth.	E.	gering.
Cydonia japonica .....	roth.	E.	gering.
Viola alpestris .....	blauviolett.	E.	gering, Zellsaft wird blaugrün.
Rhododendron indicum .....	violett.	E.	sehr gering.
Aquilegia viscosa .....	blauviolett.	E.	sehr deutlich, auch bei Ansäuern des Zellsaftes mit 0,2% Essigsäure.
*Iris pumila .....	violett.	E.	Plasma violett, bei stärkeren Strömen blau.
*Pelargonium zonale .....	roth.	E.	Zellsaft violett gefärbt.
*Franciscea eximia .....	violett.	E.	Plasma rothviolett.

**Samen:**

Lupinus luteus, Cotyledonen...	—	A.	deutlich.
Pisum sativum, gekeimt u. ungek.	—	A.	ziemlich deutlich.
Vicia sativa, gekeimt u. ungekeimt	—	A.	gering.
Vicia faba (minor) .....	—	A.	gering.
Hordeum vulgare .....	—	A.	sehr deutlich (bis auf die Kleberschicht).
Polygonum fagopyrum .....	—	A.	sehr deutlich.
Cucurbita pepo .....	—	A.	ziemlich deutlich.
Zea mais (Embryo u. Endospermzellen) .....	—	A.	sehr deutlich (Zellmembran roth gefärbt).

Verschiedene Pflanzentheile.	Zellsaft.	Methode der Tödtung.	Blaufärbung des Plasmas.
<i>Ardisia crenulata</i> , Beere . . . . .	ziegelroth.	E.	gering, Zellsaft violett.
<i>Ilex aquifolium</i> , Beere . . . . .	roth.	E.	gering, rothviolett.
<i>Primula japonica</i> , Haare des Stengels. . . . .	roth.	E.	deutlich.
* <i>Dalechampia Roezlianum</i> , Vor- blatt der Blüthe. . . . .	roth.	E.	Zellsaft nur sehr wenig violett werdend, Plasma ungefärbt.
* <i>Saxifraga Bergenii</i> , Fruchtknoten- epidermis. . . . .	ziegelroth.	E.	Plasma ungefärbt, Zellsaft unverändert.
<i>Rheum hybridum</i> , Hüllblatt der Büthe . . . . .	roth.	E.	Plasma nur sehr wenig blau, erst nach längerem Liegen in Farbstofflös.

Die in dieser Tabelle mit Sternchen versehenen Pflanzen sind jene, an welchen die alkalische Reaction des Plasmas nicht oder nur unvollständig nachzuweisen war. Wir haben jedoch theilweise Uebergänge zu dem normalen Verlauf der Reaction vor uns. Während sonst das Protoplasma oder doch der Zellsaft sich blau färbte, wird in diesen Ausnahmen das Protoplasma nur violett oder gar nicht gefärbt, während der Zellsaft ebenfalls nicht bis zur Alkalinität gebracht wird, sondern nur die Neutralfarbe violett annimmt oder sich gar nicht verändert. Die Ursachen dieser Erscheinung sind bei den bezeichneten Pflanzentheilen nicht dieselben. Bei der Fruchtknotenepidermis von *Saxifraga Bergenii* und der Epidermis der Blattunterseite von *Saxifraga peltata*, wo gar keine Veränderung beim Durchleiten des Stromes eintrat, müssen wir annehmen — die ziegelrothe Färbung weist uns darauf hin, — der Zellsaft sei zu sauer gewesen, um durch das Alkali der geringen Plasmamenge neutralisirt zu werden. Die zu geringe Menge von Plasma resp. Alkali mochte ebenfalls der Grund sein, warum bei dem Vorblatt der Blüthe von *Dalechampia Roezlianum*, beim Laubblatt von *Begonia coelebogynifolia*, beim Blattstiel von *Acer campestre*, bei den Blumenblättern von *Pelargonium zonale* nur Neutralisation des Zellsaftes eintrat.

Anders verhält es sich bei den violetten Blüthen von *Iris pumila*, den Blättern von *Tradescantia zebrina*, dem Epicotyl von *Vicia sativa*. Hier ist dem violetten Zellsaft zufolge derselbe neutral und trotzdem tritt bei Tödtung durch schwache Ströme meist nur Violettfärbung von Kern und Plasma ein. Einen Anhaltspunkt zur Erklärung dieser Thatsache gibt uns die Beobachtung, dass bei stärkeren Strömen sich das Plasma dennoch blau färbt. Auch bei den durch Druck getödteten Zellen oder bei den durch sehr verdünnte Essigsäure getödteten Zellen finden wir an *Iris pumila* theilweise blau gefärbtes Protoplasma. Es scheint mir demnach, als ob das Alkali in einer Weise an Eiweissstoffe gebunden sei, dass die alkalische Reaction des ganzen Plasmas nicht ohne Weiteres zu erkennen ist, sondern

erst nachdem diese Verbindung mit der vollständigen Zerstörung der chemischen Struktur gelöst ist. In der That binden nach den Untersuchungen von Danilewsky<sup>1)</sup> manche Eiweissstoffe Basen derartig, dass sie auf gewisse Indicatoren wie Tropaeolin 000 No. 1 nicht mehr reagieren, während freies Alkali diesen gelben Farbstoff roth färbt.

Diesen scheinbaren Ausnahmen gegenüber möchte ich nochmals hervorheben, dass in keinem Falle sich das Protoplasma roth färbte, sondern in jenen Fällen, wo nicht einmal der Zellsaft alkalisch wurde, färbte sich das Protoplasma gar nicht. Aus einem derartigen negativen Befunde ist man aber nicht berechtigt zu schliessen, dass das Protoplasma in einzelnen Fällen sauer reagire.

### § 5. Der Alkaligehalt des Protoplasmas und die Aschenanalysen.

Es bleibt nun noch übrig, unser Resultat, dass das Protoplasma es sei, welches den hervorragenden Theil der Alkalien enthalte, mit den vorhandenen Aschenanalysen zu vergleichen. Wir halten uns dabei an die Thatsache, dass ältere Pflanzentheile geringere Mengen von Protoplasma enthalten als junge Pflanzentheile. Dies lehrt uns schon der mikroskopische Befund, indem das Cytoplasma in den Jugendstadien die ganze Zelle erfüllend, später bei der Zellstreckung sich nicht mehr bedeutend vermehrt, sondern nur mehr einen Wandbelag bildet, der nach und nach, trotzdem die Volumvergrößerung der Zelle aufgehört hat, immer dünner wird. Eine gleiche Substanzabnahme in älteren Zellen konnte ich für den Zellkern nachweisen<sup>2)</sup>. Auch bei den Chlorophyllkörpern tritt beim Erlöschen der Function Verminderung der protoplasmatischen Substanz ein. Da wir bisher nicht zwischen eigentlichem activen Protoplasma und den darin als Nahrungstoff (ähnlich wie Stärke- und Oeleinschlüsse) vorkommenden Eiweisssubstanzen unterscheiden können, so werden Zellen, in denen Ablagerung oder Durchleitung von Eiweissstoffen stattfindet, naturgemäss eine Ausnahmstellung einnehmen und Ausnahmen bilden von der Regel, dass die Menge des Protoplasmas in den Zellen mit dem Alter abnimmt.

Eine Controlle des mikroskopischen Befundes ist uns durch die Menge der stickstoffhaltigen Substanz gegeben, die in älteren nicht zur Aufspeicherung dienenden Zellen resp. Pflanzentheilen abnimmt. Es wäre jedoch falsch, wollte man glauben, die Stickstoffmenge gebe ein genaues Bild der vorhandenen Plasmamenge, es können sehr wohl stickstoffhaltige Substanzen, z. B. Amidosäuren und Amide im Zellsaft vorkommen, trotz geringer Menge von Plasma.

Mit dieser Abnahme des Protoplasmas geht Hand in Hand eine Verminderung des Kaligehalts in der Pflanze und fast immer auch des Phosphor-

1) Centrablatt f. d. medic. Wiss. 1880. No. 51.

2) F. Schwarz, Beitrag zur Entwicklungsgeschichte des pflanzlichen Zellkerns nach der Theilung, in Cohn's Beiträgen zur Biologie der Pflanzen. 1885. Bd. IV, Heft 1, p. 79 ff.

gehaltenes<sup>1)</sup>), während die Quantität des Kalks mit dem Alter zunimmt. Die uns zu Gebote stehenden Aschenanalysen, hauptsächlich von land- und forstwirtschaftlichen Pflanzen herrührend, geben uns nur theilweise genaue Werthe für den Aschengehalt der ganzen Zelle.

Betrachten wir zunächst die Aschenanalysen von ganzen Pflanzen oder von Pflanzentheilen, welche zugleich fortwachsende und ausgewachsene Zonen in verschiedenen Entwicklungsstadien enthalten. Hier wird die absolute Menge des Kalis im Allgemeinen mit dem Alter zunehmen, zu gleicher Zeit nimmt die Zahl der Zellen zu, das Kali vertheilt sich also auf eine grössere Anzahl derselben. Die absolute Kalizunahme beweist uns also nichts. Ebenso wenig hilft es uns die Kalimenge auf die Trockensubstanz zu beziehen, da die Trockensubstanz variabel ist, meist sogar zunehmen wird. So würde z. B. bei gleichbleibendem Kaligehalt eines Pflanzentheils durch die Vermehrung der Cellulose (ergo auch des Trockengewichts) an den relativen Zahlen eine Kaliabnahme zu constatiren sein, während in Wirklichkeit die Kalimenge gleich blieb. Es bleibt also nichts anderes übrig, als dass wir uns an die procentische Zusammensetzung der Asche halten. Hier weisen jüngere Pflanzen und Pflanzentheile fast durchwegs einen grösseren Kaligehalt auf als ältere Pflanzentheile. Je jünger ein Pflanzentheil ist, desto mehr überwiegen die jüngeren noch plasmareichen Zellen über die nicht mehr theilungsfähigen älteren Zellen. Nur dort, wo die Protoplasmamassen einen relativ grossen Procentsatz der Gesamttrockensubstanz ausmachen, nimmt das Kali in der Reihe der anorganischen Bestandtheile die erste Stelle ein.

Untersuchen wir Wurzeln oder Stengeltheile, so finden wir in der Asche nicht nur das Kali, welches gewissermaassen zur Constitution des Protoplasmas gehört, sondern auch die Kalisalze, welche aus dem Boden aufgenommen und erst zu den wachsenden Organen hingeleitet werden; hier sowie bei der Ansammlung von Salzen in Dauergewebe kann eine Steigerung des Kaligehaltes beobachtet werden, ohne dass die Protoplasmamenge vermehrt ist. Dieser Fehler fällt weg bei der Asche von Blättern und deshalb liefern die Aschenanalysen dieser Organe den besten Beweis dafür, dass analog der Verminderung des Protoplasmas eine Verminderung des Kaligehaltes stattfindet. Zu gleicher Zeit sehen wir bis zum Wachsthummaximum der Blätter auch die absolute Menge des Kaligehaltes steigen.

Es sei mir gestattet einige eclatante Beispiele aus der Litteratur in meine Arbeit aufzunehmen, welche sich auf den Aschen- und Proteingehalt von Blättern beziehen. Hinsichtlich der übrigen Angaben verweise ich auf die Litteratur, von welcher in der Anmerkung<sup>2)</sup> einiges citirt ist.

1) Der Phosphorgehalt ist für gewisse Proteinstoffe, z. B. die Nucleine, typisch, daneben finden sich in der Zelle auch Phosphate vor, demnach stammt der Phosphorgehalt der Asche aus verschiedenen Quellen.

2) Wenn nicht das Gegentheil bemerkt ist, handelt es sich im Folgenden um die procentische Zusammensetzung der Reinasche.

R. Arndt. Stengel, Blätter und Aehren von *Avena sativa*. Landw. Versuchsst.

Das erste Beispiel entnehme ich einer Untersuchung von L. Rissmüller<sup>1)</sup> über den Stoffwechsel in Buchenblättern während verschiedener Perioden; die hier als Proteinkörper bezeichneten Substanzen dienen uns zur Abschätzung der vorhandenen Protoplasmamengen.

1859. Bd. I. p. 31. Für die drei untersten Stengeltheile ist die übrige Aschen- substanz ausser Kali so gering, und die absolute Menge derselben nimmt in den älteren Perioden so bedeutend ab, dass der relative Mehrgehalt an Kali in älteren Stengeln nichts beweist, sonst normal.

Hugo Schulz. Zur Kenntniss der Cichorie. Landw. Versuchsstationen. 1867. Bd. IX. p. 203. In der Asche der Wurzel und der Blätter nimmt die procentische Kalimenge mit dem Alter ab. Die Phosphorsäuremenge steigt in den Wurzelsalzen, bleibt constant in den Blattsalzen.

J. Fittbogen. Untersuchung der *Seradella* in drei Perioden des Wachstums. Centralblatt für Agriculturchemie. 1874. Bd. V. p. 283. Da nur die ganze Pflanze untersucht wurde, tritt ein Resultat nicht so klar hervor.

R. Heinrich. Preuss. Landw. Annalen. Bd. 57, p. 31—49. Wolffs Aschen- analysen 1870—80, p. 5. Weizenkörner vom 18. Juli bis 23. August. Kalimenge nimmt ab mit dem Alter. Phosphorsäure anfangs steigend, dann constant.

J. Fittbogen. Landw. Versuchsst. 1871, Bd. XIII, p. 81. Wolffs Aschen- analysen 1870—80, p. 12. An oberirdischen Theilen und den Wurzeln normale Ab- nahme von Kali und Phosphorsäure, ausser einer Steigerung von  $P_2O_5$  bei der Bildung der Körner.

J. Rouf. Annales Agronomiques par Deherain. 1879, t. V, p. 283. Wolff l. c. p. 20. Zuckerrohr, ganze Pflanze. — Schwankende Werthe.

M. Siewert. Jahresb. für Agriculturchemie für 1870—72. Wolff l. c. p. 37. Untersucht sind von *Lupinus luteus* Stengel, Blätter, leere Schoten, Körner, überall Abnahme der Kalimenge mit vorgeschrittener Reife. Die Phosphormenge steigt bei den Körnern, sonst normal.

R. Pott. Sammlung physiologischer Abhandlungen von W. Preyer. Wolff l. c. p. 51. Beim Savoyerkohl *Brassica oleracea* var. *bullata* und beim Weisskohl *Br. oleracea* var. *capitata alba* zeigen die inneren Herzblätter mehr Kali und Phosphor- säure, als die äusseren älteren Blätter.

L. Dulk. Landw. Versuchsstat. 1875, Bd. XVIII, p. 192. Wolff l. c. p. 74. An Buchenblättern wurden die Angaben von L. Rissmüller ebendasselbst 1874 Bd. XVII, p. 17, bestätigt.

L. Dulk. Landw. Versuchsstat. 1875, Bd. XVIII, p. 177. Wolff l. c. p. 92. *Pinus abies*, Rothtanne. 1—4jährige Saatschulpflanzen. Abnahme von Kali und Phosphorsäure zu constatiren, aber nicht bedeutend.

Ausser den hier angeführten Untersuchungen vergleiche man noch Pfeffer, Pflanzenphysiologie. Bd. I, 1881, p. 329 und p. 258.

1) Landw. Versuchsstationen. 1874. Bd. XVII. pag. 17—31.

**Fagus sylvatica.**

	1000 Stück frischer Buchenblätter gaben in gr:						100 Th. Asche gaben:		
	Trocken- substanz.	Protein- körper.	Asche.	K <sub>2</sub> O	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	Ca O	K <sub>2</sub> O	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	Ca O
Mai . . . . .	53,22	13,05	2,48	0,77	0,53	0,36	<b>31,23</b>	<b>21,27</b>	14,96
Juni . . . . .	106,76	20,21	5,55	1,20	0,46	1,38	21,74	8,43	24,25
Juli . . . . .	<b>145,36</b>	<b>28,07</b>	10,82	<b>1,28</b>	0,56	3,02	11,85	5,24	27,82
August . . . .	134,90	24,02	12,18	1,19	<b>0,66</b>	3,90	9,81	4,53	32,08
September. . .	121,56	17,39	10,81	1,14	0,45	3,26	10,53	4,24	30,37
October . . . .	105,67	12,68	<b>14,41</b>	0,87	0,36	3,57	7,67	3,22	31,29
November . . .	112,16	8,76	12,80	0,74	0,14	<b>4,21</b>	5,78	1,08	<b>32,95</b>

**Englisches Raigras.**

Nach R. Deetz in Hennebergs Journal für Landwirthschaft. 1873, p. 57  
(Wolffs Aschenanalysen. 1870—80, p. 23.)

	1000 Stück Pflanzen enthielten (ohne Wurzeln) in gr:						100 Th. Asche enthielten:		
	Trocken- substanz.	Protein- körper.	Asche.	K <sub>2</sub> O	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	Ca O	K <sub>2</sub> O	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	Ca O
6. Mai . . . . .	5,54	1,54	0,64	0,28	0,069	0,097	44,25	<b>10,79</b>	15,15
26. Mai . . . .	20,35	3,25	2,61	1,35	0,22	0,29	<b>51,95</b>	8,41	11,44
10. Juni . . . .	74,84	11,09	8,46	3,69	0,80	0,97	43,66	9,51	11,54
24. Juni . . . .	98,85	12,64	11,05	4,42	1,07	1,09	40,05	9,73	9,95
10. Juli . . . .	159,25	19,06	20,87	7,62	1,79	2,15	36,52	8,61	10,31
22. Juli . . . .	214,30	<b>26,72</b>	<b>27,18</b>	<b>8,91</b>	<b>2,33</b>	3,09	32,81	8,60	11,39
5. August . . .	238,70	18,62	26,97	7,32	2,32	<b>3,31</b>	27,14	8,61	12,29

**Pinus silvestris** 1), verschieden alte Nadeln.

	In 100 Th. Asche			In 1000 Th. Trockensubstanz
	K <sub>2</sub> O	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	Ca O	Reinasche:
1jährig . . . .	38,59	24,82	13,84	20,83
2jährig . . . .	25,14	13,75	26,27	15,58
3jährig . . . .	21,64	12,27	31,90	18,47
4jährig . . . .	17,97	9,22	36,54	20,82

1) L. Dulk in Biedermanns Centrallbl. f. Agriculturchemie. Bd. X. 1876. p. 124.

**Robinia pseudacazia und Prunus avium<sup>1)</sup>.**

	In 100 Th. Asche			In 100 Th. Trockensubstanz
	K <sub>2</sub> O	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	Ca O	Asche :
Robinia 2. Mai . .	30,60	21,16	20,82	6,25
= 3. Juli . .	19,20	8,69	48,64	7,75
= 7. September	6,62	5,31	72,97	8,22
= 13. October .	3,25	1,90	72,00	11,74
Prunus 28.—29. April	32,78	15,80	30,57	7,80
= 3. Juli . .	17,80	8,20	38,06	7,30
= 7. September	12,15	5,93	44,70	6,39
= 2. October .	11,82	3,81	44,05	7,24

Aus den hier angegebenen Zahlen, sowie aus der pag. 27. u. 28 Anmerkung angegebenen Litteratur ersehen wir, dass das Maximum des Stickstoffgehaltes respective des Gehaltes an Proteinstoffen mit dem Maximum des Kaligehaltes (durch fetten Druck markirt) zusammenfällt, sobald wir die absoluten Werthe vergleichen. Mit der Abnahme des Proteingehaltes erfolgt auch eine Abnahme des Kaligehaltes. Es ist dabei aber nicht nothwendig, nicht einmal wahrscheinlich, dass sich ein constantes Verhältniss zwischen beiden verfolgen lässt, indem ja das Kali in der Pflanze noch anderweitige Verwendung haben kann, z. B. zur Bindung der organischen Säuren. Bei den auf 100 Theile Reinasche bezogenen Werthen finden wir die Kalimenge in den jüngsten Theilen relativ am grössten. Es hängt dies damit zusammen, dass je jünger ein Pflanzentheil ist, desto mehr die noch theilungsfähigen plasmareichen Zellen die ausgewachsenen Zellen überwiegen, in denen die Kalimenge abnimmt.

In vielen Fällen läuft der Ab- und Zunahme des Kalis eine Ab- und Zunahme der Phosphorsäuremenge parallel; doch ist dies nicht immer der Fall. Die Phosphorsäuremenge kann constant bleiben oder wie dies in den Samen der Fall ist, sie kann sogar zunehmen, während die Kalimenge abnimmt. Es scheint mir dies dadurch erklärt zu sein, dass wenigstens nicht die ganze Phosphorsäuremenge an das Kali gebunden ist. Ein Theil der Phosphorsäure in der Asche stammt von den sehr phosphorreichen Nucleinen her, die wie es scheint mit dem Alter der Zellen nicht in gleichem Maasse sich verändern wie die anderen Proteinkörper. Kossel<sup>2)</sup> gibt in

<sup>1)</sup> P. Fliche et L. Grandeau Recherches chimiques sur la Composition des feuilles. Annales de Chimie et de Physique. 1876. Serie 5. Tome VIII. p. 486. (Wolff, l. c. p. 84). — Dieselben Resultate erhielten Fliche und Grandeau bei der Untersuchung der Blätter von *Betula alba* und *Castanea vulgaris* Lam.

<sup>2)</sup> Zeitschrift f. Physiologische Chemie v. Hoppe-Seyler. 1882. Bd. 7, p. 7 ff.

seinen Untersuchungen „zur Chemie des Zellkerns“ eine Methode an, um getrennt die Menge der Phosphate und die in organischen Verbindungen (Nuclein, Lecithin) enthaltene Phosphorsäure zu bestimmen. Das Nuclein kommt hauptsächlich vor in jenen Organen, welchen wir Ernährungs- und Neubildungsprocesse zuschreiben, aber die Nucleinphosphorsäure wird während des Hungers den Organen weniger leicht entzogen als die übrigen Phosphorsäureverbindungen. Diese von Kossel zunächst für thierische Gewebe festgestellte Thatsache würde uns erklären — die Analogie der chemischen Vorgänge in den Pflanzen vorausgesetzt — warum die Kali- und Phosphorsäuremenge sich theilweise verschieden verhalten.

Der Zweck dieser ganzen Auseinandersetzung ist erstens, die Bedeutung des Kalis und der Phosphorsäure für die Bildung des Protoplasmas in's richtige Licht zu setzen, zweitens der von Liebig ausgesprochenen, von Adolf Mayer<sup>1)</sup>, Nobbe<sup>2)</sup> und Ebermayer<sup>3)</sup> acceptirten Ansicht entgegen zu treten, dass das Kali hauptsächlich zur Translocation der Kohlenhydrate diene. Indem man in den meisten Pflanzen diastatische Fermente nachweisen konnte, ist es mehr als wahrscheinlich geworden, dass die Kohlenhydrate als Glycose wandern. Bei diesem fermentativen Process spielt das Kali keine Rolle. Auf die Nichtigkeit der Annahme, dass das Kali zur Translocation der Kohlenhydrate diene, hat schon Pfeffer in seiner Pflanzenphysiologie, Bd. I, p. 259, hingewiesen. Aber auch der Vergleich der Aschenanalysen von Blättern, Stengel- und Wurzeltheilen, sowie von Samen zeigt uns aufs Deutlichste, dass ein derartiger Zusammenhang nicht besteht. Sonst müssten ja die Blätter, als die eigentlichen Productionsheerde der Stärke, wo täglich grosse Quantitäten von Stärke auswandern, die relativ kalireichsten Organe sein, dies ist aber nicht der Fall.

Hierfür einige Zahlen. Der Kaligehalt der Asche von Maispflanzen beträgt nach A. Leclerc<sup>4)</sup> für

Stengel . . . . .	55,30 %.
Blätter . . . . .	20,43 "
weibliche Blütenstände	40,40 "
männliche Blütenstände	32,67 "

Kaligehalt der gelben Lupinen im halbreifen Zustand nach O. Kellner<sup>5)</sup>:

Stengel . . . . .	41,62 %.
Blätter . . . . .	16,70 "
leere Schoten . . . . .	57,02 "
Körner . . . . .	31,23 "

1) A. Mayer, Lehrbuch der Agriculturchemie. 1. Aufl. 1871. p. 255.

2) Nobbe, Schröder u. Erdmann. Die organische Leistung des Kalium in der Pflanze. Chemnitz 1871.

3) Ebermayer, Physiologische Chemie der Pflanzen. Bd. 1. 1882. p. 770.

4) Centralblatt für Agriculturchemie. 1878. p. 288.

5) Wolffs Aschenanalysen. 1870—80. p. 36.

Kaligehalt der Futter-Runkelrübe, *Beta vulgaris*, nach H. Habedank<sup>1)</sup>:

Rüben in ungedüngtem Boden . . .	38,33 %.
Boden mit schwefelsaurem Kali gedüngt	44,32 =
Blätter, Boden ungedüngt . . . . .	16,30 =
Boden mit schwefelsaurem Kali gedüngt	34,96 =

Dieselben Resultate lieferten die Aschenanalysen verschiedener Tabaksorten (Wolff l. c. p. 54), von Hopfen (Wolff l. c. p. 54) und anderer Pflanzen. Der Kaligehalt der Blätter bleibt immer hinter dem der Stengeltheile und mit wenigen Ausnahmen auch hinter dem der Wurzeln zurück. Es ist mir daher nicht verständlich, wieso Ebermayer<sup>2)</sup> die Blätter als die kalireichsten Organe der Pflanzen bezeichnen konnte.

## § 6. Durch welche Verbindung wird die alkalische Reaction des Protoplasmas hervorgerufen?

Die hier gestellte Frage exact zu beantworten, ist derzeit nicht möglich, wir können nur gewisse Stoffe und Verbindungen ausschliessen, die Möglichkeiten nach der einen oder anderen Seite hin abwägen, aber ein positives Resultat lässt sich noch nicht mit Sicherheit feststellen. Trotzdem, hoffe ich, werden die folgenden Betrachtungen zur Klärung der Frage beitragen.

Schon Liebig<sup>3)</sup> hat auf den Zusammenhang der phosphorsauren Alkalien und Erden mit den Eiweisskörpern hingewiesen. Er hält sich dabei hauptsächlich an die Zusammensetzung der Asche und den Nachweis von phosphorsauren Salzen in Pflanzenausziügen, ohne uns darüber aufzuklären, ob die phosphorsauren Salze auch in der lebenden Pflanze als Lösung vorkommen, oder ob directe Verbindungen mit den Eiweisskörpern vorliegen. Rochleder<sup>4)</sup> ist auf anderem Wege zu denselben Schlussfolgerungen gekommen. Er hat gezeigt, dass das aus Pflanzen dargestellte Legumin in Wasser unlöslich ist, während es in phosphorsaurem Natron (wohl  $\text{Na}_2 \text{HPO}_4$ ) löslich ist, und ferner, dass Eiweissstoffe sich nur bilden, wenn der Pflanze phosphorsaure Alkalien zu Gebote stehen. Dabei nimmt Rochleder eine directe Verbindung der phosphorsauren Alkalien mit den Eiweisskörpern an, analog wie Kali oder Natron sich auch verbinden, ohne jedoch diese Ansicht näher zu begründen.

Im Allgemeinen wurden diese Ansichten acceptirt, wir finden jedoch auch eine andere Auffassung, der in neuerer Zeit von Reinke<sup>5)</sup> Ausdruck gegeben wurde. Er fand nämlich, dass das Protoplasma von *Aethalium septicum* in ein verschlossenes Glasgefäss gebracht, die darüber stehende Atmosphäre mit Ammoniak oder Ammoniumcarbonat erfüllt, wodurch nach

1) Wolffs Aschenanalysen l. c. p. 43.

2) l. c. p. 771.

3) Die Chemie in ihrer Anwendung auf Agricultur u. Physiologie. Bd. I. p. 201.

4) Phytochemie. 1854. p. 337.

5) Studien über das Protoplasma. 1881. I. p. 8.

seiner Ansicht die alkalische Reaction des Protoplasmas hinlänglich erklärt wird. Ich muss gestehen, dass ich diese eine Beobachtung nicht für ausreichend halte, findet doch auch beim thierischen Organismus Ausscheidung von Ammoniak statt, ohne dass man deshalb annehmen kann, das Protoplasma derselben sei durch Ammoniak alkalisch gemacht. Da ich Schimmelpilze nicht selbst untersucht habe, verzichte ich auf eine weitere Auseinandersetzung, möchte aber constatiren, dass bei den von mir untersuchten höheren Pflanzen weder Ammoniak noch eine Ammoniakverbindung die alkalische Reaction des Protoplasmas bedingen.

Es ist bekannt, dass Ammoniak überhaupt von lebendem Protoplasma nicht festgehalten wird, sondern ungehindert in den Zellsaft hineindiffundirt und ebenso leicht wieder durch reines Wasser ausgewaschen werden kann, ohne dass das Leben der Zelle leidet. Man erkennt dies mit Leichtigkeit an Zellen mit rothem Zellsaft, der kurze Zeit nach dem Einlegen in sehr verdünntes Ammoniak sich blau färbt; bringt man die Zellen wieder in reines Wasser, so verschwindet das Ammoniak aus der Zelle, der Zellsaft wird wieder roth. Das Ammoniak diffundirt immer in die ammoniakärmere Flüssigkeit, gleichgültig, ob dieselbe durch Zusatz von Zucker osmotisch stärker wirksam gemacht wird als der Zellsaft, oder ob die Aussenflüssigkeit osmotisch weniger wirksam ist. Ein Körper, der in so geringem Grade vom Protoplasma angezogen wird, kann nicht die Ursache der alkalischen Reaction sein, denn auch nach langem Liegen der Zellen in Wasser behält das Protoplasma seine Reaction. Gegen die Anwesenheit ammoniakalischer Salze spricht die Thatsache, dass junge plasmareiche Pflanzentheile<sup>1)</sup> mit Kalkwasser gekocht, niemals Ammoniak ausscheiden. Wenn der aus älteren Pflanzentheilen ausgepresste Saft, wie z. B. bei der Zuckerrübe, mit Kalkwasser gekocht, viel Ammoniak abgibt, so stammt dies nicht von Ammoniaksalzen, sondern von der Zersetzung der im Zellsaft gelösten Amide und Amidosäuren, wie z. B. von Asparagin und Asparaginsäure. Zum weiteren Beweise könnte man auch noch die Untersuchung von E. Zacharias<sup>1)</sup> „Ueber den Inhalt der Siebröhren von *Cucurbita Pepo*“ heranziehen, da ja der Siebröhreninhalt sich im Grossen und Ganzen analog verhält wie das Protoplasma. Nach Zacharias bleiben die klaren Flecken, welche der Gefässbündelinhalt auf Reagenzpapier zurücklässt, auch nach starkem Austrocknen und Erwärmen desselben, erhalten. Zweitens setzt man auf einen frischen Schnitt einen Tropfen Molybdänphosphorsäure, so entsteht auf jedem Gefässbündel eine kleine weisse Kruste; wäre Ammoniak zugegen, so würde diese gelb sein. Jenes Reagens auf eine dünne Schicht Kali gesetzt, welche man auf Glas ausgebreitet hat, gibt eine analoge weisse Haut.

Nach alledem ist es also ziemlich sicher, dass die Alkalinität des Proto-

<sup>1)</sup> Botanische Zeitung. 1884. p. 65.

plasmas nicht durch Ammoniak oder Ammoniakverbindungen hervorgerufen wird.

Auf den Zusammenhang des Protoplasmas mit dem Alkali- und Phosphorsäuregehalt der Pflanzenasche habe ich schon im § 5 hingewiesen, die dort betonten Thatsachen führen uns entschieden darauf hin, in diesen beiden Stoffen die Ursache der Protoplasmareaction zu suchen, wie dies ja auch von früheren Autoren geschehen ist. Auf Natronsalze braucht man keine Rücksicht zu nehmen, sie sind ja für die Pflanze nicht nothwendig, sie können das Kali vielleicht im Zellsaft bei der Bindung organischer Säuren vertreten, im Protoplasma jedenfalls nicht.

Kalksalze werden bei der alkalischen Reaction des Plasmas nicht mitwirken, sie müssten denn direct mit den Eiweisskörpern verbunden sein. In diesem Falle ist es allerdings möglich, dass eine gelöste Kalkverbindung vorhanden wäre, trotz der alkalischen Reaction, sonst sind ja die hier zunächst in Betracht zu ziehenden Kalksalze, wie phosphorsaurer Kalk, kohlsaure Kalk, nicht löslich. Wenn ich demnach die Gegenwart einer Kalkproteinverbindung nicht ausschliessen will, so glaube ich doch nicht, dass dieselbe die alkalische Reaction bedinge, indem ja der Kalk in den plasmareichsten jungen Theilen nur eine untergeordnete Rolle spielt, seine Menge erst dann bedeutend zunimmt, wenn die Plasmamenge sich verringert.

Mit Rücksicht darauf, dass Kali und eventuell Phosphorsäure die Plasma-reaction verursachen, könnte dies in verschiedener Weise geschehen. Erstens, im Plasma befände sich der die Alkalinität desselben bedingende Körper in Lösung oder, richtiger gesagt, das gequollene Protoplasma wird von der alkalischen Lösung durchtränkt. Dabei könnte man an freies Kali oder Di- oder Trikaliumphosphat oder an irgend ein anderes alkalisch reagirendes Kalisalz ( $\text{K}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{K}\text{HCO}_3$ ) denken. Zweitens, der betreffende Körper ist an die Proteinkörper des Plasmas gebunden. Auch hier kann entweder eine einfache Kaliverbindung vorliegen, wobei die Phosphorsäure auf bestimmte Proteinkörper, z. B. die Nucleine, beschränkt bliebe, oder es kann ein alkalisches Phosphat in die Proteinverbindung eintreten.

Wichtig für die Erörterung dieser Frage ist die Thatsache, dass das Protoplasma mit Kohlensäure gesättigt sein muss, denn bei der Athmung wird aus der Zelle Kohlensäure ausgeschieden, was nur möglich ist, wenn die im Protoplasma befindliche Flüssigkeit mit diesem Gase gesättigt ist.

Eine derartige Sättigung mit  $\text{CO}_2$  schliesst schon von vornherein freies Alkali aus, denn dasselbe würde alsbald in kohlsaures Kali verwandelt sein. Die Abwesenheit von freiem Kali ist aber noch durch andere Versuche zu constatiren. Zunächst durch die Färbung mit Tropaeolin 000 No. 1<sup>1)</sup>, einem Benzolfarbstoff (Kaliumsalz der Phenylamidoazobenzolsulfonsäure), der durch freies Alkali sich carminroth färbt, während er bei neutraler Reaction orangefarben ist. Bei Zusatz von  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , welches

1) Bezogen aus der Chem. Fabrik von Schuchardt in Görlitz.

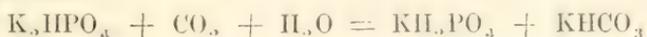
Lakmüstinctur blau färbt, verändert er seine Orangefarbe nur wenig. In ähnlicher Weise reagiren die im Handel vorkommenden Farbstoffe Tropaeolin 000 No. 2 und Tropaeolin R. Die beiden letzteren sind im neutralen Zustande citronengelb, welche Farbe sich durch  $K_2CO_3$  nur wenig, durch  $Na_2HPO_4$  und  $K_2HPO_4$  gar nicht verändert, während Zusatz von sehr verdünnter Kalilauge oder von Ammoniak sie rothorange färbt.

Durch diese Farbstoffe liess sich mit Sicherheit nachweisen, dass kein freies Alkali im Protoplasma vorhanden ist, weder beim Absterben der Zellen in der Farbstofflösung, noch beim Töden durch Druck, Alcohol oder durch den electricischen Strom. In derselben Weise wie freies Kali wirkt das neutrale phosphorsaure Kalium  $K_3PO_4$  (reagirt stark alkalisch auf Lakmus) auf die Farbstoffe ein, es fehlt demnach ebenfalls im Protoplasma.

Gegen das Vorhandensein von kohlensaurem Kali oder doppeltkohlensaurem Kali spricht die Einwirkung von Salzsäure auf das Protoplasma. Ich prüfte die verschiedenartigsten Zellen, konnte aber niemals, gleichviel ob ich sehr verdünnte oder concentrirte Salzsäure einwirken liess, Kohlensäureentwicklung aus dem Plasma beobachten. Bei Anwesenheit von kohlensaurem Kalk tritt dieselbe natürlich ein.

Da die neutral reagirenden Kalisalze eo ipso ausgeschlossen sind, bleibt nur noch Dikaliumphosphat zu berücksichtigen. Die Tropaeolin-Reaction gibt uns keine Entscheidung, denn unter dem Mikroskope ist es unmöglich, solch geringe Farbendifferenzen zu erkennen, wie sie durch das  $K_2HPO_4$  hervorgerufen werden. Schon bei intensiver Tingirung des Protoplasmas ist die Farbe eine andere als bei schwacher Färbung, eine Entscheidung daher, ob das Plasma orange oder rothorange gefärbt ist, bleibt unmöglich.

Auf den Kohlfarbstoff dagegen wirkt  $K_2HPO_4$  ganz in derselben Weise ein wie das Protoplasma, es färbt ihn in geringerer Menge blau, bei stärkerem Zusatz blaugrün. Diese Färbung würde also für die Anwesenheit dieses Salzes sprechen, während das Monokaliumphosphat ( $KH_2PO_4$ ) den Kohlfarbstoff röthet, also im Plasma für gewöhnlich nicht vorkommen kann. Wie verhält sich  $K_2HPO_4$  aber gegen Sättigung mit Kohlensäure? Dieses Salz absorhirt  $CO_2$  sehr stark und wird durch Ueberschuss von  $CO_2$  zersetzt. Es bildet sich das doppeltsaure phosphorsaure Kali und kohlensaures Kali nach der Formel:



Die saure Reaction des Monokaliumphosphats wird durch die schwach alkalische des Kalihydrocarbonats compensirt werden, ein derartiges Gemenge könnte demnach keine so stark alkalische Reaction hervorrufen, wie wir dies am pflanzlichen Protoplasma beobachten konnten.

Die hier angegebene Umsetzung würde nur dann vollständige Gültigkeit haben, wenn die Phosphate im Protoplasma in Lösung vorhanden wären. Da aber diese Umsetzungen wegen der relativ starken Alkalinität des Protoplasmas sehr unwahrscheinlich sind, scheint es mir den Verhältnissen besser zu entsprechen, wenn wir eine chemische Bindung zwischen Alkali und Pro-

teinkörpern annehmen. Eine derartige Verbindung muss durch  $\text{CO}_2$  nicht zersetzt werden, wie dies bei den in Lösung befindlichen Phosphaten stattfindet. Diese Verbindung kann aber auf Indicatoren sehr wohl alkalisch wirken.

Bevor ich zur Frage übergehe, welcher Körper mit den Proteinstoffen verbunden ist, möchte ich für die Bindung überhaupt noch einige Thatsachen geltend machen.

Es ist bekannt, dass sich Eiweissstoffe — Albumine und Globuline — leicht mit Alkalien zu Alkalialbuminaten verbinden, die unter gewissen Umständen eine ähnliche gallertige Beschaffenheit haben können wie das Protoplasma. Ferner sind Eiweissverbindungen mit Kalk und Magnesia dargestellt. Die Möglichkeit einer analogen Bindung im Protoplasma liegt also vor. Ferner ist zu berücksichtigen, in welch' hohem Grade die Alkalien vom Protoplasma festgehalten werden. Schon die Constanz der sauren Zellsaftreaction in lebenden Pflanzen beweist uns, dass die Alkalien aus dem Protoplasma nur sehr schwer in den Zellsaft diffundiren. Ein gelöstes Salz würde aber viel leichter diffusibel sein, als das an Proteinkörper gebundene Alkali. Selbst in den mit Wasser ausgekochten Pflanzentheilen bleibt noch eine ziemliche Menge von Kali zurück, wofür ich folgende Zahlen anführen kann, die ich einer Untersuchung von E. Spiess<sup>1)</sup> entnehme.

Ausgekochter Hopfen enthielt in 100 Theilen Reinasche 15,02%  $\text{K}_2\text{O}$ , während die unausgekochte Pflanze 24,46% enthält. (In den Blättern<sup>2)</sup> 19,16%, im Stengel 34,54%, in den Blütenständen 38,66%.) Ferner kann man dünne Schnitte aus Pflanzentheilen tagelang in Wasser liegen lassen und trotzdem bleibt die alkalische Reaction erhalten.

Absolut beweisend sind diese Thatsachen nicht, denn es kann sich hier vielleicht auch um eine einfache moleculare Zwischenlagerung der Alkalien handeln ohne chemische Bindung. Die Beobachtung, dass bei in Zuckerlösung liegenden Schnitten vor dem vollständigen Absterben Alkali in den Zellsaft diffundirt, kann verschieden erklärt werden, entweder ist die Verbindung des Alkali mit dem Proteinkörper aufgehoben, das erstere diffusionsfähig gemacht oder das dem Tode entgegengehende Plasma besitzt eine geringere Anziehungskraft für die Alkalien.

Bemerkenswerth wäre noch der Unterschied in der Stärke der Färbung, je nachdem man die Zellen durch Alkohol oder durch einen stärkeren Inductionsstrom tödtet. Bei den mit Alkohol fixirten Präparaten ist die Färbung immer geringer, niemals konnte ich beobachten, dass sie bis zum blaugrün anstieg, ebenso färben sich Zellen, die durch schwache Inductionsströme getödtet sind, weniger stark alkalisch, als wenn man stärkere Ströme längere Zeit einwirken lässt. An einzelnen Pflanzen ist dies besonders gut zu beobachten, z. B. bei den Blüten von *Iris pumila*, die sich bei schwachen

1) Centralblatt f. Agriculturchemie. 1873. Bd. III. p. 375. Wolffs Aschenanalysen. 1870—80. p. 54.

2) Nach G. Hirzel, Centralblatt f. Agric. 1872. Bd. I. p. 231.

Strömen oder bei Alkoholwirkung violett, bei stärkeren Strömen blau färben. Bei alten Zellen des Blattstiels von *Rumex lamatus* kann man Aehnliches beobachten. Am leichtesten wird dies erklärt durch die Annahme, dass der elektrische Strom die Protein-Kaliverbindung in bestimmten Fällen trennen kann und dass dies nun frei gewordene Kali oder Kalisalz stärker auf den Farbstoff einwirkt, als wenn es noch an einen Eiweisskörper gebunden ist.

Schliesslich möchte ich noch auf eine allerdings vereinzelt gebliebene Beobachtung aufmerksam machen, die sich nur erklären lässt, wenn man zwischen Alkali und Proteinkörper eine Bindung annimmt. Tödtet man blaue Hyacinthenblüthen mit Essigsäure, so färben sich die Kerne nicht etwa roth, sondern doch noch blau, auch wenn man eine 50%tige oder noch concentrirtere Essigsäure angewendet hat. Das Cytoplasma quillt und färbt sich deshalb gar nicht. Wäre das Kali in diesem Falle nicht mit Proteinkörpern verbunden, so müsste es neutralisirt werden, was jedoch nicht geschieht. Auch frei in der Essigsäure liegende Kerne zeigen Blaufärbung, wobei die Möglichkeit ausgeschlossen war, dass der in den Zellen vorhandene Schleim die Kerne vor einer Berührung mit der Essigsäure geschützt hätte.

Wenn die einzelnen Thatsachen für sich nicht vollständig beweisend sind, so muss man doch zugestehen, dass sie in ihrer Gesamtheit unsere Annahme wahrscheinlich machen, das Alkali sei in der lebenden Pflanze an die Proteinkörper gebunden.

Die aus Pflanzen bisher dargestellten Proteinkörper enthalten nur theilweise Phosphor. Es wäre daher ganz gut denkbar, dass diejenigen, welche keinen Phosphor enthalten, in der Pflanze als einfache Kaliverbindungen vorkämen, während die übrigen Kali und Phosphor resp. Phosphorsäure zugleich in ihrem Moleküle aufweisen. Für derartige Kaliverbindungen sprechen auch die Versuche mit Tropaeolin; da Tropaeolin sich nach den Untersuchungen von Danilewski durch das an bestimmte Eiweisskörper gebundene Kali nicht verändert, wird es leicht begreiflich, wieso wir bei Tropaeolinzusatz keine der Alkalinität des Protoplasmas entsprechende Farbenänderung beobachten konnten.

## Kapitel II.

### Chlorophyllkörper.

#### § 7. Ansichten über die Struktur der Chlorophyllkörper. Eigene Auffassung.

In den letzten Jahren sind eine Reihe von Arbeiten erschienen, welche unsere Kenntniss über die Chlorophyll- und Farbstoff-Körper in mannigfacher Weise bereicherten. Was die morphologischen und entwicklungsgeschichtlichen Gesichtspunkte anbelangt, so ist man wohl bis zu einem gewissen Abschlusse gelangt, während über die feinere Struktur und die chemische Beschaffenheit der Chromatophoren die Akten noch keineswegs geschlossen sind.

Es liegt nicht in meiner Absicht, hier eine genaue historische Uebersicht und kritische Besprechung der ziemlich umfangreichen Litteratur zu geben. Da ich jedoch nach meinen in der Einleitung ausgesprochenen Ansichten die chemische Untersuchung von der morphologischen nicht trennen konnte, seien hier wenigstens die wichtigsten Ergebnisse der bisherigen Untersuchungen über die Struktur angeführt.

Im Grunde genommen stehen sich eigentlich nur zwei verschiedene Ansichten gegenüber, die allerdings durch die einzelnen Autoren mannigfaltige Modificationen erlitten haben. Erstens die Anschauungen von Schmitz und Frommann. Die Chlorophyllkörper zeigen in der unverletzten Zelle eine mehr oder weniger deutliche feine Punktirung, welche, wie sich Schmitz<sup>1)</sup> ausdrückt, „allgemein auf einer sehr feinen Netzstruktur mit zahlreichen mehr oder minder engen Maschenräumen beruht, analog wie bei dem Protoplasma selbst<sup>2)</sup>, das zuweilen deutlich eine derartige Netzstruktur besitzt, vielfach jedoch nur eine Andeutung dieser Struktur in Form einer sehr feinen Punktirung wahrnehmen lässt.“ Diese Auffassung bezieht Schmitz nicht nur auf alle Chromatophoren der Algen, sondern auch auf

---

1) Beiträge zur Kenntniss der Chromatophoren in Pringsheim's Jahrbüchern f. wiss. Botanik. 1881. Bd. XV, p. 173.

2) Cytoplasma in unserem Sinne.

die Chlorophyllkörper der Archegoniaten und Phanerogamen, ohne dass er jedoch die Frage für definitiv erledigt hält.

In ähnlicher Weise äussert sich Frommann<sup>1)</sup>. Nach ihm zeigen die Chlorophyllkörper „eine Differenzirung ihrer Substanz theils zu einzelnen gefärbten Körnchen und kurzen feinen, nur theilweise untereinander und mit den letzteren zusammenhängenden, ebenfalls gefärbten Fäden, theils zu gefärbten geschlossenen Netzen. Die Maschen sind theils rund oder oval, theils rechteckig oder quadratisch, bilden ein zierliches Gitterwerk von straminartigem Aussehen, und wie innerhalb der Protoplasmanetze finden sich auch hier in Netzen mit gleichmässig engen Maschen einzelne Maschen eingestreut, die sich durch ihre grössere Weite und durch die derbere Beschaffenheit und den stärkeren Glanz ihrer Septa vor den übrigen auszeichnen. Im Inneren mancher Chlorophyllkörper finden sich vereinzelt oder zu mehreren, theils derbere Knotenpunkte, theils derbere stärker glänzende, die ersteren zum Theil oder ganz durchsetzende, geradlinig oder etwas bogenförmig verlaufende, glatte oder gekörnte Fäden, die bald nachweislich mit anderen feineren benachbarten sich am Verschluss der unmittelbar angrenzenden Maschen betheiligen, bald nicht. Wo mehrere dieser dickeren längeren Fäden vorhanden sind, verlaufen dieselben ziemlich dicht nebeneinander von einem Pol zum anderen, oder sie sind unregelmässig vertheilt und nach verschiedenen Richtungen hin orientirt, oder sie strahlen radienartig von den centralen Parthien nach der Peripherie aus und in allen Fällen können einzelne derselben noch über die letztere hinausgreifen und sich in die anstossenden ungefärbten Netze einsenken.“

Diese unmittelbare Verbindung der Chlorophyllkörperfibrillen mit den Cytoplasmafibrillen ist eine specielle Annahme Frommanns, welche durch directe Beobachtung wohl schwer zu rechtfertigen sein dürfte, abgesehen davon, dass nach unserer Ansicht das Cytoplasma überhaupt keinen fibrillärgerüstförmigen Aufbau zeigt. Die sonst so vortrefflichen Arbeiten von Schmitz leiden entschieden unter der geringen Anzahl von Abbildungen, wodurch es uns nicht möglich ist eine klare Vorstellung darüber zu gewinnen, wie Schmitz das Fibrillennetz sich denkt. Die Zeichnungen von Frommann<sup>2)</sup> dagegen sind viel zu schematisch und entsprechen überdies nicht seiner, wie wir aus dem oben gegebenen Citat erschen, etwas confusen Beschreibung.

Sowohl Frommann als Schmitz nehmen an, die netzfibrilläre Substanz sei grün gefärbt d. h. die farblose Grundsubstanz ist von der Chlorophylllösung durchtränkt. Die dichteren Knotenpunkte des Netzes erscheinen bei der Beobachtung als dunklere Punkte.

Die Begrenzung der Chlorophyllkörper geschieht nicht durch eine beson-

1) C. Frommann, Beobachtungen über Struktur und Bewegungserscheinungen des Protoplasmas der Pflanzenzellen. 1880. p. 6.

2) l. c. Tafel I.

dere Membran, sondern mehr durch Aneinanderlegen der äussersten Maschenreihe. Wenn auch ein morphologisch differenzirtes hyalines Plasmahäutchen fehlt, so bezeichnet Schmitz<sup>1)</sup> doch die Gegenwart einer der Plasmamembran der Zellsubstanz analogen äussersten Schicht als nicht unwahrscheinlich, wenn auch bisher als nicht sicher nachgewiesen.

Eine wesentlich andere Auffassung von der Struktur der Chlorophyllkörper hat Pringsheim ausgesprochen, seinen Ansichten lassen sich die von Tschirch, Arthur Meyer und A. F. W. Schimper leicht anschliessen. Nach Pringsheim<sup>2)</sup> bildet die feste Grundsubstanz der Chlorophyllkörper, die deren Form bestimmt, ein schwammförmiges Gerüste, welches im normalen Zustande von dem ölartig flüssigen Träger des Farbstoffes und dem Hypochlorin durchtränkt ist. Das schwammförmige Gerüste macht nur den peripherischen Theil des Gebildes aus, so dass die Chlorophyllkörper eigentlich Hohlkörper mit netzartig durchbrochener Hülle darstellen, in deren Innerem die secundären Bildungsprodukte (Stärkeköerner) als fremdartige Einschlüsse abgelagert werden. Wir finden hier also den Farbstoff nicht an die Grundsubstanz gebunden, sondern an einen ölartigen Träger (*Lipochlor* Pringsheim's), welcher die Hohlräume des Gerüstes ausfüllt. Ob das Gerüste im lebenden Chlorophyllkörper selbst gefärbt ist, wird nicht gesagt. Im lebenden Zustande ist von dieser Struktur noch nichts zu sehen, sondern erst nach Behandlung mit Salzsäure, Siedehitze oder concentrirtem Sonnenlicht.

Bei Tschirch<sup>3)</sup>, der ohne Weiteres die Ansichten Pringsheims acceptirt, spielt die Phantasie eine grössere Rolle als die Beobachtung. Eine derartige Oberflächenauskleidung des Schwammgerüstes mit dem Chlorophyllfarbstoff hat Tschirch unmöglich sehen können, auf das von ihm behauptete Bestehen einer Chlorophyllkörpermembran werde ich noch zurückkommen.

Nach Arthur Meyer<sup>4)</sup> bestehen die Chlorophyllkörper aus einer mehr oder weniger farblosen Grundsubstanz und aus dunkelgrünen Körnern oder Kugeln, welche derselben eingelagert sind und die Meyer als „Grana“ bezeichnet. Ob jedes einzelne Granum ausser dem Chlorophyll noch andere Körper enthält, lässt Meyer dahingestellt sein. Der Unterschied zwischen den Ansichten von Pringsheim und Meyer besteht darin, dass Meyer die Chlorophyllkörper nicht für Hohlkugeln, sondern für compacte Körper hält, zweitens haben die Grana Meyers eine regelmässige kuglige Form, während bei Pringsheim der grüne Farbstoff die unregelmässigen Maschen des schwammförmigen Gerüstes erfüllt, drittens verwirft Meyer die Ansichten über Hypochlorin, Lipochlor, auf die ich hier nicht näher einzugehen gedenke, da ich über die Natur des Chlorophyllfarbstoffes keine Untersuchungen ange-

1) Beiträge zur Kenntniss der Chromatophoren. p. 166.

2) Ueber Lichtwirkung und Chlorophyllfunction in der Pflanze. Jahrbücher für wiss. Botanik. Bd. XII. p. 313.

3) Untersuchungen über das Chlorophyll. 1881.

4) Arthur Meyer, Das Chlorophyllkorn. 1883. p. 23.

stellt habe. Das Vorhandensein einer gesonderten sichtbaren Chlorophyllkörpermembran wird von Meyer (l. c. p. 13) ebenso wie von Schmitz bestritten.

Schimper schliesst sich im Grossen und Ganzen den Anschauungen A. Meyers an. Nach ihm bestehen die Chlorophyllkörper<sup>1)</sup> aus einem farblosen Stroma (der Grundsubstanz) mit zahlreichen, von einer grünen, zähflüssigen Substanz erfüllten Vacuolen. Diese Vacuolen sind identisch mit den Grana Meyers, wofür letzteren Ausdruck Schimper acceptirt.

Fragen wir uns nun, wie derartige Differenzen in den Anschauungen zu Tage treten konnten, so liegt die Ursache davon in der verschiedenen Beobachtungsmethode der einzelnen Forscher. Indem A. Meyer und Schimper sich an das unmittelbare Bild der Chlorophyllkörper in der lebenden Zelle halten, schützen sie sich vor zu weit gehenden Schlüssen, vermögen aber nicht tiefer in die Struktureigenthümlichkeiten einzudringen. Uebrigens sieht man bei Weitem nicht an allen Chlorophyllkörnern die Granastruktur und für diese Fälle sind Meyer und Schimper auf Analogieschlüsse angewiesen, oder sie mussten in Consequenz ihrer Anschauung, dass nur die direkt sichtbare Struktur Gültigkeit hat, das Vorhandensein der Grana in diesen Fällen überhaupt leugnen. Im Gegensatz hierzu ist die Auffassung von Schmitz und Frommann vorzüglich auf fixirtes, d. h. durch Fällungsmittel verändertes Material begründet. Im Kap. IV. habe ich darauf hingewiesen, in wie weit derartige Bilder sichere Auskunft über die wahre Struktur liefern. Jedenfalls ist eine Bestätigung durch andere Beobachtungen nothwendig.

Dass die Bilder, welche Pringsheim uns bietet, Kunstproducte sind, werde ich noch im Weitern beweisen.

Was schliesslich meine eigenen Beobachtungen anbelangt, so bin ich zu Resultaten gekommen, welche von den bisherigen Ansichten wesentlich abweichen. Ich beschränkte mich nicht auf eine einzige Methode, sondern suchte durch den Vergleich der mannigfaltigen Bilder, wie sie sich uns bei der Behandlung mit verschiedenen Reagentien ergeben, die wahre Struktur der Chlorophyllkörper zu ergründen; namentlich legte ich Gewicht auf die quellend oder partiell lösend wirkenden Substanzen. Ich bin zur Ueberzeugung gelangt, dass den Chlorophyllkörpern eine Fibrillenstruktur zukommt, die jedoch nicht identisch ist mit der von Schmitz und Frommann beschriebenen. Die Fibrillen bilden keineswegs ein anastomosirendes Netz, an welchem die Knotenpunkte als intensiver gefärbte Körnchen erscheinen, die Fibrillen liegen vielmehr nebeneinander, sind wenig verschlungen, füllen die ganze Masse des Chlorophyllkörpers aus, liegen jedoch im unverletzten Chlorophyllkörper so dicht

<sup>1)</sup> A. F. W. Schimper, Untersuchungen über die Chlorophyllkörper. Jahrbücher f. wiss. Botanik. Bd. XVI. 1885. p. 152.

nebeneinander, dass man ihre Grenzen nicht wahrzunehmen im Stande ist. Sie sind gewissermassen verkittet und mit einander verbunden durch eine Zwischensubstanz, welche sich durch ihre leichtere Quellbarkeit, die in Löslichkeit übergehen kann, auszeichnet. Die Trennung der Fibrillen wird dadurch bewerkstelligt, dass man die Chlorophyllkörper einer geringen Quellung aussetzt, oder indem man durch passende Reagentien eine geringe Schrumpfung der Fibrillen hervorruft und so die Unterscheidung der Strukturelemente möglich macht.

Die Fibrillen sind nun nicht gleichmässig gefärbt, sondern enthalten grüngefärbte Vacuolen resp. Kugeln, welche mit den Grana von A. Meyer identisch sind. Die übrige Fibrillensubstanz ist ebenfalls grüngefärbt, jedoch in geringerem Grade. Die Zwischensubstanz scheint keinen Farbstoff zu enthalten.

Fibrillen und Grundsubstanz sind chemisch differente Proteinkörper, für welche ich die Namen **Chloroplastin** und **Metaxin** vorgeschlagen habe. Eine chemisch und morphologisch differente Membran ist nicht vorhanden, es ist jedoch wahrscheinlich, dass ein sog. Plasmahäutchen die Chlorophyllkörper begrenzt.

Das Resultat dieser Zusammensetzung ist, dass in unverletzten Zellen die Chlorophyllkörper oft das Aussehen haben, als ob im ganzen Gebilde die grünen Kugeln (die Grana) gleichmässig vertheilt in einer homogenen Grundsubstanz lägen. Die Grana werden dann besonders gut sichtbar sein, wenn sie ziemlich gross sind und die Fibrillen relativ weniger Farbstoff enthalten. Sind aber umgekehrt die Fibrillen stark gefärbt, die Grana sehr klein und die Zwischenräume zwischen denselben ebenfalls von geringem Umfang, so werden die Chlorophyllkörper aussehen, als ob sie vollständig homogen wären. Es ist nämlich absolut nicht richtig, dass man die Grana immer an den Chlorophyllkörpern der unverletzten Zelle sehen kann, wie man dies nach den Angaben von Meyer und Schimper vermuthen möchte. In den weitaus meisten Fällen sind die Grana am Chlorophyllkörper der lebenden Zelle nicht sichtbar, sie können aber durch geringe Quellung in Zuckerlösungen passender Concentration sichtbar gemacht werden. Namentlich nimmt die Deutlichkeit der Grana mit dem Alter ab und zwar hauptsächlich an Chlorophyllkörpern, deren Funktion herabgesetzt wird, wie z. B. an Stengeln, tieferliegenden Geweben, an Blüthen, die nur in der Jugend grün gefärbt sind; ich glaube sogar, dass theilweise die Grana ganz verschwinden und einer gleichmässigeren Färbung der Fibrillen Platz machen können. Die Fibrillen dagegen sind auch an den in ihrer Masse sehr reducirten Chlorophyllkörpern noch nachzuweisen. Dort, wo Auflösung derselben stattfindet, wird ihre Substanz von dem Cytoplasma aufgenommen, was nicht

auffallend ist, da ja das Cytoplastin sich von dem Chloroplastin nur sehr wenig unterscheidet. An jungen grünen Hyacinthenblüthen z. B. kann man, wenn sie die grüne Farbe verlieren, noch einige Zeit die Reste der Chloroplastinsubstanz nachweisen, dann verschwindet dieselbe jedoch ganz im Cytoplasma.

Die im Folgenden angegebenen Untersuchungen werden den Beweis für die Richtigkeit meiner Auffassung liefern. Was die chemischen Eigenschaften der Chlorophyllkörper anbelangt, so waren meine Bestrebungen nur auf die Untersuchung der plasmatischen Grundlage gerichtet, da eine Erweiterung unserer Kenntnisse über den Chlorophyllfarbstoff nur auf macrochemischen Wege möglich ist. Dagegen habe ich die Art der Farbstoffvertheilung näher berücksichtigt.

In Bezug auf die chemische Beschaffenheit der protoplasmatischen Grundlage der Chlorophyllkörper lagen schon einige Angaben von E. Zacharias <sup>1)</sup> vor, aus welchen hervorgeht, dass dieselben zum grössten Theil aus einer in Pepsin-Salzsäure unverdaubaren Substanz bestehen; da ich im Folgenden diese Angaben näher berücksichtigt habe, seien dieselben hier nur kurz erwähnt.

Meine Beobachtungen beziehen sich fast ausschliesslich auf Phanerogamen, von Archegoniaten wurden nur wenige berücksichtigt, eine Verallgemeinerung der Resultate in Bezug auf Algen und Archegoniaten bedürfte daher erst weiterer Untersuchungen.

Da ich vielfach Reagentien anwendete, welche die Zellen nicht tölten, war es nothwendig, damit dieselben unmittelbar auf die Chlorophyllkörper wirken konnten, die Beobachtungen an verletzten Zellen zu machen. Wo sich Unterschiede zwischen verletzten und unverletzten Chlorophyllkörpern in angeschnittenen Zellen geltend machten, fand dies besondere Erwähnung.

### § 8. Einwirkung von Wasser auf die Chlorophyllkörper.

Betrachten wir das Verhalten der Chlorophyllkörper in angeschnittenen oder durch Druck verletzten und daher für weiteren Wasserzutritt zugänglich gemachten Zellen, so finden wir, dass durch dieses fast überall ein mehr oder weniger starkes Aufquellen hervorgerufen wird. Ausnahmen hiervon sind sehr selten; ich konnte sie nur bei stärkerem Gerbstoffgehalte der Zellen finden, es unterblieb die Quellung dann ganz, vollständige Lösung habe ich dagegen niemals beobachtet.

Betrachtet man nur die Endstadien der Quellung, wie sie uns an verschiedenen Pflanzen entgegentreten, so könnte man zwei differente Formen der Quellung annehmen, wie dies auch von A. Meyer in seiner Monographie über das Chlorophyllkorn (p. 24) geschehen ist. In dem einen Falle wurden die Chlorophyllkörper in eine gleichmässig trübe Masse verwandelt,

---

<sup>1)</sup> E. Zacharias, Ueber Eiweiss, Nuclein und Plastin. Bot. Zeitung. 1883. p. 213.

im anderen Falle bilden sich Vacuolen, wodurch die Chlorophyllkörper schliesslich zu einem Blasenhaufen werden können. Bei näherer Betrachtung stellt sich jedoch heraus, dass dies nur verschiedene Grade der Quellung sind und dass Nebenumstände darüber entscheiden, ob die Quellung bis zur Vacuolenbildung vorschreitet oder nicht.

Verfolgen wir zunächst die Erscheinungen selbst. Arthur Meyer<sup>1)</sup> beschreibt die erste Form der Quellung als ein Homogenwerden der Chlorophyllkörper, die Grana verschwinden, die Masse wird gleichmässig grün. Er weist auch darauf hin, dass man an den gequollenen Chlorophyllkörpern (seinen Autoplasten) die Einschlüsse besser erkennen kann als im ungequollenen Zustande. Den Zusammenhang zwischen dieser homogenen Quellung und dem Vacuoligwerden aufzuklären ist ihm nicht gelungen.

Im Wesentlichen ist Meyers Beschreibung richtig, nur möchte ich hinzufügen, dass die gequollene Masse immer eine mehr oder weniger unregelmässige Form behält, was auf eine etwas festere Consistenz schliessen lässt, welche dem Streben sich zur Kugelform abzurunden entgegenwirkt. Trotz der Durchsichtigkeit der gequollenen Chlorophyllkörper erhalten sie kein homogenes Aussehen, sie erscheinen vielmehr immer trübe und nur in seltneren Fällen werden sie vollständig homogen. Da schwache Alkalien dasselbe bewirken, ist diese vollständig homogene Quellung vielleicht eine Folge grösseren Kaligehaltes.

Waren vorher die Grana deutlich sichtbar, so kann man bei der Quellung gut verfolgen, wie sich der Farbstoff derselben allmählig vertheilt, die vorher scharf abgegrenzten Contouren der Grana verlieren sich und nur andeutungsweise sind in der gequollenen Masse oft noch dunklere Stellen sichtbar, die von denselben abstammen. Man erhält dann derartige Bilder, wie ich sie auf Taf. I. Fig. 1 (*Fittonia*) und Fig. 22, 23 (*Plectogyne*) abgebildet habe. Bei etwas weiter gehender Quellung können sich auch diese dunkleren Stellen verlieren, wir erhalten dann eine gleichmässig trübe Masse, wie sie uns das Chlorophyllkorn von *Ruscus aculeatus* (Taf. I, Fig. 2) darbietet. Auf dieser Zeichnung sehen wir auch, wie durch die Quellung die im Chlorophyllkorn vorhandenen Oeltröpfchen sichtbar geworden sind.

Der Grund, warum die aufgequollenen Massen fast immer trübe bleiben, rührt, meiner Ansicht nach, von der Art der Vertheilung des Chlorophylls her. Wäre die protoplasmatische Grundsubstanz in gleicher Weise gefärbt wie eine Gallerte oder Eiweiss durch gelösten Anilinfarbstoff, so wäre kein Grund vorhanden, warum der gequollene Chlorophyllkörper nicht ebenfalls so homogen und gleichmässig grün aussehen sollte. Rührt dagegen die Grünfärbung von einer Zwischenlagerung ausserordentlich feiner öliger Tröpfchen her, so können dieselben derartig klein sein, dass wir sie auch mit den stärksten Linsen nicht mehr als solche zu erkennen vermögen, gerade so wie sehr feine und nahe aneinander liegende Linien, welche das

1) Das Chlorophyllkorn. p. 24 u. 27.

Mikroskop nicht mehr aufzulösen vermag, von uns auch nur als trübe Stellen wahrgenommen werden.

Das Vacuoligwerden beschreibt A. Meyer<sup>1)</sup> in folgender Weise: „Stellt man das Mikroskop auf einen Autoplasten des im Wasser liegenden Gewebes möglichst tief ein, so sieht man bei Beginn der Einwirkung des Wassers zuerst einen hellen Punkt in den Grana auftreten, während dieselben etwas quellen; die Quellung steigert sich bei weiterer Einwirkung des Wassers bedeutend und die Vacuole vergrößert sich ebenfalls. Auf diesem Stadium bleibt die Erscheinung meist stehen; hie und da fallen aber die Blasen zuletzt zusammen und die gequollenen Grana erscheinen dann körnig und verschwommen.“ Meyer nimmt also an, dass die Vacuolen aus den Grana entständen, und da dieselben quellen, ohne dass sich der Farbstoff löst, greift er zur Annahme, dass sie eine Grundlage besitzen<sup>2)</sup> müssen, welche aus Gerüstsubstanz besteht und welche dann vom Chlorophyll durchtränkt zu denken wäre. Die aus diesem Einschluss hervorgehende endosmotisch wirkende Lösung bewirkte dann die Dehnung der zugleich quellenden Gerüstsubstanz.

Diese Angaben Meyers muss ich direkt bestreiten. Wir werden sogleich sehen, dass die Vacuolen nicht aus gelöster Granasubstanz bestehen, sondern von einer Substanz herrühren, die sich zwischen den Fibrillen befindet. Bei geringer Wasseraufnahme kommen Fibrillen und Zwischensubstanz gleichmässig zur Quellung, es findet noch keine Trennung der einzelnen Fibrillen statt, bei der Vacuolenbildung wird die Zwischensubstanz verflüssigt, sie wirkt osmotisch und dehnt so die gequollene Fibrillärsubstanz aus, verändert später auch deren ursprüngliche Form.

Zumeist verläuft die Quellung und Vacuolenbildung ziemlich rasch, so dass es schwer wird den Verlauf derselben unter dem Mikroskop zu verfolgen, da schon während des Schneidens und während man den Objectträger mit den Schnitten beschießt, das Aufquellen vor sich geht. Dazu kommt noch die Quellung und das damit verbundene Undeutlichwerden der Fibrillen, wodurch der Chlorophyllkörper ein mehr homogenes Aussehen erhält. Um eine direkte Beobachtung des Quellungsverlaufs unter dem Mikroskop zu ermöglichen, muss man daher entweder Objecte auswählen, welche etwas langsamer quellen, wobei die Trennung der Fibrillen schneller vor sich geht als ihre Volumvergrößerung oder noch besser, man fixirt die quellenden Chlorophyllkörper, bevor das Endstadium der Quellung erreicht ist. Zur Nachuntersuchung empfehlenswerthe Objecte sind die Chlorophyllkörper im Stengel von *Tradescantia zebrina*, in den Blättern von *Allium porrum*, *Tradescantia virginica*, *Plectogyne variegata*, *Oncidium altissimum*.

Auf Taf. I, Fig. 3a ist ein Chlorophyllkorn aus der lebenden Zelle von *Tradescantia zebrina* (Stengel) abgebildet, an dem die Granastruktur nur undeutlich wahrnehmbar ist, während wir von dem Vorhandensein der

1) l. c. p. 25.

2) l. c. p. 26.

Fibrillen noch gar nichts bemerken. In Fig. 3b und 3c hat sich die Trennung von Fibrillen und Zwischensubstanz vollzogen, und wenn sich die Fibrillen auch nicht scharf abheben, so sind dieselben doch deutlich differenzirt. Man sieht in denselben noch stellenweise dunklere Punkte, die Ueberreste der Grana, welche in der oben beschriebenen Weise nach und nach undeutlicher werden. Die Fibrillen unterscheiden sich von der Zwischensubstanz nicht nur durch ihre grössere Dichte, sondern auch durch ihre Färbung. Auf diesem Stadium bleibt die Quellung nicht lange stehen, die Zwischensubstanz nimmt immer mehr Wasser auf, die ursprüngliche Anordnung der Fibrillen wird immer mehr verschoben, die nun schon in flüssigen Zustand übergegangene Zwischensubstanz sucht sich zur Kugel-form abzurunden, welchem Bestreben die sehr delnbare Fibrillensubstanz keinen wesentlichen Widerstand entgegensetzt. (Fig. 3d und 3e.) Zufällig in der Vacuole vorhandene Körnchen zeigen Brown'sche Bewegung, die Vacuole enthält also eine wirkliche Flüssigkeit, nicht blos gequollene Substanz. Der Inhalt der Vacuole besteht aus der gelösten Zwischensubstanz, d. h. aus einer Lösung des Metaxins, während die Vacuolenwand aus einer wohl quellbaren aber unlöslichen Substanz besteht, dem Chloroplastin.

Das schliesslich zu Tage tretende Bild dieser Quellung unter Vacuolenbildung ist nicht immer ganz dasselbe. Je nachdem die Vacuolen im Chlorophyllkorn untereinander communiciren oder durch Chloroplastin in einzelne Tropfen geschieden werden, erhalten wir eine einzige Blase, an deren Seite sich die Fibrillensubstanz befindet, wie z. B. bei *Monium undulatum* Taf. I. Fig. 5 oder es entsteht ein Haufen zusammenhängender Blasen, wie ich sie für *Tradescantia zebrina* Fig. 3e und *Galanthus nivalis* Fig. 4 abgebildet habe. Dabei können die Fibrillen auseinander weichen oder sich mehr oder weniger zusammen ballen, die Grana, sowie die Fibrillen deutlich erkennbar bleiben oder nicht. An den Chlorophyllkörpern derselben Pflanze kann man in Folge dessen verschiedene Formen der Vacuolenbildung antreffen, ohne dass wir daraus auf eine Substanzverschiedenheit schliessen dürften. Bei den sehr grossen Chlorophyllkörpern der Knollen von *Phajus grandifolius*, die einen Eiweisskrystall enthalten, entsteht meist nur eine grosse Vacuole, welche die gelöste Krystallsubstanz und wohl auch die Zwischensubstanz aufnimmt, ähnlich wie wir dies auf Taf. I. Fig. 46 abgebildet sehen. Es können bei *Phajus* aber auch mehrere Blasen entstehen (Taf. I. Fig. 6), wobei die Fibrillen sich nicht von einander trennen, die Grana noch deutlich bleiben.

Noch deutlicher als an den langsam quellenden Chlorophyllkörpern mancher Pflanzen können wir die Vacuolenbildung an allen quellbaren Chlorophyllkörpern beobachten, wenn wir dieselben kurze Zeit, nachdem sie mit Wasser in Berührung gekommen sind, fixiren. Ich verwendete hierzu mit gutem Erfolge die von Fleming<sup>1)</sup> angegebene Mischung theilweise mit nachträglicher Saffranin-

1) W. Fleming, Zellsubstanz, Kern und Zelltheilung. 1882. p. 381. Die Mischung besteht aus 0,25%, Chromsäure, 0,1% Essigsäure, 0,1% Osmiumsäure auf 100 Theile Wasser.

färbung oder in einigen Fällen auch verdünnte Jodlösung. Zusatz von Glycerin zu den fixirten Präparaten ist stets zu vermeiden, da hierdurch die Bilder sehr undeutlich werden.

Einige Minuten nach dem Einlegen in Wasser sind die Fibrillen schon stark auseinander gewichen, überall heben sie sich mit scharfer Contour von der stark gequollenen, auch nach der Fixirung sehr durchsichtigen, homogenen Zwischensubstanz ab. Die Fibrillen bilden wohl nur sehr selten einen zusammenhängenden Faden, meist finden wir mehrere einzelne Stücke, die allerdings in verschiedener Weise verbunden sind. Bei *Platanthera bifolia* (Taf. I, Fig. 7), *Allium porrum* (Taf. I, Fig. 8) und *Tradescantia virginica* (Taf. I, Fig. 9, 10) sind die Fibrillen mehr getrennt von einander, wenig verschlungen, jedoch unregelmässig gebogen. Bei den Chlorophyllkörpern des Stengels von *Impatiens parviflora* (man muss die grösseren der dort vorkommenden wählen) hatten die Fibrillen mehr aneinander und wir erhalten durch die Fixirung ein Bild, wie es sich uns in Taf. I, Fig. 16, darbietet.

So lange die Chlorophyllkörper nicht direct beim Schneiden verletzt sind, bleiben die Fibrillen noch im Zusammenhang, sonst finden wir aber auch direct einzelne Fibrillenhäufen (Fig. 11, 12), bei denen die Fixirung erst nach dem Zerfall stattgefunden hat.

Werden die Chlorophyllkörper erst später fixirt, so haben sich die Vacuolen bereits sehr stark vergrössert, es haben die oben besprochenen Dehnungen und Veränderungen stattgefunden, so dass wir aus Bildern wie Taf. I, Fig. 13—15, und Fig. 17 keine Schlüsse über die ursprüngliche Form der Fibrillen zu ziehen vermögen.

Ist die Quellung nicht zu weit vorgeschritten, so können wir an den Fibrillen ein körniges Aussehen constatiren, sie bestehen aus helleren und dunkleren Stellen (vgl. Fig. 9 u. 16), welche letztere den Grana entsprechen. Bei Safraninfärbung nehmen diese Granarreste nicht mehr Farbstoff auf, als die übrige Substanz, in Alkohol werden sie gelöst, ohne eine Vacuole zu hinterlassen. Durch die Flemming'sche Mischung werden übrigens auch im unverletzten Chlorophyllkörper die Grana fixirt, wenn auch nicht sehr deutlich.

Besonders möchte ich noch hervorheben, dass bei den Chlorophyllkörpern die Vacuolenbildung mit der Lösung eines Proteinstoffes verbunden ist, der durch füllende Substanzen, wie Flemming'sche Mischung, Jod etc. nachzuweisen ist. Es steht diese Art der Vacuolenbildung in einem gewissen Gegensatz zu dem Verhalten des Cytoplasmas, bei welchem die Vacuolenwand ebenfalls durch Plastinsubstanz gebildet wurde, die Vacuolenflüssigkeit jedoch keinen Proteinstoff enthielt (vgl. § 30). Einer weiteren Erörterung ist noch die Frage zu unterwerfen, in welchem Verhältniss steht die zuerst beschriebene Art der Quellung, welche das Chlorophyllkorn in eine gleichmässig triibe Masse verwandelt, und die mit Vacuolenbildung verbundene Quellung? Ist der Umstand, dass die Quellung in verschiedener Weise

vor sich gehen kann, durch eine differente Struktur der Chlorophyllkörper hervorgerufen oder nicht?

Schon die Thatsache, dass wir bei ein und derselben Pflanze, ja bei demselben Schmitte die Chlorophyllkörper auf die eine oder andere Art quellen sehen, weist darauf hin, dass Nebenumstände mitwirken, welche die Art der Quellung beeinflussen, denn bei derselben Pflanze müssen wohl alle normalen Chlorophyllkörper gleich zusammengesetzt sein. Ich glaube, dass hierbei die verschiedene Festigkeit, mit der die Fibrillen aneinanderhaften, entscheidend ist. Die Fibrillen selbst sind in Wasser etwas quellbar, aber unlöslich. Bei jenen Chlorophyllkörpern, wo die Fibrillen, im Zusammenhang bleibend, verquellen, wird die Vacuolenbildung nicht eintreten, nur wo sie leicht auseinanderweichen, werden Vacuolen entstehen. Eine nachträgliche Quellung schon getrennter Fibrillen konnte ich sehr gut bei *Mnium rostratum* beobachten, nachdem die Blätter durch sehr starken Frost getötet waren. Bald nach dem Aufthauen untersucht, waren die Fibrillen wohl auseinandergewichen (Taf. I, Fig. 38 a, b), aber hatten sich selbst noch wenig vergrössert. Nach längerem Liegen in Wasser hatte jedoch allgemein das Volumen der Fibrillen bedeutend zugenommen (Fig. 38 c), d. h. sie waren selbst gequollen.

Von Bedeutung für die verschiedenartige Quellung ist auch die Menge des aufgenommenen Wassers. Bei der Aufnahme von wenig Wasser werden die Fibrillen ebenso wie die Zwischensubstanz quellen, die Zwischensubstanz verflüssigt sich jedoch noch nicht; tritt dagegen noch eine weitere Menge von Wasser hinzu, so wird die Zwischensubstanz verflüssigt, die Fibrillensubstanz auseinandergetrieben. Daher kommt es auch, dass in concentrirten Zuckerlösungen, welche die Wasseraufnahme durch die Chlorophyllkörper erschweren, niemals Vacuolenbildung eintritt. Ebenso unterbleibt dieselbe beim Einlegen verletzter Zellen in Oel, wo von dem Protoplasma nur die Zellsaftflüssigkeit imbibirt wird.

Ferner können wir beobachten, dass der Vacuolenbildung immer ein gleichmässiges Aufquellen vorangeht, aber niemals umgekehrt zuerst Vacuolenbildung mit nachfolgender Umwandlung in eine gleichmässige Masse eintritt.

Nicht ganz ohne Einfluss sind auch die im Zellsaft gelösten Stoffe. Im Allgemeinen tritt ihre Wirkung ziemlich zurück, nur wenn die Zellen sehr gerbstoffreich sind, unterbleibt die Quellung vollständig, so z. B. bei den Chlorophyllkörpern von *Aconitum lycoctonum*, *Geranium Robertianum* (älterer Stengel), *Quercus*. Dieselben zeigen undeutliche Grana gerade wie bei Fixirung mit Flemming'scher Mischung. Es ist dies ganz natürlich, denn der Gerbstoff fällt die Eiweisssubstanzen der Chlorophyllkörper und verhindert hierdurch das Aufquellen. Der Gerbstoff ist jedoch nur dann wirksam, wenn derselbe nicht zu verdünnt auf das Plasma einwirkt. Aus diesem Grunde sehen wir bei Pflanzen mit geringerem Gerbstoffgehalt, z. B. bei Fuchsblättern, bei den Knollen von *Maxillaria picta*, die Chlorophyllkörper sehr wohl aufquellen, und auch Vacuolen werden hier gebildet. Das

Alter der Zellen übt keinen wesentlichen Einfluss aus, wir finden in alten Zellen gerade noch so oft Vacuolenbildung als in jungen.

Aus all' diesen Thatsachen ersehen wir, dass zwischen der Quellung mit und ohne Vacuolenbildung kein principieller Unterschied besteht, weshalb es unzulässig ist, aus der Verschiedenheit der Quellungsform auf eine Verschiedenheit in der chemischen Zusammensetzung und im Aufbau der Chlorophyllkörper zu schliessen.

Dem entsprechend ist es auch nicht am Platze, die eine oder andere Art der Veränderung bei Wasserzutritt als specifisch für bestimmte Pflanzen aufzustellen. Im Allgemeinen kann man sagen, so lange die Chlorophyllkörper noch in vollständiger Thätigkeit sind, zeigen sie fast immer Vacuolenbildung. Letztere tritt schliesslich in den meisten Fällen ein. Dabei können manche Chlorophyllkörper langsamer quellen und auf dem Stadium ohne Vacuolen stehen bleiben. Letzteres beobachtete ich constant bei den Chlorophyllkörpern folgender Pflanzen: *Begonia hycotylefolia*, *Impatiens Sultani*, *Mentha piperita* (junger Stengel), *Tradescantia zebrina* (älterer Stengel), *Fittonia Verschaffelti* (Blatt), *Cypripedium venustum*, *Ruscus aculeatus* (*Phylloidium*), *Blechnum occidentale* (älteres Blatt, in jüngeren Blättern Vacuolenbildung), *Coleus* (Blatt). Vacuolenbildung habe ich ausser den gleich zu nennenden Pflanzen noch oft beobachtet, ohne mir jedoch die einzelnen Fälle zu notiren. Ich neme daher nur: *Calathea* (*Maranta*) *insignis*, *Tradescantia virginica*, *Phleum pratense*, *Plectogyne variegata*, *Impatiens parviflora*, *Humulus lupulus* (junges und älteres Internodium), *Platanthera bifolia*, *Allium porrum*, *Crocus vernus*, *Cymbidium aloefolium*, *Galanthus nivalis*, *Oncidium altissimum*, *Phajus grandifolius*, *Aloë perforata*, ferner noch bei *Mnium undulatum*, *Selaginella Martensii*.

Bei längerem Verweilen in Wasser coagulirt schliesslich das Chloroplastin ganz wie das Cytoplastin. Es beweist dies, dass dieser Stoff in Wasser unlöslich ist, ob jedoch in der lebenden Zelle um die Chlorophyllkörper sich ein gleiches Coagulationshäutchen bildet als wie um das Cytoplasma, scheint mir zweifelhaft. Sicher ist jedoch, dass niemals eine chemisch differente Membran sichtbar wird, wie dies z. B. beim Zellkern der Fall ist.

Die Vacuolenbildung ist schon von verschiedenen Forschern erwähnt, unter Anderen von Mohl, Hofmeister, Nägeli und Schwendener, ohne dass man die Entstehung derselben aus der Zwischensubstanz erkannt hätte, oder weitere Folgerungen über die stoffliche Differenzirung und die Struktur der Chlorophyllkörper daraus abgeleitet hätte.

Zu erwähnen wäre schliesslich noch das Verhalten der Chlorophyllkörper in siedendem Wasser. Bei kurzem Eintauchen Chlorophyllkörperhaltiger Zellen in siedendes Wasser treten zunächst die Fibrillen deutlicher hervor, sie zeigen jedoch keine Grana, da sich der Farbstoff auch schon bei solch kurzer Behandlung mit heissem Wasser in den Fibrillen vertheilt. Lassen wir die Schnitte längere Zeit in dem siedenden Wasser, so treten aus den Chlorophyllkörpern ölige Tropfen aus, welche den grössten Theil des Chloro-

phyllfarbstoffes enthalten. Die zurückbleibende plasmatische Masse zeigt entweder gar keine Struktur (*Phajus*, Taf. II, Fig. 90) oder undeutliche dunklere Stellen (Fig. 91).

Was das Verhalten der beiden die Chlorophyllkörper zusammensetzenden Proteinsubstanzen anbelangt, so ist sicher, dass das Chloroplastin in heissem Wasser coagulirt und sich auch bei längerem Verweilen in demselben nicht auflöst. Dagegen scheint es mir zweifelhaft, ob nicht etwa das Metaxin gelöst wird. Die Chlorophyllkörper werden beim Kochen wesentlich kleiner, diese Volumverminderung konnte durch das Hinweglösen des Metaxins bewirkt sein, es wäre jedoch auch möglich, dass durch die Coagulation selbst die Chlorophyllkörper kleiner würden. Vielleicht kann man diese Frage später entscheiden, falls sich herausstellen sollte, dass die in den Chlorophyllkörpern vorkommenden Eiweisskrystalle mit dem Metaxin identisch sind. Bei *Phajus* wenigstens lösen sich die Eiweisskrystalle auf und auch nach der Behandlung mit Farbstoffen konnte man keine Krystallreste nachweisen. Ich vermute daher, dass sich das Metaxin löst, es sind jedoch noch weitere Untersuchungen nothwendig, um die hier angeregten Thatsachen festzustellen.

Das Resultat unserer Betrachtung ist: die Chlorophyllkörper lösen sich niemals vollständig in Wasser.

Sie bestehen aus einer in Wasser quellbaren, aber unlöslichen und einer in Wasser zuerst quellbaren, dann gelösten Substanz.

Die quellbare Substanz, das Chloroplastin, bildet Fibrillen, die im frischen Zustande grün gefärbt sind und dichtere Farbstoffkügelchen enthalten, die wir mit Meyer als Grana bezeichnen. Letztere vertheilen sich bei der Quellung in dem Chloroplastin. Die lösliche Substanz verkittet gewissermaassen die Fibrillen und wird von mir als Metaxin bezeichnet.

Diese eben genannten Differenzirungen besitzen sämmtliche noch keinen anderweitigen Umwandlungs- und Degenerationsprocessen unterworfenen Chlorophyllkörper der Phanerogamen. Cryptogamen wurden in zu geringer Zahl untersucht, als dass ich meine Angaben auch auf diese ausdehnen könnte, doch erscheint mir eine ähnliche Zusammensetzung nicht unwahrscheinlich.

Der mit den Chlorophyllkörpern verletzter Zellen in Berührung kommende Zellsaft hat nur geringen Einfluss auf die zu Tage tretenden Erscheinungen der Wasserwirkung.

Die Vacuolenbildung der Chlorophyllkörper beruht auf der Trennung von gequollener und löslicher Proteinsubstanz. Zur weiteren Begründung dieses letzteren Satzes verweise ich auf die im Kapitel IV, § 29 beschriebenen Versuche über künstliche Vacuolenbildung und die daran geknüpften Auseinandersetzungen.

## § 9. Einwirkung von Zuckerlösung und Eiweiss auf die Chlorophyllkörper.

In seinen Untersuchungen über die Quellung hat Reinke<sup>1)</sup> gezeigt, dass trockene Zellmembranen auch quellen, wenn man sie in concentrirtere Lösungen bringt, die Wasserimbibition organischer Substanz wird hierdurch nur verlangsamt, nicht aufgehoben. Es war nun interessant zu sehen, ob dasselbe bei dem Aufquellen der Chlorophyllkörper zu beobachten sei oder nicht. Wir sehen, dass die protoplasmatischen Substanzen des Chlorophyllkörpers bei der Berührung mit reinem Wasser noch Flüssigkeit aufzunehmen vermögen, sie haben ihr Quellungsmaximum also noch nicht erreicht; es fragt sich nun, ob sie auch dann noch weiter zu quellen vermögen, wenn sie nicht in Wasser, sondern in eine selbst wasseranziehende Lösung zu liegen kommen. Ich wählte hierzu als chemisch indifferente Substanz Rohrzuckerlösung verschiedener Concentration bis zur gesättigten 70 proc. Lösung, die schon syrupartige Consistenz besass.

Schon beim Einbringen in eine Lösung von 5% unterblieb constant die Vacuolenbildung, selbstverständlich auch bei höher concentrirten Lösungen. Ich operirte dabei mit den schon vorher öfter genannten Pflanzen, nachdem ich mich nochmals überzeugt hatte, dass in Wasser wirklich Vacuolen entstehen. Längeres Verweilen der Chlorophyllkörper in der Flüssigkeit ändert an der Thatsache nichts.

Verdünnte Lösungen von Neutralsalzen wirken in derselben Weise wie Zuckerlösungen, durch dieselben wird ebenfalls die Vacuolenbildung hintangehalten.

Mit dieser Verhinderung der Vacuolenbildung unterbleiben jedoch nicht alle Veränderungen des Chlorophyllkörpers. In 20 proc. und mehr noch in 5 proc. Zuckerlösung sehen wir die Substanz zwischen den Grana heller werden und etwas quellen, wenn die Volumzunahme im Ganzen auch nicht sehr bedeutend ist. In 20 proc. Zuckerlösung bleiben die Grana in den meisten Fällen gut sichtbar, ja sie sind sogar deutlicher als am unverletzten Chlorophyllkorn. Obgleich die Grana farbstoffreicher sind, so erscheinen sie doch nicht so dunkel, da sie zugleich stark lichtbrechend sind und ein glänzenderes Aussehen bewahren. Die Fig. 18 (*Tradescantia*) und 20 (*Oncidium*) geben ein ungefähres Bild solcher Chlorophyllkörper.

Als eine Wirkung der Wasseraufnahme in 20% Zuckerlösung ist es ferner anzusehen, dass sich die spitzen Enden der Chlorophyllkörper im Stengel von *Selaginella Martensii* allmählich abrunden. In 5% Zucker geht die Quellung etwas weiter, wenn auch nicht sehr viel, es äussert sich dies darin, dass die Grana oft undeutlich werden und wir erhalten Bilder, wie bei der gleichmässigen trüben Quellung in Wasser, so z. B. bei *Plecto-*

1) J. Reinke, Untersuchungen über die Quellung einiger vegetabilischer Substanzen. 1879 (in Hansteins Botanischen Abhandlungen).

*gyne variegata* Taf. I. Fig. 22 und 23 und bei *Oncidium altissimum* Fig. 19. Auch hier scheinen die durch Druck verletzten Gebilde sich leichter zu verändern.

Anders gestalten sich die Dinge, wenn wir die Chlorophyllkörper in gesättigte (circa 70 procentige) Zuckerlösung einbringen. Hierin unterbleibt die Wasseraufnahme ganz, sie quellen gar nicht und behalten ein Aussehen wie in der unverletzten Zelle.

Diese Thatsachen lassen sich ungezwungen auf folgende Weise erklären.

Eine Grenzschicht des Chlorophyllkorns ist undurchlässig für jene Stoffe, welche in demselben osmotisch wirksam sind. Ohne auf die Beschaffenheit dieser Grenzschicht einzugehen, können wir sagen, sie wirkt wie eine Plasmamembran, welche durch die in der Vacuolenflüssigkeit vorhandenen Stoffe gedehnt wird, solange sich ausserhalb des Chlorophyllkörpers eine osmotisch minder wirksame Flüssigkeit befindet. Bringen wir unsere Gebilde jedoch in Zuckerlösung, so wird diese Dehnung der Membran resp. die Wasseranziehung durch die osmotisch wirksamen Stoffe aufgehoben, es unterbleibt die Vacuolenbildung. Es stimmt dies auch mit den Resultaten überein, welche wir bei der Anwendung neutraler Salze geringerer Concentration erhalten, auch hier unterbleibt jedesmal die Vacuolenbildung.

Neben diesen osmotischen Wirkungen erfolgt Wasseraufnahme auch noch durch Imbibition. Die Wirkung der letzteren wird durch die Anwendung von Zuckerlösungen bis zu 20% nicht aufgehoben, die Chlorophyllkörper quellen ja noch etwas darin. Dagegen hört neben der osmotischen Ausdehnung auch die Wirkung der Imbibition auf, sobald wir hochconcentrirte Zuckerlösungen anwenden. Bei den gesättigten Lösungen der Neutralsalze kann man, wie wir später sehen werden, ein analoges Verhalten beobachten, nur kann man hier nicht läugnen, dass möglicher Weise noch Fällungen stattfinden, wie man sie an den Proteinkörpern fast immer beobachtet.

Wir sehen also, dass das Protoplasma sich etwas anders verhält, als die Zellmembran, indem bei dem Protoplasma in hochconcentrirten Lösungen das Quellungsmaximum nicht erreicht wird. Uebrigens schliessen die Versuche von Reinke die Möglichkeit nicht aus, dass auch die Zellmembranen bei der Anwendung gesättigter Lösungen ihr Quellungsmaximum nicht vollständig erreichen. Bringen wir Zellen von Pflanzen, welche das Austrocknen vertragen ohne abzusterben, lufttrocken in gesättigte Zuckerlösung — ich überzeugte mich an verschiedenen Moosen von der Richtigkeit dieser Vermuthung —, so findet dennoch Aufquellen des Plasmas statt, ob dasselbe aber sein Quellungsmaximum erreicht, entzieht sich unserer Bestimmung.

Aus unseren Versuchen mit der Zuckerlösung geht hervor, dass das Protoplasma der Chlorophyllkörper in der lebenden Zelle nahezu sein Quellungsmaximum erreicht hat und dass durch die Imbibitionskraft desselben nur geringere Veränderungen bei der Berührung mit Wasser hervorgebracht werden,

während die Vacuolenbildung und das Auseinandertreiben der Fibrillen durch die osmotisch wirksamen Stoffe im Chlorophyllkörper bewirkt wird, unter gleichzeitiger Lösung des Metaxins.

Eine Frage, die sich unmittelbar hier anschliesst, ist die, ob durch das Verletzen der Zellen und das Herauspräpariren der Chlorophyllkörper das Imbibitionsvermögen wesentlich verändert wird. Es ist dies nothwendig zu entscheiden, da wir ja aus dem Verhalten herauspräparirter Chlorophyllkörper auf das Verhalten in der Zelle geschlossen haben. Zu dem Zwecke war es nothwendig die Chlorophyllkörper auch ausserhalb der Zelle in eine ihrem früheren Medium möglichst gleichartige Substanz zu bringen. Ich wählte frisches Hühnereiweiss, das ich direkt vom Ei auf den Objectträger laufen liess. Dasselbe enthält circa 14—15% feste Stoffe, deren Hauptmasse wie beim Plasma aus Proteinkörpern besteht. In Folge der vorhandenen Salze reagirt das Hühnereiweiss gerade so alkalisch, wie das Plasma, wodurch eine Ausfällung von Stoffen im Chlorophyllkorn hintangehalten wird. Ausserdem genügt die Menge der vorhandenen Aschenbestandtheile, um die osmotische Wirksamkeit des Hühnereiweisses zu erklären. Bei der Untersuchung fand ich in 100 cem Hühnereiweiss 0,544 gr Asche, welche Zahl von der von K. B. Hofmann in seiner Zoochemie (p. 612) angegebenen Menge nicht wesentlich abweicht; 100 cem Eierweiss des Huhns lassen 0,607 gr lösliche Salze diffundiren, ausserdem bleibt nur ein geringer Theil anorganischer Salze beim Eiweiss zurück. Ein weiterer Umstand dürfte vielleicht auch eine Rolle spielen, indem das native Hühnereiweiss keine eigentliche Lösung ist, sondern mehr einer Gallerte gleicht, durchzogen von dünnen Häuten, welcher Umstand es wahrscheinlich macht, dass die Chlorophyllkörper weniger leicht Wasser aufzunehmen vermögen als aus einer gleich concentrirten Lösung. All die genannten, dem pflanzlichen Protoplasma und dem Hühnereiweiss gemeinschaftlichen Eigenschaften machen es möglich, dass die aus der Zelle herauspräparirten Chlorophyllkörper in Hühnereiweiss dasselbe Aussehen behalten können wie in der unverletzten Zelle, sobald die Voraussetzung richtig ist, dass durch die Veränderungen beim Schneiden etc. das Imbibitionsvermögen nicht geändert wird.

Nur während der Anfertigung des Präparates war eine geringe Quellung möglich, da hierbei, so lange die Schnitte noch auf dem Messer ruhen, die Chlorophyllkörper mit dem Zellsaft in Berührung kommen; da sie jedoch zumeist von einer hinreichenden Protoplasamenge umgeben sind, wirkt der Zellsaft nicht so schnell ein. Diese Fehlerquelle kommt also wenig in Betracht.

Bei dem Einbringen der Chlorophyllkörper in die Eiweisslösung macht sich nun zwischen den vollständig intakten Gebilden und jenen, welche durch Druck oder Quetschung gelitten hatten, deutlich ein Unterschied geltend.

Die intakten Chlorophyllkörper verändern ihr Aussehen entweder gar nicht oder nur sehr wenig. Sie können ihr glänzendes Aussehen behalten, mit derselben Deutlichkeit wie in der lebenden Zelle die Stärkekörnchen erkennen lassen, resp. so undurchsichtig bleiben wie sie vorher waren. Manch-

mal verloren sie ihr glänzendes Aussehen und liessen die Grana etwas deutlicher hervortreten. Diese letztere Erscheinung könnte wohl auf einer geringen Quellung der Fibrillensubstanz beruhen, wodurch die Grana etwas auseinandergerückt und in Folge dessen besser erkennbar wurden. Ich halte dies jedoch nicht für wahrscheinlich, da eine Volumvergrösserung nicht nachweisbar ist und neige daher zur Ansicht hin, dass durch die etwas veränderten Lichtbrechungsverhältnisse des Mediums die Grana deutlicher gemacht wurden.

Die in Wasser quellenden, meist auch Vacuolen bildenden Chlorophyllkörper von *Impatiens parviflora*, *Fittonia Verschaffelti*, *Oncidium altissimum*, *Phajus grandifolius*, *Calathea* sp., *Mnium undulatum*, *Trifolium repens*, *Impatiens Sultani*, *Humulus lupulus* und *Coleus* zeigten alle ein analoges Verhalten. Mehrere Objecte liess ich auch längere Zeit bis zu 3 Tagen in dem Eiweiss liegen, ohne dass Quellung eingetreten wäre. War durch die kurze Berührung mit dem Zellsaft ein geringes Auseinanderweichen der Fibrillen hervorgerufen worden, wie z. B. bei *Tradescantia virginica*, *Monstera deliciosa*, *Mentha piperita*, so ging doch die Quellung in Eiweiss nicht weiter, sondern blieb auf dem ursprünglichen Standpunkte stehen.

Im Gegensatz zu den unverletzten, ihr normales Aussehen behaltenden Chlorophyllkörpern stehen die gequetschten und durch Druck verletzten oder angeschnittenen Gebilde. Man erkennt an ihnen herausgerissene Fibrillen oder Fibrillenstückchen, die wie z. B. bei *Monstera deliciosa* bald ganz undeutlich werden und verquellen, während sie sich z. B. bei *Humulus lupulus* unverändert erhalten. Gequetschte Chlorophyllkörner erleiden noch stärkere Veränderungen, sie werden gleichmässig trübe wie bei geringer Quellung in Wasser. Anschneiden allein bewirkt nicht immer Quellung, wir sehen dies z. B. bei den Chlorophyllbändern von *Spirogyra*, die in Eiweiss zerzupft wurde, während stärkerer Druck immer eine Deformation der Chlorophyllkörper hervorbrachte. Diese Thatsachen stimmen mit dem Verhalten gegen verschiedene andere Reagentien überein, wo wir ebenfalls auf Differenzen zwischen unverletzten und verletzten Chlorophyllkörpern stossen.

Das Resultat dieser Beobachtungen ist demnach, dass durch das Herauspräpariren allein, wenn Quetschung vermieden ist, die sichtbare Struktur nicht verändert wird, sobald die Chlorophyllkörper in ein Medium kommen, das eine Wasseraufnahme erschwert, ohne direkt schädlich zu wirken. Dabei bleibt die Frage offen, ob die Chlorophyllkörper noch als lebend zu betrachten sind, es müsste dies erst durch diesbezügliche Versuche eruiert werden, nach dem Aussehen zu urtheilen muss ich es jedoch als möglich bezeichnen, dass die Chlorophyllkörper z. B. ihre Assimilationsfunktion auch nach dem Herauspräpariren beibehalten könnten.

Für Druck und Quetschung dagegen sind die Chlorophyllkörper sehr empfindlich, was auch mit der Thatsache übereinstimmt, dass die ganze Zelle durch Druck leicht getödtet werden kann.

## § 10. Einwirkung von Neutralsalzen verschiedener Concentration auf die Chlorophyllkörper.

### Verhalten gegen Kochsalzlösungen.

Der Effect der Kochsalzlösung ist wesentlich verschieden je nach ihrer Concentration. In hoch concentrirter Kochsalzlösung, 20 % und mehr, findet kein Aufquellen statt. Die Struktur der Chlorophyllkörper wird nicht sehr deutlich. Sie behalten ihre Gestalt, ihr Aussehen wie in der unverletzten Zelle. Waren die Grana vorher gut sichtbar, so bleiben sie es auch beim Einlegen in die 20procentige Kochsalzlösung, hatten unsere Gebilde mehr ein glänzendes Aussehen ohne deutlich zu Tage tretende Grana, konnte dies bewahrt bleiben, meist jedoch traten die Grana etwas besser hervor wie z. B. bei *Tradescantia virginica* Taf. I, Fig. 24 und *Mnium undulatum* Fig. 35. Die Chlorophyllkörper wurden durch das Kochsalz nicht durchsichtiger, liessen also auch nur dann Stärkekörnchen erkennen, wenn diese schon vorher zu sehen waren.

Ich glaube wegen dieser geringen Aenderungen des Aussehens annehmen zu können, dass die Stoffe im Chlorophyllkörper durch concentrirtes Kochsalz keine Lösung erfahren. Haben wir die Chlorophyllkörper nicht zu lange in der Flüssigkeit liegen lassen, so zeigen sie beim Durchziehen von Wasser noch normale Quellung resp. Vacuolenbildung, nach 1—2 Tagen sind sie jedoch coagulirt, d. h. sie quellen nicht mehr.

Je mehr wir mit der Concentration der Kochsalzlösung herab gehen, desto mehr macht sich der Unterschied zwischen Fibrillen und Zwischensubstanz geltend. Die geringere Quellbarkeit des Chloroplastins in reinem Wasser finden wir in der Kochsalzlösung wieder.

In 20% Kochsalz quellen Fibrillen und Zwischensubstanz gar nicht oder nur sehr wenig; in 10% Kochsalz quellen die Fibrillen fast gar nicht, die Zwischensubstanz etwas, bei den einen Pflanzen mehr, bei den anderen weniger. Vollständig unverletzte Chlorophyllkörper behalten meist ihr normales Aussehen, während bei angeschnittenen Chlorophyllkörpern die Quellung der Zwischensubstanz so weit geht, dass die Fibrillen auseinander weichen. So z. B. bei *Fittonia Verschaffelti* Taf. I, Fig. 25—28. In Fig. 25 ist ein unverändertes Chlorophyllkorn dieser Pflanze in der Aufsicht abgebildet, Fig. 26 zeigt dasselbe als optischen Querschnitt dargestellt, in dem einen Falle erscheinen die Grana als hellere Körnchen, im anderen Falle als dunklere Höhlen. Erst beim Verletzen der Chlorophyllkörper wird die Zusammensetzung aus Fibrillen klar, dieselben werden durch die quellende Zwischensubstanz auseinander getrieben (Fig. 27 und 28); war die Verletzung nur unbedeutend, so erkennt man noch deutlich den ursprünglichen Zusammenhang (Fig. 28). Wir bemerken zugleich, dass in diesem Falle die Grana vollständig erhalten bleiben, ebenso die grüne Farbe der Fibrillen. Die Grundsubstanz ist an und für sich wenig gefärbt, durch die Quellung erscheint sie fast farblos.

Bei *Plectogyne variegata* Taf. I, Fig. 29 beobachtete ich, dass die angeschnittenen Chlorophyllkörper schliesslich in einen Haufen einzelner Fibrillenstückchen verwandelt wurden, welche in die durch Jod—Jodkalium fällbare Zwischensubstanz eingelagert waren. Die Fibrillen waren hier perlschnurförmig, entsprechend der Einlagerung der Grana.

Die Quellung kam in 10% Kochsalz aber auch ganz unterbleiben, auch an verletzten Chlorophyllkörpern, und zwar geschieht dies, wenn der Zellsaft ziemlich stark sauer reagiert, z. B. bei *Begonia hycotylefolia*; hier wirkt die Säure in Verbindung mit dem Kochsalz, wie bei sehr vielen Proteinkörpern fällend und fixierend.

Je weiter wir mit der Concentration der Kochsalzlösung herabgehen, desto leichter nimmt die Zwischensubstanz Wasser auf, bis schliesslich bei 2% Kochsalz nicht nur die Zwischensubstanz, sondern auch die Fibrillen stärker quellen. Zwischen der Wirkung von Wasser und der 1—2 procentigen Kochsalzlösung besteht nur der Unterschied, dass in Kochsalz niemals Vacuolen gebildet werden, was wohl auf die osmotische Leistung des Kochsalzes zurückzuführen ist. Am besten eignet sich zur Sichtbarmachung der Fibrillen eine 4 procentige Kochsalzlösung, die Quellung geht zwar langsam vor sich, es kann mehrere Stunden dauern, aber man erhält dann oft so deutliche Bilder wie bei der Quellung in Wasser mit nachträglicher Fixirung (vgl. Fig. 7—10). Bei einigen Pflanzen muss man noch weiter in der Concentration herabgehen um Quellung zu erzielen, so z. B. bei *Scilla maritima*, deren Chlorophyllkörper in 4% Kochsalz meist ihre linsenförmige Gestalt beibehalten oder in geringem Grade mehr gleichmässig aufquellen, während in 2% Kochsalz die Fibrillen sichtbar werden (Fig. 30 und 31), sich wohl auch von einander trennen (Fig. 32). Nach längerer Einwirkung werden die Fibrillen jedoch wieder weniger deutlich, indem sie selbst quellen, und nur die Grana lassen sich noch in der sonst gleichmässig grünen Grundmasse erkennen (Fig. 33). Aehnlich verhalten sich *Chlorophytum inornatum* und *Dracaena Draco*. Bei *Mnium undulatum* waren die Grana in 20% Kochsalz (Fig. 35) noch sichtbar geblieben, in 10% wird die Masse mehr gleichmässig grün, nur ist die Peripherie unserer Gebilde stärker gefärbt, zugleich werden die Stärkekörnchen im Innern sichtbar (Fig. 36). In 4% Kochsalz nach 5 Stunden, oder in 1% nach 15—20 Minuten erfolgt die deutliche Trennung der helleren inneren Zwischensubstanz und der hier an der Peripherie gelagerten stärker grüingefärbten Fibrillensubstanz (Fig. 37a Aufsicht, Fig. 37b Querschnitt). In der 4 procentigen Lösung waren die Chlorophyllkörper auch nach 18 Stunden ziemlich unverändert geblieben, während die Fibrillen in der Lösung von 1% Kochsalz undeutlich wurden, nach 16 Stunden waren sie mehr gleichmässig grün geworden, wohl in Folge der nachträglichen Fibrillenquellung.

Auch in den weniger concentrirten Lösungen macht sich häufig ein Unterschied zwischen verletzten und unverletzten Chlorophyllkörpern geltend, indem die ersteren bedeutend stärker quellen, während die Wasseraufnahme

in den letztern mehr gleichmässig vor sich geht. Dem entsprechend können wir, wie z. B. bei *Calathea insignis* in 4% Kochsalz Bilder erhalten wie Fig. 40 oder wie Fig. 39, die von dem Aussehen in der unverletzten Zelle in verschiedener Weise abweichen. Bei vielen Chlorophyllkörpern, die unverletzt sind, werden die Fibrillen zwar nicht wesentlich auseinandergetrieben, aber doch sehr deutlich gemacht, indem ihre Contouren besser hervortreten (vgl. hiezu Taf. I. Fig. 41, *Tradescantia virginica*).

Trotz der Mannigfaltigkeit im Einzelnen zeigt sich doch, dass das Chloroplastin (die Fibrillensubstanz) niemals löslich ist, auch nur sehr geringe Quellung zeigt, während das Metaxin in verdünnteren Kochsalzlösungen noch quillt, dass es bei höheren Concentrationen jedoch keine Quellbarkeit zeigt, sondern unverändert bleibt.

### Verhalten gegen gesättigte Lösungen von schwefelsaurer Magnesia und schwefelsaurem Ammoniak.

Bei der Einwirkung von gesättigter schwefelsaurer Magnesia werden die beiden Substanzen der Chlorophyllkörper allgemein gefällt. Die vollständig unverletzten Chlorophyllkörper behalten ihr Aussehen wie in der lebenden Zelle, analog dem Verhalten in 20% Kochsalz. Haben wir dagegen stärker verletzte oder angeschnittene Chlorophyllkörper vor uns, so werden diese in einen feinen Niederschlag verwandelt, ohne dass Fibrillen und Zwischensubstanz sich wesentlich anders verhielten. Oft hatte es den Anschein, als ob die in der gesättigten Lösung befindlichen Chlorophyllkörper etwas kleiner wären, als die in der lebenden Zelle; ich glaube, dass diese Erscheinung durch Wasserentziehung hervorgerufen wird, aber nicht dadurch, dass Proteinsubstanzen im Chlorophyllkörper gelöst werden. Die Fibrillen werden sicherlich nicht gelöst und die Unlöslichkeit des Metaxins geht daraus hervor, dass die Zwischensubstanz an den verletzten Gebilden durch die schwefelsaure Magnesia niedergeschlagen wird. Lässt man Chlorophyllkörper mehrere Tage in der gesättigten Lösung von schwefelsaurer Magnesia liegen, so wird, wie wir dies auf Taf. II. Fig. 89 an einem Chlorophyllkörper von *Phajus* sehen, allmählig ein Chlorophyllderivat in Tropfenform ausgeschieden, ähnlich wie bei den gekochten Chlorophyllkörpern.

Kalt gesättigte Lösung von schwefelsaurem Ammoniak wurde von Kühne zur Unterscheidung der Peptone von den übrigen Eiweisskörpern angewendet. Lässt man diese Substanz auf die Chlorophyllkörper einwirken, so werden sie gefällt. Sie verhalten sich wie in gesättigter Lösung von schwefelsaurer Magnesia. Eine einzige Ausnahme fand ich bei den Chlorophyllkörpern aus den Knollen von *Phajus grandifolius*. Dieselben enthalten schöne Eiweisskrystalle. Dieselben sind in dem schwefelsauren Ammoniak nicht vollständig unlöslich. Die übrige Substanz des Chlorophyllkörpers wird fixirt, es bleibt, wie wir an Fig. 42 Taf. I. sehen, an Stelle des Krystalls eine Höhlung zurück, während das übrige Chlorophyllkorn fixirt wird.

Aus dem Gesagten geht hervor, dass in hochconcentrirten Lösungen von Kochsalz, schwefelsaurer Magnesia und schwefelsaurem Ammoniak Chloroplastin und Metaxin unlöslich sind.

In Kochsalzlösungen von 4—10% ist das Chloroplastin unlöslich, das Metaxin quellbar, ohne sich jedoch zu lösen.

Bei längerem Verweilen in der Kochsalzlösung coaguliren die Substanzen der Chlorophyllkörper, sie verlieren ihre Quellungsfähigkeit in Wasser.

## § 11. Einwirkung von phosphorsauren Alkalien, Kalkwasser und freiem Alkali auf die Chlorophyllkörper.

### Verhalten gegen $\text{KH}_2\text{PO}_4$ .

Eine 1 procentige Lösung bietet keinen wesentlichen Unterschied gegenüber dem Verhalten der Chlorophyllkörper in Wasser, nur dass die Wasseraufnahme etwas beschränkt wird. In unverletzten Chlorophyllkörpern werden die Fibrillen etwas auseinandergetrieben und dadurch sichtbar gemacht. Haben wir es mit gut quellbaren Gebilden zu thun, so werden wie z. B. bei *Oncidium altissimum*, *Impatiens parviflora* die Fibrillen bald undeutlich, indem sie ebenfalls ihr Volumen vergrößern. Wir erhalten dann Bilder wie bei der gleichmässigen Quellung in Wasser.

Besser tritt die Wirkung des Monokaliumphosphates an den verletzten und angeschnittenen Chlorophyllkörpern zu Tage. Der Unterschied im Verhalten der Fibrillen und der Zwischensubstanz, den wir schon bei der Behandlung mit Wasser und Kochsalzlösungen beobachten konnten, zeigt sich hier aufs Neue. Die Zwischensubstanz verletzter Chlorophyllkörper quillt sehr stark auf, und es ist mir nicht unwahrscheinlich, dass sie in einzelnen Fällen sogar gelöst wird, wie z. B. bei *Impatiens parviflora*. Wir sehen manchmal an der übrigen Chlorophyllkörnermasse eine Vacuole hängen, die sich jedoch schlecht von der umgebenden Flüssigkeit abhebt. So weit man die Entstehung derselben beobachten kann, muss man annehmen, dass sie die sehr stark gequollene oder gar gelöste Zwischensubstanz enthält. Ich konnte dies an *Impatiens parviflora* und *Oncidium suave* (Taf. I, Fig. 43) beobachten. Noch deutlicher wird das Austreten von Substanz und die dadurch bedingte Bildung einer seitlich anhängenden Vacuole bei den Chlorophyllkörpern der *Phajusknollen*. Der Eiweisskrystall verwandelt sich in eine derartige Blase, welche bei 1%  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  jedoch nicht immer erhalten bleibt, aber häufig genug zu sehen ist. Eigentliches Schaumigwerden d. h. weitergehende Vacuolenbildung fand niemals statt.

Sind die Chlorophyllkörper nicht zu weit gequollen, bleiben die Grana erhalten, sonst vertheilen sie sich gerade so wie bei der Wasserwirkung.

Steigern wir die Concentration der Lösung unseres Kalisalzes, so finden wir, dass je concentrirter die Lösung ist, desto geringer die Quellung wird. Bei 5%  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ist die Quellung besonders an den unverletzten Chloro-

phyllkörpern gering, die Struktur sowie die Grana traten niemals sehr deutlich hervor. An den verletzten Chlorophyllkörpern fand ich dagegen noch häufig Isolirung der Fibrillen, wie z. B. bei *Fittonia*, Taf. 1, Fig. 45, oder bei *Plectogyne variegata*. Bei *Phajus*, Fig. 46, wurde der Krystall zwar gelöst, die Blase platzte aber nicht, sondern blieb mit der übrigen Substanz in Verbindung. Die letztere wurde durch den quellenden Eiweisskrystall etwas auseinander geschoben.

In 20 %  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  findet keine Quellung mehr statt, auch weitere Veränderungen an Struktur und Aussehen sind an den Chlorophyllkörpern nicht zu beobachten. Die Proteinsubstanzen des Chlorophyllkorns sind also hierin unlöslich.

#### Verhalten gegen $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ .

Im Wesentlichen differirt die Wirkung des zweibasischen Salzes nur wenig von der des Monokaliumphosphates. Hier wie dort verändern die hochconcentrirten Lösungen (20 %) die Chlorophyllkörper gar nicht, sobald dieselben unverletzt sind, und auch beim Anschneiden oder bei Druck nehmen die Strukturelemente nur wenig Wasser auf. Ich konnte in einigen Fällen bei *Impatiens parviflora* beobachten, wie ein Druck, der zufällig nur die Hälfte eines Chlorophyllkorns getroffen hatte, nur diese undeutlich werden und etwas quellen liess, während die andere Hälfte ihr normales Aussehen behielt.

Der Eiweisskrystall von *Phajus* wurde in derselben Weise gelöst wie bei  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ .

In 5 %  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  behielten die unverletzten Chlorophyllkörper ihr normales Aussehen, nur bei längerer Wirkung fand bei einigen Pflanzen ein Auseinanderweichen der Fibrillen statt, wie z. B. bei *Calathea insignis*, Taf. 1, Fig. 48, und bei *Plectogyne*.

An verletzten Chlorophyllkörpern ging die Quellung etwas weiter, die Fibrillen wurden undeutlicher, waren oft nur an den Granareihen zu erkennen oder an herausgerissenen Fibrillen (Fig. 47), oder sie wurden in eine homogene Masse ohne erkennbare Struktur verwandelt (Fig. 49).

Am weitesten geht die Quellung in 1 %  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ . Es findet hier auch bei den unverletzten Chlorophyllkörpern Wasseraufnahme statt, teilweise zeigen sie die Fibrillentrennung; da die letzteren jedoch selbst quellen und keine scharfen Contouren aufweisen, erhalten wir meist keine deutlichen Bilder, die besonders nach einiger Zeit vollständig strukturlos werden.

Vacuolenbildung findet niemals statt. Wir können also nicht sagen, ob das Metaxin in  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  löslich ist. Es wäre möglich, dass dieser Stoff gelöst nach Aussen diffundirt, was sich jedoch schwer controlliren lässt. Aus der Quellung in 5 %  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  können wir ersehen, dass die Zwischen-substanz leichter Wasser aufnimmt, als die Fibrillen. Ihre Löslichkeit ist nicht unwahrscheinlich, doch nicht direkt bewiesen. Mit Sicherheit können

wir aber sagen, dass die Hauptmasse des Chlorophyllkörpers sich gegen Dinatriumphosphat indifferent verhält, darin unlöslich ist, nicht gefällt wird und ihren quellbaren Zustand beibehält.

### Verhalten gegen Kalkwasser.

Die Chlorophyllkörper quellen in Kalkwasser sehr stark. Sie werden entweder zu einer gleichmässig trüben Masse oder es werden Vacuolen gebildet, vollständige Lösung erfolgt niemals. Wir sehen die eine oder die andere Quellungsform bei derselben Pflanze auftreten, wenn auch das Zahlenverhältniss beider wechselt. So fand z. B. bei *Oncidium altissimum* fast immer Vacuolenbildung statt, während ich bei *Fuchsia* ungefähr ebenso oft gleichmässiges Aufquellen als Vacuolenbildung beobachten konnte und bei *Tradescantia virginica*, *Impatiens parviflora*, *Phajus grandifolius* die Zahl der gleichmässig aufgequollenen überwog.

Ebenso wie in Wasser sehen wir, dass die Chlorophyllkörper bei gleichmässiger Quellung nicht vollständig klar homogen werden, sondern trübe bleiben (vgl. Fig. 50 *Phajus* und Fig. 51 *Fittonia*); lassen wir derartige Chlorophyllkörper längere Zeit in dem Kalkwasser liegen, so aggregiren sich die feinen Körnchen, welche die Trübung hervorriefen, wir erhalten dann mehr grobkörnige Bilder, ähnlich denjenigen, welche durch die Behandlung mit 3% Essigsäure entstanden sind (vgl. hiezu Taf. II, Fig. 63).

Die gequollenen Chlorophyllkörper sind übrigens so durchsichtig, dass man die Stärkekörner gut erkennen kann.

Die Vacuolenbildung geht ziemlich schnell vor sich und nur selten, z. B. bei *Fittonia* (Taf. I. Fig. 52) konnte ich Fibrillen und Zwischensubstanz in ihrer ursprünglichen Vertheilung beobachten. Der Grund, warum die Fibrillen sich nicht scharf abheben, liegt in ihrer eigenen bedeutenden Quellungsfähigkeit.

Das Kalkwasser wirkt sogleich tödtend auf die Chlorophyllkörper, weshalb wir auch keinen Unterschied zwischen verletzten und unverletzten Gebilden constatiren konnten.

Die allenthalben auftretende Vacuolenbildung macht es uns wahrscheinlich, dass die beiden Substanzen der Chlorophyllkörper sich ebenso gegen Kalkwasser verhalten als gegen die vorher genannten Reagentien. Wenn wir auch die Löslichkeit des Metaxins bei den gleichmässig gequollenen Chlorophyllkörpern nicht demonstrieren konnten, so sprechen unsere Reactionen doch auch nicht dagegen. Das Chloroplastin ist jedenfalls stark quellbar aber unlöslich.

### Verhalten gegen Kalilauge.

Die Einwirkung von Kalilauge auf den Zellinhalt ist schon von verschiedenen Seiten besprochen worden, ohne dass man auf die Unterschiede Rücksicht genommen hätte, welche die einzelnen Bestandtheile der Zelle darbieten. Der Vollständigkeit halber führe ich die bekannte Thatsache an,

dass verdünnte Kalilauge ein gleichmässiges starkes Aufquellen des ganzen Chlorophyllkörpers hervorruft, während in concentrirter Kalilauge wohl die Stärkekörner aber nicht das Protoplasma unserer Gebilde aufquillt.

Schon sehr geringe Mengen von Kalilauge, 0,1% und 1% bewirken sehr starkes Aufquellen. Um die hierbei stattfindende Volumvergrößerung zu veranschaulichen, verweise ich auf Taf. II. Fig. 53 und Fig. 55, welche die Chlorophyllkörper von *Impatiens* im ungequollenen und durch 1% Kalilauge veränderten Zustande darstellen. Fig. 54 gibt uns die Grösse eines Chlorophyllkorns wieder, das in concentrirter Kalilauge lag, wir sehen, sein Volumen hat sich nicht wesentlich verändert. Eine Grössenzunahme findet auch dann nicht statt, wenn die Chlorophyllkörper Stärke enthalten, die Letztere quillt auch in concentrirtem Kali sehr stark, es wird dann die plasmatische Substanz auf eine Randzone beschränkt (Fig. 56 *Mnium*) oder doch wenigstens um die quellenden Stärkekörnchen herum zusammengedrängt (Fig. 57 *Oncidium*). Zum Nachweis, dass die helleren Stellen wirklich Stärke sind, ist es nothwendig die Chlorophyllkörper vor der Jodbehandlung in Essigsäure zu bringen, da bei Zusatz von Wasser das Protoplasma zu stark quillt.

Von einer feineren Struktur ist weder bei dem Einlegen in das concentrirte Kali, noch bei der nachherigen Fällung durch Essigsäure etwas zu beobachten.

Bei der starken Quellung in verdünnter Kalilauge werden die Chlorophyllkörper fast vollständig homogen und klar. Sie verlieren zumeist ihr trübes Aussehen und werden gleichmässig gelblichgrün gefärbt, sehr durchsichtig, so dass eingelagerte Oeltröpfchen und Stärkekörnchen deutlich zum Vorschein kommen. Als Beispiel hierfür mögen die Chlorophyllkörper von *Phajus* (Fig. 58) dienen, welche nach der Behandlung mit 0,1% Kalilauge schon die vorhandenen Oeltröpfchen zeigen, die sich bei Zusatz von Alkohol lösen. Eine eigentliche Struktur hat der durch Alkohol niedergeschlagene Chlorophyllkörperrest nicht mehr, bei der Quellung ist also die ursprüngliche Struktur vollständig zerstört worden.

Zu gleicher Zeit mit dieser durchgreifenden Zerstörung der Struktur muss auch eine Veränderung des Chlorophyllfarbstoffes vor sich gehen. Nicht nur, dass die Chlorophyllkörner gelblich grün aussehen, diese klare gleichmässige Färbung der gequollenen Masse spricht für eine Lösung des Chlorophylls resp. seiner Träger, während wir bei den trüb gequollenen Chlorophyllkörpern den Farbstoff in Verbindung mit einem ölartigen Körper in Tröpfchenform vor uns haben. Es würde diese Beobachtung mit den Anschauungen von Hansen<sup>1)</sup> übereinstimmen, welcher annimmt, dass sich das Chlorophyll, wie es in der Pflanze vorkommt, durch Natroulauge verseifen lässt. Eine derartige Chlorophyllseife mag sich wohl so gleichmässig in dem gequollenen Chlorophyllkorn vertheilen.

<sup>1)</sup> A. Hansen, Der Chlorophyllfarbstoff, Arbeiten des Botanischen Instituts in Würzburg. Bd. III, p. 123 ff. 1884.

Theilweise werden die Chlorophyllkörper auch in der verdünnten Kalilauge nicht vollständig homogen, es findet dies aber nur dann statt, wenn die Zellen sehr gerbstoffreich sind und man eine zu geringe Menge von Kalilauge 0,1% angewendet hat. Das Chlorophyllkorn bleibt dann wie z. B. bei *Quercus*blättern mehr körnig trübe. Diese Trübung ist hier nicht durch die Vertheilung des Chlorophyll verursacht, sondern rührt davon her, dass der Gerbstoff auf das Chloroplastin auch noch in schwach alkalischer Lösung etwas fällend wirkt. Bei 1% Kalilauge war diese Wirkung des Gerbstoffes schon fast vollständig aufgehoben. Bei Pflanzen, die geringere Mengen von Gerbstoff enthielten, z. B. bei *Fuchsi*blättern quellen die Chlorophyllkörper auch schon in 0,1% Kalilauge stark auf.

Da die Kalilauge ebenso wie das Kalkwasser sogleich tödtend wirkte, besteht kein Unterschied zwischen unverletzten und verletzten Gebilden.

---

Resumiren wir die Resultate dieses Paragraphen in Kürze:

Monokalium- und Dinatriumphosphat verhalten sich relativ indifferent gegen die Substanzen des Chlorophyllkörpers.

In diesen beiden Salzen macht sich wiederum analog der Wirkung von Wasser oder Neutralsalzen ein Unterschied in der Quellungsfähigkeit von Fibrillen und Zwischensubstanz geltend, indem die letztere stärker quillt, sich theilweise auch löst.

Ausserdem stellt sich in den beiden Kaliphosphaten ein Unterschied zwischen verletzten und unverletzten Chlorophyllkörpern heraus, indem die letzteren viel länger der Einwirkung der Salze widerstehen.

Im Allgemeinen quellen die Chlorophyllkörper in dem Dinatriumphosphat nicht viel mehr als in dem Monokaliumphosphat. In Kalkwasser und Kalilauge wird die natürliche Struktur vollständig zerstört.

Die Vacuolenbildung in Kalkwasser deutet darauf hin, dass das Metaxin auch löslich ist; wenn diese Vacuolenbildung nicht immer eintritt, so ist dies vielleicht durch die zu starke Quellung des Chloroplastins bedingt, wodurch dasselbe durchlässig wird für die Vacuolenflüssigkeit.

In verdünnter Kalilauge findet starke Volumvergrößerung statt, zugleich scheint der Chlorophyllfarbstoff verseift zu werden, wodurch es möglich wird, dass der gequollene Chlorophyllkörper ein vollständig homogenes klares Aussehen erhält.

Aus hoch concentrirten Lösungen von  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  und KOH vermag die Plasmasubstanz der Chlorophyllkörper kein Wasser aufzunehmen, sie quellen nicht.

Vollständige Lösung findet nirgends statt.

## § 12. Einwirkung von freien Säuren auf die Chlorophyllkörper.

### Verhalten gegen Essigsäure.

Verdünnte Essigsäure wird schon seit Langem ebenso wie manche andere organische Säuren zum Fixiren des Plasmas verwendet. Man fand jedoch, dass die Essigsäure nicht bei allen Objecten gleichmässig gut zu verwenden ist. Die Ursache davon ist, dass Essigsäure nur innerhalb ganz bestimmter Grenzen gut fixirend wirkt, d. h. die Plasmakörper in einen unlöslichen Niederschlag verwandelt und dass die einzig fixirend wirkenden geringen Concentrationsgrade nicht alle Stoffe gleichmässig fällen. Die Verwandlung des Plasmas geht ausserdem so langsam vor sich, dass die feineren Strukturelemente vor der Fixirung leicht Verschiebungen durch noch quellungsfähig gebliebene Substanzen erleiden.

Bei den Chlorophyllkörpern bewirkt eine Lösung von 0,2% Essigsäure nur dann vollständige Fixirung, wenn die Zellen etwas Gerbstoff enthielten, so z. B. bei *Fuchsia* und *Quercus*. Ohne diese Mitwirkung des Gerbstoffes werden die Fibrillen sehr deutlich, das Chloroplastin wird langsam in einen unlöslichen Zustand übergeführt, während das Metaxin noch etwas quillt. Die Fibrillen sehen hier — man vergleiche Taf. II, Fig. 59 — dünner aus als bei der Behandlung mit Neutralsalzen (Taf. I, Fig. 27, 28), sie sind schärfer begrenzt, was auf eine geringe durch die Säurewirkung verursachte Schrumpfung zurück zu führen ist. Da zugleich die Zwischen substanz etwas quillt, sich auch nicht von den Fibrillen trennt, entstehen keine Lücken. Bei längerem Liegen quillt die Grundsubstanz weiter, wodurch die Fibrillen gedehnt und blasenförmig aufgetrieben werden. Selten verwandelt sich das Chlorophyllkorn in einen Haufen von Blasen, es sind meistens nur 1—2 grosse Vacuolen entstanden, wie wir dies an Fig. 60 (*Fittonia*) sehen können.

Diese Vacuolenbildung, dieses Ausdehnen der Fibrillärs substanz beweist uns, dass die verdünnte Säure das Chloroplastin nicht sofort in einen unlöslichen Niederschlag verwandelt, der ja nicht mehr dehnbar wäre, sondern bei der Dehnung durch die Vacuolenflüssigkeit einfach zerreißen würde. So geringe Säuremengen lassen also die Strukturelemente besser hervortreten, ohne jedoch eigentlich zu fixiren.

Dieser Strukturnachweis gelingt auch noch an Chlorophyllkörpern, die in Rückbildung begriffen sind, wie z. B. im Stengel von *Vicia sativa* (Taf. II, Fig. 61), dessen Chlorophyllkörper sehr klein und unansehnlich sind und offenbar nur wenig mehr assimiliren.

Eine wesentliche Aenderung geht bei der Behandlung mit 0,2% Säure in der Färbung der Fibrillen vor sich. Der Farbstoff der Grana vertheilt sich in denselben, die Grana selbst sind nicht mehr deutlich zu erkennen (vgl. Fig. 59 und 61). Dieser Umstand mag es erklären, warum Schmitz und Frommann die Fibrillen für gleichmässig grün gefärbt halten, denn auch bei anderen fixirenden Substanzen kann eine derartige Vertheilung

des Chlorophylls eintreten. Der Farbstoff selbst wird bei kürzerer Dauer der Säurewirkung chemisch noch nicht verändert, wenigstens behält er sein rein grünes Aussehen. Lassen wir jedoch die Schmitte eine Woche lang in der Säure liegen, so findet allmählich Ausscheidung von sog. Hypochlorinkrystallen statt, d. h. von Säurechlorophyll. Unter Umständen genügt hierzu schon die im Zellsaft vorhandene Säure, wenn man nur Sorge trägt, dass die Zellen z. B. in Zuckerlösung liegend langsam absterben, so dass der Zellsaft nicht sogleich herausdiffundiren kann.

Bei 1% Essigsäure finden wir im Wesentlichen dieselben Erscheinungen wie bei 0,2%, auch hier tritt der Unterschied in der Quellbarkeit der beiden Substanzen in derselben Weise hervor.

Je mehr wir die Concentration der Essigsäure steigern, desto stärker wird die Quellung, die sich jetzt nicht mehr auf das Metaxin allein beschränkt, sondern sich auch auf das Chloroplastin erstreckt.

Bei 3% Essigsäure erhalten wir nicht immer dasselbe Resultat, hauptsächlich quillt die Zwischensubstanz, doch bleiben die Fibrillen nicht wesentlich in der Quellung zurück, so dass wir bald eine gleichmässig trübe und strukturlose Masse vor uns haben. Bei den unverletzten Chlorophyllkörpern bleiben die Fibrillen noch etwas länger sichtbar, ja ich fand sie selbst nach 24 Stunden noch theilweise erhalten. Auch kommt es vor, dass die Chlorophyllkörper blasigvacuolig werden, wie z. B. bei *Phajus* Taf. II, Fig. 62. Das Chlorophyll wird gelblicher, nach einiger Zeit erfolgt im Chlorophyllkörper Ausscheidung feiner brauner Tröpfchen von Säurechlorophyll, während noch die Grundmasse gelblich grün erscheint (*Phajus* Fig. 63).

Dieselben Veränderungen finden wir in 10% Essigsäure wieder, nur sind hier Fibrillen und Grundsubstanz nicht mehr zu unterscheiden. Auch hier findet erst nach längerer Zeit (24 Stunden) Ausscheidung feiner brauner Tröpfchen von Säurechlorophyll statt (*Fittonia* Taf. II, Fig. 64).

In 50% Essigsäure quellen die Chlorophyllkörper sogleich auf, sie werden zunächst braungelb, nach einiger Zeit erfolgt Ausscheidung von braunen Säurechlorophylltröpfchen, die eventuell bei gleichmässiger Vertheilung, z. B. bei *Phajus*, Fig. 66, den natürlichen Grana ähnlich sein können. Sie sind jedoch nicht direkt durch einfache Umwandlung aus den Grana entstanden, sondern erst durch Zusammenlaufen kleinerer Säurechlorophylltröpfchen, die Vertheilung derselben ist in Folge dessen meist unregelmässig (vgl. *Fittonia*, Taf. II, Fig. 65). Durch Erwärmen wird die Bildung des Säurechlorophylls bedeutend beschleunigt, es erfolgt sofort die Ausscheidung der braunen Tropfen. Die protoplasmatische Masse bleibt schwach gelblich bis bräunlich gefärbt (Fig. 65, 66, 67). Nach längerem Liegen erhalten die ausgeschiedenen Tröpfchen jene gewundenen eigenthümlichen Formen (*Phajus*, Fig. 67), wie sie Pringsheim<sup>1)</sup> für das Hypochlorin abgebildet und beschrieben hat.

<sup>1)</sup> Jahrbücher für wiss. Botanik. Bd. XII, Taf. 18, 20, 21 etc. p. 297, 298.

In Eisessig erfolgt starke Quellung, das Chlorophyll wird sogleich gelblich gefärbt, dann in kurzer Zeit gelöst, so dass die plasmatische Grundlage der Chlorophyllkörper vollständig entfärbt ist. Sie hebt sich von der umgebenden Flüssigkeit sehr wenig ab, so dass man zur Ansicht kommen kann, sie sei gelöst worden. Beim Einlegen in wässrige Safraninlösung nahmen die Chlorophyllkörper jedoch noch Farbstoff auf. Eine Struktur ist an denselben nicht zu beobachten.

Diese Bildung einer durchsichtigen Gallerte in Folge der Einwirkung concentrirterer Essigsäurelösung, gleicht vollständig der Bildung von Säuregallerte, wie sie Rollet<sup>1)</sup> bei der Einwirkung von Säuren sowohl auf Serumglobulin als Serumalbumin beobachtet hat. Diese Säuregallerte, welche Rollet mit dem Namen Albuminid belegt, entsteht bei allmählichem Säurezusatz, oder wenn man den Eiweissstoff in einem Dialysator auf Säure schwimmen lässt. Ich konnte mich an der aus reinem Eialbumin dargestellten Gallerte davon überzeugen, dass dieselbe vollständig homogen war und frei von Bildungen, welche einer Struktur ähnlich sahen. Die von Rollet beobachtete Lösung der Gallerte in viel Wasser konnte ich auch an den Chlorophyllkörpern beobachten. In derselben Weise wurde der in den Chlorophyllkörpern von *Phajus* vorkommende Eiweisskrystall in eine Gallerte verwandelt. In den Figuren 66 und 67 sehen wir ihn noch als distincten Körper mit der gelblich gefärbten Chlorophyllkornsubstanz in Verbindung. In sehr verdünnten Säuren löst er sich vollständig auf.

### Verhalten gegen Salzsäure.

Die Wirkung von Essigsäure und Salzsäure ist nur theilweise identisch, u. z. wirken sie nur verdünnt in derselben Weise auf die Chlorophyllkörper ein, während der Effect der übrigen Concentrationsgrade verschieden ist.

Bei 0,01% Salzsäure finden dieselben Veränderungen statt, wie in Wasser, weder die Vacuolenbildung noch die gleichmässige Quellung zeigen einen Unterschied.

In 0,1% Salzsäure finden wir ähnliche Erscheinungen wie in 0,2% Essigsäure, nur dass die Fibrillen sich nicht immer so gut erhalten, theilweise sogar vollständig verquellen. Bei *Phajus* waren sie z. B. besser als bei einer anderen Behandlung zu sehen, während bei *Fittonia* Taf. II, Fig. 68 und *Mnium undulatum* Taf. II, Fig. 70 die Struktur vollständig verwischt wird, indem die Fibrillen selbst quellen und die Chlorophyllkörper auf diese Art in eine gleichmässig trübe Masse verwandelt werden, in der nur noch die Ueberreste der Grana sich als dunklere Stellen abheben. Wo diese gleichmässige Quellung unterbleibt, kommt es wie z. B. bei *Tradescantia virginica* zur Vacuolenbildung. Jegliche Quellung unterbleibt, sobald die Zellen wie bei *Quercus* zu viel Gerbstoff enthalten.

<sup>1)</sup> Sitzb. d. K. Academie d. Wiss. Wien 1881. Bd. 84, Abth. 3, p. 332—380. Auch Maly's Jahresbericht über d. Fortschritte d. Thierchemie. Bd. 11, p. 3.

Wenn bei 0,1% Salzsäure die Wirkung also ziemlich verschieden ist, so finden wir im Gegensatz hierzu constant bei allen Chlorophyllkörpern starkes Aufquellen, sobald wir eine 1 procentige Salzsäure anwenden. Die stärkere Quellung beruht darauf, dass auch die Fibrillen wesentlich von ihr berührt werden, wobei kein Unterschied zwischen Fibrillen und Zwischen-substanz zu Tage trat. Wir erhalten eine vollständig gleichmässig grüne Masse (*Fittonia* Taf. II, Fig 59), welche die Oeltröpfchen und Stärkekörner gut erkennen lässt. Die Vertheilung der Grana ist eine vollständige. Wirkt zugleich der Gerbstoff der Zelle mit ein, wie z. B. bei *Quercus*, so ist die Quellung wohl etwas geringer, die Masse wird weniger homogen, immerhin findet Quellung statt. Bei *Mnium* fand ich die Volumvergrößerung ungefähr ebenso stark als in 0,1% Salzsäure, während bei *Fittonia* in 1% Salzsäure eine stärkere Volumvergrößerung zu Tage trat.

Während also bei der Anwendung von verdünnter Salzsäure mehr oder weniger vollständige Quellung erzielt wird, treten bei der Einwirkung von concentrirter Salzsäure Fällungserscheinungen auf. Die hier stattfindende Fällung unterscheidet sich wesentlich von der durch Alkohol, Picrinsäure, Osmium-Chrom-Essigsäure etc. bewirkten, indem in der concentrirten Salzsäure keine Fibrillen sichtbar werden, die Chlorophyllkörper also eigentlich structurlos fixirt waren und nur die verschiedene Vertheilung hellerer und dunklerer Stellen zur Ansicht führt, es läge eine der ursprünglichen analoge Struktur vor. Wenn wir von den Veränderungen des Chlorophylls absehen, so gleicht die durch die Salzsäure bewirkte Fällung der in gesättigten Lösungen von Neutralsalzen. Die Proteinkörper der Chlorophyllkörper sind unlöslich in der concentrirten Säure, werden aber durch nicht zu lange dauernde Berührung ihrer Quellbarkeit in Wasser oder verdünnter Säure nicht beraubt.

Durch diese Fällungserscheinungen in concentrirter Salzsäure hat Pringsheim<sup>1)</sup> seine Ansicht über die Struktur der Chlorophyllkörper gestützt und ist, wie schon oben angedeutet wurde, zu wesentlich anderen Resultaten gelangt, weshalb wir auf seine Angaben etwas näher eingehen wollen.

Pringsheim verwendete zu seinen Versuchen concentrirte Salzsäure, welche mit dem vierfachen Volumen Wasser versetzt war, es würde diese Concentration der von mir verwendeten 20 procentigen Säure entsprechen.

Ueber die Reaction selbst äussert sich Pringsheim<sup>2)</sup> folgendermassen: „Werden nun grüne Gewebe mit Salzsäure behandelt, so bemerkt man an ihnen unmittelbar nach Hinzufügung der Säure keine andere auffallende Erscheinung als ihre plötzliche Farbenänderung. Das ganze Gewebe sowohl, wie die einzelnen Chlorophyllkörner in den Zellen, nehmen, wie wohl Jeder weiss, der Untersuchungen über Chlorophyll angestellt hat, sofort einen gelb-

1) N. Pringsheim, Ueber Lichtwirkung und Chlorophyllfunction. Jahrbücher f. wiss. Botanik. Bd. XII, 1879—81. p. 294 ff.

2) l. c. p. 295.

lichgrünen, goldgelben oder mehr bräunlichen Ton an. Hierbei findet jedoch weder eine Zerlegung des grünen Farbstoffes statt — wie man dies so oft fälschlich behauptet hat — noch nimmt die Salzsäure selbst den Farbstoff auf, sie bleibt ganz farblos.“

„Die Chlorophyllkörper selbst zeigen — abgesehen von dem eben besprochenen Farbenwechsel, der ja die Farbenänderung des ganzen Gewebes schon äusserlich hervorruft — keine wesentliche Veränderung weder in ihrer Form noch in ihrer Struktur, nur sind sie jetzt nicht mehr rein chlorophyllgrün, sondern zeigen gleichmässig durch ihre ganze Substanz einen etwas nach gelb oder blau neigenden Farbenton. Allein schon nach wenigen Stunden finden sich in denselben, vornehmlich an ihrer Peripherie, dunkle, rötlichbraune oder rostfarbige oder gegen die übrige Substanz des Chlorophyllkorns scharf abgegrenzte Massen vor, von denen vor Einwirkung der Säuren nichts zu bemerken war.“

Pringsheim glaubt nun, dass diese ausgetretenen braunen Massen, aus denen sich nach längerem Liegen gewundene, peitschenförmige, krystalloide Gebilde entwickeln, ein Gemenge sind von dem sogenannten Hypochlorin mit Derivaten des Chlorophyllfarbstoffes. Diese Ansicht ist durch die Untersuchungen A. Meyers<sup>1)</sup> beseitigt, welcher nachwies, dass die ausgetretenen Massen mit dem Chlorophyllan Hoppe-Seylers identisch sind, also ein durch Säurewirkung entstandenes Product des Chlorophylls.

Sehen wir von der unrichtigen Deutung der ausgetretenen braunen Massen ab, so kann man Pringsheims Beschreibung der Salzsäurewirkung, soweit ich sie angeführt habe, vollständig acceptiren. Dagegen muss ich die weitere Behauptung Pringsheims bestreiten, dass nach der Behandlung mit der Salzsäure oder nach dem Erwärmen ein Gerüst zurückbleibt, das eine regelmässige Schwammstruktur zeigt.

Pringsheim<sup>2)</sup> sagt: „Um dieselbe deutlich zu erkennen, bedarf es guter und starker Immersionslinsen. Soviel ist leicht zu sehen, dass die Grundsubstanz der Chlorophyllkörper keine strukturlose, gleichartig homogene Substanz darstellt. Man könnte nach einigen Bildern, die man erhält (Taf. XXIV. Fig. 6), versucht sein anzunehmen, dass sie von einer gleichmässigen weicheren Substanz gebildet wird, in welches dichtere Elemente, Körperchen oder Stäbchen, etwa wie in manchen Zuständen ruhender Zellkerne, eingebettet sind. Doch erhält man an guten Präparaten und in Fällen, in welchen die Zeichnung am schärfsten erscheint (l. c. Taf. XXIV. Fig. 5, 7, 9) den bestimmten Eindruck eines von Höhlen durchsetzten Gebildes von gleichsam siebförmiger Struktur; an der Peripherie der erwärmten, oder mit Salzsäure behandelten Chlorophyllkörper (Taf. XXV.) lässt sich fast regelmässig hier und dort wahrnehmen, dass die austretenden grünen Tropfen und die rostbraunen Massen noch hie und da in diese Höhlen und

1) Das Chlorophyllkorn. p. 22.

2) l. c. p. 312.

Lücken der porösen Substanz hineinragen und dass sie aus diesen wie aus den Maschen eines Netzes hervorgetreten sind.“

„Die feste Grundsubstanz der Chlorophyllkörper, die ihre Form bestimmt, bildet daher ein schwammförmiges Gerüste, welches im normalen Zustande von dem ölarartig flüssigen Träger des Farbstoffes und dem Hypochlorin durchtränkt ist.“

Wie wir aus dieser wörtlich citirten Beschreibung ersehen, drückt sich Pringsheim, was die thatsächlichen Beobachtungen anbelangt, sehr vorsichtig aus, er giebt die Möglichkeit zu, es hier mit Stäbchen und Körnchen zu thun zu haben, er spricht davon, dass man an guten Präparaten den Eindruck habe, dass ein mit Höhlen durchsetztes Gebilde vorliege, die ihm vorgelegenen Bilder scheinen mir demnach wohl nicht so deutlich gewesen zu sein als seine Abbildungen.

Nachdem ich die Chlorophyllkörper in der von Pringsheim angegebenen Weise behandelt habe, bin ich zur Ueberzeugung gelangt, dass diesem Forscher verschiedene Bilder vorgelegen haben, welche er irrthümlicher Weise identificirt hat. Beim Einbringen der Chlorophyllkörper in 20% Salzsäure erscheinen, wie Pringsheim angiebt, die Chlorophyllkörner anfangs strukturlos, sie sind hellglänzend, auch noch gelblichgrün gefärbt. An den bei weiten meisten Chlorophyllkörpern erhält sich diese Strukturlosigkeit auch nachdem sie vollständig entfärbt sind. Durch den Austritt des Chlorophylls entstehen in all diesen Fällen niemals Lücken oder Spalten. Ich frage nun, warum sieht man an all diesen zahlreichen Chlorophyllkörpern keine Höhlungen, trotzdem die Chlorophyllkörper vollständig entfärbt sind?

Bei einer kleineren Anzahl von Chlorophyllkörpern werden, nach dem Einlegen in die Salzsäure, nicht immer ganz regelmässig vertheilte dunklere Stellen sichtbar, die jedoch keineswegs scharfe Contouren oder eine genaue Abgrenzung aufweisen, wie Pringsheim es abbildet. Wir sehen dieselben in ihrer ganzen Undeutlichkeit auf Taf. II. Fig. 71 (*Fittonia*) und Fig. 72 (*Vallisneria*) abgebildet. Auch wenn die Grana, wie z. B. bei *Fittonia* vorher sehr schön sichtbar waren, so sind dieselben nach der Salzsäurebehandlung nicht mehr wahrzunehmen, es hat demnach hier eine Vertheilung des Farbstoffes stattgefunden und die hier zu beobachtenden Stellen können von einer unvollkommenen Vertheilung des Farbstoffes herrühren. Wir haben ähnliches schon bei der Quellung in Wasser, in  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  und in 0,1% Salzsäure zu beobachten Gelegenheit gehabt, wo von den Grana auch weiter nichts als dunklere Stellen übrig geblieben sind. Die letzteren sind hier wie da niemals Höhlungen, sondern nur etwas dichtere oder auch dunklere Substanz.

Es ist leicht möglich, dass diese Derivate der Grana mitwirken, das bezeichnete Aussehen der Chlorophyllkörper hervorzurufen, ich glaube jedoch, dass noch ein anderer Umstand mitwirkt, diese dunkleren Stellen im Chlorophyllkörper zu erzeugen. Dieselben sind, obschon unvollkommen, auch in den vollständig entfärbten Chlorophyllkörnern sichtbar (Taf. II, Fig. 73

*Vallisneria* und Fig. 74 *Impatiens*). Rührten sie direkt von der Grana-substanz her, so mussten wir zur Annahme greifen, dass nach der Zerstörung des Chlorophylls respective nach der totalen Entfärbung ein Körper zurückbliebe, welcher durch die Salzsäure nicht angegriffen würde, sondern wegen seines dichteren Gefüges in der weniger dichten Grundsubstanz auch fernerhin noch sichtbar bliebe. Bei der sehr complicirten Zusammensetzung des Chlorophylls ist dies keine so unmotivirte Annahme, wie leicht kann ein Derivat desselben zurückbleiben, das durch die Salzsäure nicht weiter angegriffen wird. Bei vollkommener Ausscheidung des Chlorophylls in Tropfenform kann möglicher Weise auch dieser Stoff mit ausgeschieden werden und so in der Mehrzahl der Fälle unsichtbar bleiben. Dies sind jedoch alles Annahmen, für die wir den direkten Beweis zu führen kaum im Stande sind.

Sehen wir uns daher nach anderen Hilfsmitteln um. Behandeln wir Chlorophyllkörper z. B. von *Vallisneria*, einer Pflanze, welcher Pringsheim unter anderen seine besten Präparate verdankte, zuerst einige Zeit mit Salzsäure unter schwacher Erwärmung und fügen, nachdem dieselben entfärbt sind, Alkohol zu, so werden die Chlorophyllkörper-Grundsubstanz besser fixirt als vorher, zugleich erkennt man aber (Fig. 75), dass die vorher dunkler erscheinenden Stellen einer fibrillären Masse angehören, sie bilden die Ecken und Knotenpunkte von Fibrillen, sind aber niemals Höhlungen oder Vertiefungen oder Lücken, wie Pringsheim annimmt. Eine ähnliche, wenn auch nicht so deutliche Fibrillenstruktur konnte ich beobachten, als ich die Chlorophyllkörper von *Vallisneria* zuerst  $\frac{3}{4}$  Stunden in Wasserdampf, dann 6 Stunden in Wasser verweilen liess und sie schliesslich in 20% Salzsäure einbrachte. An diesem Präparat Fig. 76 waren die Fibrillen ebenfalls gut zu sehen, wenn auch die Knotenpunkte nicht immer so rund waren wie die dunkleren Stellen im Chlorophyllkorn.

Was Pringsheim zur Annahme von Höhlungen verleitete, waren durchwegs körnig-fibrilläre Gebilde, bestehend aus fester Substanz.

Es gibt auch günstige Objecte, z. B. *Tradescantia virginica* und *Plectogone*, bei denen dieser Zusammenhang schon kurz nach dem Einlegen in die Salzsäure zu Tage tritt, es erscheinen dann mehr oder weniger deutlich Fibrillen in den Chlorophyllkörpern oder doch wenigstens Strichelungen, welche die Fibrillengrenzen andeuten.

Bei wiederum anderen Chlorophyllkörpern, für welche uns *Phajus grandifolius* als Beispiel dient, bleiben anfangs noch fibrilläre Bildungen sichtbar, während später (nach 16 Stunden) die Fibrillen nicht mehr deutlich sind, es findet Ausscheidung des Chlorophyllans an der Oberfläche statt oder Ausscheidung von kleinen Tröpfchen (Fig. 77), die jedoch mit den ursprünglichen Grana nicht identisch sind. Der Eiweisskrystall nimmt die Form einer Blase an und erstarrt allmählich.

Der Grund, weshalb die Fibrillen hier nicht mit derselben Deutlichkeit wie in anderen Fällen hervortreten, mag wohl in den durchgreifenden Veränderungen zu suchen sein, welche durch die Salzsäure hervorgerufen

wurden. Wir haben es hier mit Resten, mit Anklängen der ursprünglichen Struktur zu thun, die Behauptung dagegen, dass die plasmatische Grundlage der Chlorophyllkörper durch die Salzsäure nicht verändert wird, scheint mir widerlegt zu sein. Wenn schon schwache Salzsäure zerstörend einwirkt, um wie vieles mehr muss die starke Säure Veränderungen, besonders chemischer Natur hervorrufen. Die verdünnte Salzsäure wirkt schon zerstörend auf die Struktur, auch wenn man sie vereint mit einer 50proc. Zuckerlösung angewendet hat, wodurch die Quellung behindert wird. Die Veränderungen in der verdünnten Säure sind also nicht bloß die Folge des Aufquellens, sondern es findet wirklich eine Zerstörung der ursprünglichen Struktur durch die chemische Wirkung der Salzsäure statt.

Mein Zweck war erstens zu zeigen, dass die Pringsheim'schen Beobachtungen nicht zu der Annahme berechtigen, dass den Chlorophyllkörpern eine Schwammstruktur zukomme, zweitens wollte ich constatiren, dass die Proteinkörper des Chlorophyllkorns durch die concentrirte Salzsäure gefällt werden.

Bei der Anwendung ganz concentrirter, d. h. unverdünnter Salzsäure geht die Chlorophyllanausscheidung noch schneller vor sich, die grüne Masse wird bald braun, vorher machen sich oft noch dunklere und hellere Stellen im Chlorophyllkorn geltend, wobei die ungleichmässige Ausscheidung und Vertheilung des Chlorophyllans dabei betheiligt ist (Fig. 79 *Fittonia*, Fig. 78 *Mnium*).

Ausserdem macht sich in der hoch concentrirten Salzsäure noch die Quellung der Stärkekörner geltend, die farblosen Vacuolen gleich, ähnlich wie bei längerem Erhitzen in Wasserdampf (Fig. 81 *Vallisneria*), die übrige Substanz des Chlorophyllkörpers zurückdrängen.

Ausnahmsweise fand ich eine besondere Art von Vacuolenbildung bei *Phajus* (Taf. II. Fig. 82—87). Hier bilden sich, ausgehend von dem farblosen Theil, welcher von dem Eiweisskrystall stammt, Höhlungen, die mit Flüssigkeit erfüllt sind. Die übrige grüne Substanz verliert ihre Struktur und bleibt auf ein kleines Volumen zusammengeschrunpft (Fig. 86) in Verbindung mit der Krystallsubstanz.

Diese Art der Vacuolenbildung deutet wohl darauf hin, dass bei *Phajus* besondere Umwandlungen durch die concentrirte Salzsäure stattfinden, die einen Theil des Chlorophyllkörpers lösen und so zur Vacuolenbildung führen.

Das Resultat dieser Beobachtungen über die Einwirkung der Säuren ist: sowohl sehr verdünnte Essigsäure (0,2—1%) als sehr verdünnte Salzsäure (0,1%) wirken langsam fixirend, wobei jedoch durch die Salzsäure leicht Verquellungen eintreten, welche die ursprüngliche Struktur etwas verschieben.

Bei der Essigsäurewirkung macht sich bei geringerer Concentration ein Unterschied zwischen Chloroplastin und Metaxin geltend, welches letzteres stärker quillt, sich bei 3—10% auch lösen kann.

Concentrirte Essigsäure bringt die Proteinsubstanzen der Chlorophyllkörper gleichmässig zur Quellung unter gleichzeitiger Lösung des Chlorophyllfarbstoffes.

Bei geringerer Concentration der Essigsäure erfolgt Vertheilung der Grana, später Umwandlung und Ausscheidung von Chlorophyllan.

1% Salzsäure bringt die Chlorophyllkörper regelmässig zum Quellen unter gleichmässiger Vertheilung, späterer Ausscheidung des Farbstoffes.

In concentrirter Salzsäure sind die Proteinsubstanzen unlöslich, die Struktur wird zerstört, der Farbstoff verändert und ausgeschieden.

### § 13. Einwirkung einzelner Metallverbindungen auf die Chlorophyllkörper.

Durch die in der Einleitung angegebene Mischung von Ferrocyankalium und Essigsäure wird das Chloroplastin und Metaxin gefällt. Man kann bei verschiedenen Pflanzen die angesäuerte Ferrocyankaliumlösung direkt zum Nachweis der Fibrillenstruktur verwenden, man bekommt dann Bilder ähnlich wie bei der Einwirkung sehr verdünnter Essigsäure allein (vergl. Taf. II. Fig. 59), ohne dass jedoch wie dort eventuell geringe Vacuolenbildung eintritt, da sich das Metaxin in Ferrocyankalium nicht löst. Um die Fibrillen sehr deutlich hervortreten zu lassen, ist es nothwendig die Chlorophyllkörper ganz kurze Zeit etwas quellen zu lassen, es genügt bei saftigem Gewebe die Zeit, während sich der Schnitt auf dem Messer in Berührung mit dem Zellsaft befindet. Sobald die Chlorophyllkörper mit der angesäuerten Ferrocyankaliumlösung zusammen kommen, werden sowohl die Fibrillen als die Zwischensubstanz fixirt, und da letztere ihr Volumen schon etwas vergrössert hatte, so treten die Fibrillen scharf und getrennt zu Tage. Der entstandene Niederschlag ist jedoch nicht vollständig unquellbar in der Ferrocyankaliumlösung, weshalb nach längerem Verweilen die Fibrillen wieder weniger deutlich werden.

Im Gegensatz zu diesem deutlichen Fibrillärwerden der Chlorophyllkörper erfolgt einfache Fällung nur mit Sichtbarmachung der Grana, wenn die Chlorophyllkörper vorher nicht mit Wasser oder Zellsaft in Berührung gekommen sind. Schneidet man z. B. die Blätter von *Plectogyne* recht trocken, so sieht man an den Chlorophyllkörpern in der Ferrocyankaliumlösung höchstens nur die Grana, feuchtet man dagegen den Blattquerschnitt an, so erhält man schöne Fibrillen. Ebenso sind bei den Chlorophyllkörpern von *Fuchsia*, welche vermöge ihres Gerbstoffgehaltes nur wenig quellen, keine deutlichen Fibrillen zu sehen.

Wesentlich für uns ist, dass die Proteinstoffe der Chlorophyllkörper in Ferrocyankalium und Essigsäure unlöslich sind.

Eine unerlässliche Bedingung der Fällung ist der Gehalt an Essigsäure,

da Ferrocyankalium allein langsames Aufquellen der Chlorophyllkörper bewirkt. Dabei macht sich wie in der Kochsalzlösung eine etwas stärkere Quellbarkeit an der Zwischensubstanz geltend. Das Resultat der Einwirkung einer Ferrocyankaliumlösung von 10% ist, dass zuerst noch Fibrillen sichtbar sind, dann aber die Chlorophyllkörper gleichmässig trübe aufquellen, ohne dass eine Struktur an ihnen wahrzunehmen wäre. Lösung erfolgt niemals. Ebenso unterbleibt Vacuolenbildung.

In einer ziemlich concentrirten Lösung von schwefelsaurem Kupfer sind die Proteinstoffe der Chlorophyllkörper vollständig unlöslich. Hierbei werden keine Fibrillen deutlich gemacht, die Chlorophyllkörper behalten vielmehr ihr normales Aussehen, sind z. B. bei jungen *Fuchsiablättern* hellglänzend, während bei *Fittonia* die Grana deutlich hervortreten und bei *Plectogyne* Andeutungen der Fibrillen zu sehen sind. Bei den durch Druck verletzten Gebilden ist die ursprüngliche Struktur meist noch undeutlicher, aber es lösen sich niemals die Fibrillen heraus.

Lässt man Chlorophyllkörper lange Zeit in dem schwefelsauren Kupfer liegen, so kann Ausscheidung von öligen Tropfen beobachtet werden, welche den sog. Hypochlorinkugeln ähnlich sind.

Die beiden folgenden Substanzen, das doppelchromsaure Kali und das *Ferrum dialysatum solubile* bewirken keine Fällung, die Chlorophyllkörper quellen vielmehr langsam auf, sie werden schliesslich gleichmässig trübe, nachdem Grana und Fibrillen verschwunden sind. Lösung von Stoffen, auch partielle Lösung unterbleibt.

#### § 14. Einwirkung von Verdauungsfermenten auf die Chlorophyllkörper.

Die Verdaubarkeit der Chlorophyllkörper in Pepsin-Salzsäure wurde schon von E. Zacharias<sup>1)</sup> untersucht. Derselbe kam zu dem Resultat, dass die Chlorophyllkörper nur theilweise verdaut werden, dass der verdaubare Stoff aber an Menge der unverdaubaren Substanz nachsteht.

Zacharias behandelte frische Schnitte durch Blätter von *Sambucus nigra* mit künstlichem Magensaft, sodann mit Alkohol, darauf zur Zerstörung der Stärkeeinschlüsse mit siedendem Wasser und färbte schliesslich die Residua mit einer Lösung von Jod in Jodkalium. Im Vergleich zu den nicht mit Magensaft, sonst aber gleich behandelten Chlorophyllkörnern erschienen die von der Verdauung herrührenden Chlorophyllkornreste substanzarm und klein, woraus Zacharias mit Recht auf das Vorhandensein einer im Magensaft löslichen Substanz schliesst.

Die hier angewendete Methode ist nicht vollständig einwurfsfrei, wenn ich auch das erhaltene Resultat nicht bestreiten will, welches mit meinen auf

<sup>1)</sup> E. Zacharias, Ueber Eiweiss, Nuclein und Plastin. Bot. Zeitung. 1883. p. 213.

anderem Wege erhaltenen Ergebnissen übereinstimmt. Bei der längeren Behandlung mit der schwach salzsauren Pepsinlösung konnte durch die Salzsäurewirkung allein, ohne dass das Pepsin mitwirkt, Lösung stattfinden. Zacharias gibt bei der Untersuchung der Chlorophyllkörper nicht an, wieviel Säure sein Verdauungssaft enthalten hat. Es ist aber wahrscheinlich, dass er mit demselben künstlichen Magensaft operirte, den er bei einer anderen Untersuchung (Bot. Zeitung 1881 p. 170) anwendete und der 0,015% Salzsäure enthielt. Eine derartige Säure wirkt nicht fixirend (vgl. § 12 dieser Abhandlung), es können also sehr wohl Stoffe zersetzt und extrahirt werden, wobei namentlich an die löslichere Zwischensubstanz zu denken ist, ohne dass dieselben erst durch das Pepsin löslich gemacht worden wären.

Da die Fällung mit Alkohol unter Vermeidung einer zu lange dauernden Berührung mit dem Alkohol die Verdaubarkeit der Eiweisssubstanzen nicht beeinträchtigt (vgl. Kühne), wohl aber das Hinweglösen von Eiweissstoffen durch Wasser und auch sehr verdünnte Säure verhindert, ist es mir nicht verständlich, warum Zacharias die Chlorophyllkörper in frischem Zustande verdaut hat, während bei mit Alkohol fixirten Gebilden alle überflüssigen Quellungserscheinungen wegfallen.

Um die bei der Pepsinverdauung nothwendige Säurewirkung zu vermeiden, zog ich es vor, die Chlorophyllkörper der Trypsinverdauung, d. h. dem Pancreasfermente zu unterwerfen. Trypsin ist sowohl in neutraler als in schwach alkalischer, ja auch in sehr schwach saurer Lösung wirksam, seine Verdauungsfähigkeit übertrifft, was die Geschwindigkeit der Umwandlung anbelangt, entschieden das Pepsin und wenn auch wahrscheinlich andere Uebergangsglieder von den Eiweisskörpern zu dem Pepton entstehen, so ist dies kein Umstand, welcher uns von dem Gebrauch des schneller wirkenden Trypsins abhalten kann.

Die Bereitung der trypsinhaltigen Verdauungsflüssigkeit habe ich bereits in der Einleitung angegeben. Ich liess dieselbe auf die Chlorophyllkörper wirken, nachdem die letzteren vorher mit Alkohol fixirt und entfärbt waren, ich vermied es dabei, zu lange in Alkohol gelegenes Material zu verwenden, da die Möglichkeit nicht ausgeschlossen war, dass die Stoffe des Chlorophyllkörpers mit der Zeit etwas von ihrer Verdaubarkeit eingeüsst hätten. Es genügt schon kurze Behandlung mit absolutem Alkohol, um Veränderungen durch Wasser, oder wie ich mich noch besonders überzeugte, durch die Salicylsäure von 1‰ hintanzuhalten.

Es stellte sich heraus, dass ebenso wie bei der Pepsinverdauung auch bei der Trypsinwirkung ein Theil der Chlorophyllkörper gelöst wurde, während der grössere Theil unlöslich war. Der zurückbleibende Rest zeigt entweder gar keine Struktur (*Scilla maritima*, *Hyacinthus*) oder eine ziemlich undeutliche Fibrillenstruktur, die mit der ursprünglichen nicht identisch ist. Wir sehen sie für die Chlorophyllkörper der *Phajusknolle* auf Taf. II, Fig. 88 abgebildet. Namentlich fällt es auf, dass die hierbei

erscheinenden Fibrillen breiter sind als sonst, möglicherweise sind sie durch Zusammenlegen der primären Fibrillen entstanden. So weit sich der Vorgang an meinen Präparaten verfolgen lässt, wird die Zwischensubstanz gelöst, es ist mir dies bei den übrigen Eigenschaften derselben nicht unwahrscheinlich, ist aber direkt schwer zu beobachten. Man kann jedoch auf der anderen Seite ziemliche Gewissheit über die Frage erhalten, ob die Fibrillen oder die Zwischensubstanz verdaut werden, wenn man das ursprüngliche Mengenverhältniss mit einander vergleicht. Die Menge der Fibrillensubstanz überwiegt bedeutend, und ebenso bleibt bei der Verdauung der grössere Theil des Chlorophyllkörpers zurück, es ist daher sehr wahrscheinlich, dass nur die Zwischensubstanz verdaut wird.

Die Chlorophyllkörper werden auch dann nicht weiter gelöst, wenn man sie lange Zeit, bis zu 2 Tage, in der Verdauungsflüssigkeit liegen lässt, gleichgültig, ob man bei Zimmertemperatur oder bei 40° C., wo die Verdauung noch schneller vor sich geht, operirt. Das Chlorophyllkornresiduum ist also factisch unverdaubar.

Im Verhalten gegen Farbstoffe haben die Chlorophyllkörper keine wesentliche Veränderung erfahren.

Das Resultat dieser Versuche ist demnach, dass die Chlorophyllkörper aus unverdaubaren und verdaubaren Substanzen zusammengesetzt sind. Unverdaubar ist das Chloroplastin, verdaubar das Metaxin.

Ein wesentlicher Unterschied zwischen Pepsin- und Trypsinwirkung besteht nicht.

### § 15. Hinweis auf die Methoden zur Sichtbarmachung der Struktur in den Chlorophyllkörpern.

Da die Chlorophyllkörper in den unverletzten Zellen ihre Struktur nur unvollständig erkennen lassen, ist es nothwendig sie mit Reagentien zu behandeln.

Fällungs- und Fixierungsmittel verwandeln die Chlorophyllkörper in einen fibrillären Niederschlag; da derartige geformte Niederschläge jedoch auch an strukturfreien Lösungen hervorgerufen werden können, was im § 28 näher bewiesen wird, so sind jene Methoden nicht ausreichend. Handelt es sich darum, die Existenz von Fibrillen, die in einer Grundsubstanz liegen, zu beweisen, so ist die Einwirkung von Wasser mit darauffolgender Fixirung anzuwenden. Besser ist die Trennung durch verdünnte Kochsalzlösungen, da hier die Anwendung einer besonderen Fixirungsflüssigkeit vermieden wird. Die letztere Methode hat auch noch den Vortheil, dass die Grana in den Fibrillen sichtbar bleiben.

Die Fibrillen ohne Grana kann man sehr deutlich durch verdünnte Essigsäure oder angesäuerte Lösung von Ferroeyankalium, meist auch durch sehr verdünnte Salzsäure nachweisen.

Handelt es sich darum, die Existenz der Grana an Chlorophyllkörpern zu beweisen, an denen sie sonst nicht sichtbar sind, ist die Einwirkung von concentrirter Zuckerlösung oder das Einlegen in Hühnereiweiss zu empfehlen.

Bei der Pringsheim'schen Methode, durch concentrirtes Sonnenlicht die Struktur der Chlorophyllkörper sichtbar zu machen, findet ebenfalls eine Fällung und Fixirung der Chlorophyllkörper statt, wobei ausserdem noch Zerstörung des Chlorophylls stattfindet, da ich jedoch die durch Fällungsmethoden erhaltenen Bilder nicht für beweisend halte, kann ich die Richtigkeit der daraus gezogenen Schlüsse nicht anerkennen, indem die von Pringsheim angegebene Struktur mit dem übrigen Verhalten gegen Reagentien nicht übereinstimmt. Desgleichen verwerfe ich die Einwirkung concentrirter Salzsäure zur Sichtbarmachung der Struktur, da dieselbe zu energisch zersetzend wirkt.

---

## Kapitel III.

### Zellkerne.

#### § 16. Die morphologische und chemische Untersuchung des Zellkerns.

In Folge der überaus zahlreichen Untersuchungen namentlich thierischer Objecte ist die morphologische Zusammensetzung der Kerne, ihre Struktur im Grossen und Ganzen genau bekannt, und nur über Detailfragen herrschen differente Ansichten. Unsere Kenntnisse der chemischen Zusammensetzung dagegen sind noch so mangelhafter Natur, dass eine allgemeinere Bearbeitung der einschlägigen Fragen erwünscht sein musste, um so mehr, als man von verschiedenen Seiten geneigt war, aus den bisherigen geringen und unvollständigen Untersuchungen weittragende Schlüsse zu ziehen. So verlor man sich z. B. in Hypothesen über die Bedeutung des einen oder des anderen Stoffes, ohne dass man die Richtigkeit der Praemissen jemals geprüft hätte.

Damit es dieser Arbeit auch nicht an heiteren Stellen fehle, citire ich aus einer Abhandlung von W. Pfitzner<sup>1)</sup> folgendes: „Wir haben also die Reihe: anorganische Verbindungen — einfachere organische Verbindungen — Albumine — Protoplasma — Kernstoffe — Chromatin — in der sich eine wachsende Zunahme des Molekulargewichtes kundgiebt. Schon bei dem dritten Gliede wird es uns unbekannt, doch müssen wir nach allen Ergebnissen unserer Forschungen annehmen, dass es ein ganz bedeutend hohes ist, wir sind somit berechtigt, für das Endglied dieser Reihe ein ganz „immenses“ anzunehmen“. Daraus leitet Pfitzner mit bewunderungswürdiger Verläugnung chemischer und physikalischer Thatsachen die Frage ab, „ob die von ihm beschriebenen Chromatinkugeln nicht bloß histologische Elemente mit der Werthigkeit von Molekülen, sondern geradezu die wahren wirklichen Moleküle seien“! Bei näherer Untersuchung stellt sich jedoch heraus, dass gerade das Chromatin ein relativ leicht löslicher Stoff ist, dass er also, wenn wir bloß von den Löslichkeitsverhältnissen ausgehen wollen, ein relativ kleineres Molekulargewicht haben muss, als die übrigen Proteinsubstanzen.

---

<sup>1)</sup> W. Pfitzner, Morpholog. Jahrbuch. Bd. VII. 1882. pag. 300.

Dafür, dass die Kernstoffe complicirtere Körper sind als die Substanzen des übrigen Protoplasmas, sowie für die noch weitere Complicirtheit des Chromatins fehlt jede Spur von Beweis. Die von Pfitzner angegebene Stoffreihe ist also rein willkürlich und wissenschaftlich ohne Werth.

Dies ein Beispiel zeigt uns in genügender Weise, wie nothwendig es ist, über die chemischen Verhältnisse des Protoplasmas klarere Vorstellungen zu verbreiten.

Es scheint mir fraglich, ob man allein durch die mikroskopische Betrachtung morphologischer Verhältnisse dazu gelangen kann, die physiologische Funktion eines bestimmten Elementartheiles der Zelle festzustellen. Es gilt dies speciell auch von der Bedeutung des Kernes. Da wir im Wesentlichen jedoch auf die mikroskopische Untersuchung ohne weitere Einführung von Experimenten in unsern Beobachtungsreihen angewiesen sind, müssen wir wenigstens bestrebt sein, die jetzt erreichbaren Resultate nach Kräften auszudehnen. Dies wird aber hauptsächlich dadurch möglich sein, wenn die chemischen Verhältnisse des Kernes näher berücksichtigt werden. Vielleicht gewinnen wir dann sichere Anhaltspunkte für die Bedeutung der einzelnen Strukturelemente. Doch wenn dies auch nicht gelingen sollte, so ist doch noch durch die von mir angewendete Methode die Möglichkeit gegeben, die einzelnen Strukturelemente des Kernes näher zu definiren, sowie die Kern- und Zelltheilungsfragen weiter zu führen, nachdem man mit den bisherigen Methoden so ziemlich zu Ende war.

Derartige Fragen, ob die Nucleolen nur verdickte Stellen im Kerngerüst oder besondere Körper seien, werden dadurch endgültig entschieden, dass ihre chemische Differenz genau präcisirt wird. Ebenso ist die Frage nach dem Vorhandensein einer besondern Kernmembran beantwortet, sobald ihre chemische Verschiedenheit von den Balken des Kerngerüstes mit Sicherheit constatirt ist. Es muss sich herausstellen, ob die als Nebennucleolen bezeichneten Körper wirklich den Nucleolen oder den grossen Chromatinkugeln nahe stehen.

Ausserdem erhalten wir durch die chemische Unterscheidung der einzelnen Strukturelemente die Möglichkeit zu beurtheilen, was im Kern durch Fixierungsmittel hervorgerufene Kunstproducte sind, was als ursprüngliche Anlage erscheint, indem bei einfachen Niederschlagsformen keine chemische Differenz vorhanden ist.

Werthvoll für das Verständniss der Zelle ist es, das Verhältniss zu kennen, in welchem die Stoffe des Kernes zu jenen des Protoplasmas stehen. Ist der Kern nur verdichtete protoplasmatische Substanz oder zeigt er wesentlich andere Reactionen, sind die im Kern sichtbaren Microsomen identisch mit den körnigen Gebilden des Cytoplasmas, kommen überhaupt im Kern und dem übrigen Protoplasma einzelne identische Stoffe vor oder nicht?

Auch ohne dass ich diese Fragen weiter ausmale, wird jeder Biologe die Wichtigkeit derselben zugeben müssen.

Meine bisherigen Untersuchungen beschränken sich auf die sogenannten ruhenden, besser gesagt auf die sich nicht theilenden Kerne, doch hoffe ich später meine Untersuchungen auch auf Theilungszustände ausdehnen zu können. Alle bis jetzt unterschiedenen Strukturelemente konnte ich als chemisch different nachweisen. Allerdings unterscheiden sich die einzelnen Strukturelemente des Kerns nicht alle in gleichem Maasse von einander, so dass eigentlich nur drei verschiedene Proteinstoffarten im Kerne nachzuweisen sind, wovon zwei Proteinstoffarten in je zwei Modificationen vorkommen, die sich sehr nahe stehen.

Ich unterscheide folgende Stoffe: Erstens das von der Kernfigur abstammende Chromatin, durch seine grosse Tinctionsfähigkeit in der Zelle leicht nachzuweisen. Es kommt im ruhenden Pflanzenkern in grösseren und kleineren Kugeln und Körnchen vor, die der farblosen Gerüstsubstanz, den Kernfäden eingelagert sind. Es ist identisch mit den Nucleomicrosomen Strasburgers.

Zweitens das Pyrenin und Amphipyrenin, die beiden Stoffe, welche die Kernkörperchen und die Kernmembran bilden. Diese beiden Stoffe stimmen in fast allen Reactionen überein, sie unterscheiden sich jedoch durch ihre Tingirbarkeit, indem das Pyrenin der Kernkörperchen Farbstoffe fast immer sehr leicht aufnimmt und festhält, während das Amphipyrenin nur wenig oder gar nicht tingirt wird. Beide Stoffe zeigen häufig dem Chromatin gerade entgegengesetzte Reactionen.

Drittens das Linin und Paralinin, die Stoffe der Kernfäden und der dazwischen befindlichen Grundsubstanz. Die Kernfäden oder Kernfibrillen bilden das achromatische Kerngerüst, welches das Chromatin enthält und den fädig-fibrillären Aufbau des Kerns bedingt. Strasburger bezeichnet es als Nucleohyaloplasma, Pfitzner als Parachromatin. Ob es mit den Spindelfasern der Kerntheilungsfiguren in Verbindung zu bringen ist, vermochte ich nicht zu entscheiden, es wird dies erst durch die Untersuchung von Kerntheilungsstadien möglich sein.

Die Grundsubstanz des Kerns, von Flemming früher als Zwischensubstanz, später nach dem Vorgange von R. Hertwig als Kernsaft bezeichnet, füllt die Zwischenräume des Fibrillengerüstes aus, zeigt sich sehr wenig tingirbar und wurde deshalb auch Achromatin genannt. An Kernen, bei welchen die Fibrillen relativ sehr zurücktreten, auch wohl nur stärkere Fäden in einer homogenen Grundmasse zeigen, ist die Annahme einer solchen besonderen Grundsubstanz wenigstens vom morphologischen Standpunkte aus zu rechtfertigen. Wo jedoch die Fibrillen das ganze Volumen des Kerns ausfüllen, stösst diese Annahme schon auf Schwierigkeiten, da hier die Grundsubstanz, was ihre Menge anbelangt, sehr zurücktritt. Nach meinen Erfahrungen über die chemische Beschaffenheit beider Stoffe kann ich sagen, dass beide sich sehr nahe stehen und die Differenzen im Verhalten gegen die einzelnen Reagentien nur sehr gering sind, wodurch eine genaue Trennung und Scheidung beider sehr erschwert wird. Ja sogar die in erster Linie unter-

scheidende Reaction zwischen Gerüst und Zwischensubstanz, das Verhalten gegen Pepsinverdauung ist nicht ganz einwandfrei. Ich muss es daher als möglich bezeichnen, dass weitere Untersuchungen die Identität von Gerüst und Zwischensubstanz nachweisen können, in welchem Falle die Unterscheidung von Linnin und Paralinin fallen zu lassen wäre, resp. der Ausdruck Paralinin zu beseitigen wäre. Da mir jedoch einige stoffliche Differenzen vorhanden zu sein scheinen, will ich den Versuch machen, die morphologisch unterschiedenen Strukturelemente auch chemisch zu trennen. Weitere Untersuchungen werden zu zeigen haben, ob eine solche Trennung gerechtfertigt war oder nicht.

Jedenfalls ist es sicher, dass bei der Aehnlichkeit der Eigenschaften von Grundsubstanz und Fibrillen die erstere nicht als eine Flüssigkeit aufgefasst werden darf und die Bezeichnung als Kernsaft nicht gerechtfertigt ist. Ebenso wenig scheint mir der Ausdruck Achromatin gerechtfertigt zu sein, da die Grundsubstanz sich sehr wohl tingiren lässt, wenn sie auch den Farbstoff nicht in demselben Maasse festzuhalten vermag, wie Chromatin und die Substanz der Kernkörperchen.

Ist nun auch die Grundsubstanz keine Flüssigkeit oder Lösung, so ist damit doch noch keineswegs ausgeschlossen, dass von den Proteinstoffen des Kerns gelöste Substanzen imbibirt sind. Diese den Molekülen der einzelnen Strukturelemente zwischengelagerten Substanzen können sich durch analoge Entmischungsvorgänge, wie wir sie bei dem Cytoplasma antreffen, bei herauspräparirten Kernen in Vacuolen ansammeln und so eine der übrigen Kernsubstanz gegenüberzustellende Flüssigkeit bilden, die man dann mit Recht als Kernsaft (*Karyochylem*) zu bezeichnen hätte. Diese Unterscheidung scheint mir jedoch durch die bisher gegebenen Thatsachen nicht gerechtfertigt.

E. Zacharias nimmt an, dass der Kern aus dreierlei Stoffen bestünde, dem Nuclein, dem Plastin und aus Eiweiss. Die ersten beiden Substanzen bleiben bei der Behandlung mit Pepsin in saurer Lösung erhalten, während die Eiweissstoffe verdaut werden. Das Nuclein soll hauptsächlich im Chromatin enthalten sein, das Plastin in der Grundsubstanz, d. h. im Gerüst und der dazwischen befindlichen Substanz, welche Zacharias nicht näher unterscheidet. Das Kernkörperchen besteht zum grössten Theil aus Eiweiss, ausserdem noch aus Plastin. Das Eiweiss durchtränkt ferner alle Kernsubstanzen und wird aus denselben bei der Verdauung hinweggelöst.

Gegen diese Auffassung mache ich in erster Linie geltend, dass als Plastin zugleich die Proteinsubstanz des Cytoplasmas bezeichnet wird, dieselbe stimmt aber ganz und gar nicht mit der Gerüst- oder Grundsubstanz des Kerns überein, was man nach der gleichartigen Bezeichnung zu glauben veranlasst wird. Will man nicht zwei heterogene Stoffe mit demselben Namen bezeichnen, so muss man den Namen Plastin aus der Reihe der Kernstoffe streichen, da ein dem Plastin des Cytoplasmas identischer Stoff im Kern nicht vorkommt.

Ferner, da sowohl das Linnin als das Chromatin in Pepsin unverdaubar

sind, und im übrigen die Identität mit den chemisch dargestellten Nucleinen nicht erwiesen ist, Linin und Chromatin sich ausserdem durch verschiedene Reactionen gut unterscheiden lassen, ist es nicht gerechtfertigt anzunehmen, dass das eine oder das andere Strukturelement aus Nuclein besteht. Ich habe daher die Bezeichnung durch neue Namen, welche ich den morphologischen Verhältnissen anpasste, vorgezogen.

Auch die Ansicht über die Vertheilung des Eiweisses in dem Zellkern kann ich nicht billigen. Die einzelnen Strukturelemente gewinnen ihre Bedeutung erst dadurch, dass sie chemisch differente Stoffe sind, ein bestimmter Proteinstoff kann aber entweder verdaubar sein oder nicht und dementsprechend wird er in die eine oder andere Kategorie der Proteinstoffe zu stellen sein. Wären dagegen die einzelnen Strukturelemente, wie Zacharias es will, aus zwei verschiedenen Stoffen zusammengesetzt, aus verdaubarer und nicht verdaubarer Substanz, so musste sich eine derartige Zusammensetzung auch bei der Behandlung mit anderen Reagentien kundgeben; dies ist aber nicht der Fall, sondern verdaubare und nicht verdaubare Körper kommen getrennt, als differente Strukturelemente im Kerne vor.

Wir werden Gelegenheit haben auf die Angaben von Zacharias sowohl in diesem Kapitel, als im fünften Kapitel (§ 36) beim Vergleich der in den Pflanzen gefundenen Proteinstoffe zurückzukommen.

## § 17. Die Beschaffenheit des Zellkerns unter verschiedenen Bedingungen.

Zur richtigen Beurtheilung der Reagentienwirkung ist es nothwendig, bei der vorliegenden Untersuchung auch die Veränderungen zu berücksichtigen, welche die Kerne in der lebenden Zelle ohne Behandlung mit Reagentien erleiden. Es sei mir daher gestattet, hier in Kürze die Beschaffenheit der Kerne zu erörtern, wie sie sich uns in verschiedenen Altersstufen, sowie bei differentem Ernährungszustande darbietet, wodurch wir zu gleicher Zeit ein Urtheil über die Bedeutung der einzelnen Kernstoffe anbahnen.

Was die Form und die äussere Gestalt des Zellkernes anbelangt, so schwankt dieselbe sehr bedeutend nach dem Alter der Zellen, wie dies schon von Schmitz<sup>1)</sup>, Johow<sup>2)</sup> und mir<sup>3)</sup> hervorgehoben worden ist.

Während in jungen Pflanzentheilen am Vegetationspunkt und in dessen Nähe die Zellkerne von der Kugelform nur wenig abweichen, entweder

1) Schmitz, Sitzungsberichte der niederrheinischen Gesellschaft für Natur- und Heilkunde in Bonn. 13. Juli 1880. pag. 33 des Separatabdruckes.

2) F. Johow, Untersuchungen über die Zellkerne in den Secretbehältern und Parenchymzellen der höheren Monocotylen. Dissertation 1880, p. 25, 26, 35.

3) F. Schwarz, Beitrag zur Entwicklungsgeschichte des pflanzlichen Zellkerns nach der Theilung, in Cohn's Beiträgen zur Biologie der Pflanzen. 1884. Bd. IV. Heft I. pag. 81.

Kugeln selbst sind oder Ellipsoide, deren Achsen in der Länge nur wenig von einander differiren, werden die Kerne in älteren Zellen immer mehr und mehr flach, bis sie schliesslich in dem protoplasmatischen Wandbelag der Zelle ausgebreitet, der Zellwand angedrückt weiter leben. Dabei behalten sie entweder runde Linsenform oder sie werden an zwei entgegengesetzten Seiten zu Spitzen ausgezogen. Wir sehen, dass sich der Kern namentlich in der Längsachse des Pflanzentheils streckt, während die Breite in den einzelnen Stadien nur wenig differirt. Die Kerndicke dagegen nimmt mit dem Alter bedeutend ab. In meiner oben citirten Schrift finden sich für diese Dimensionsänderungen auch Zahlenbelege. Diese Formveränderungen sind theilweise durch die Gestalt der Zellen bedingt, so in langgestreckten, sehr schmalen oder englumigen Zellen, doch auch ohne diese äussere Beschränkung erhalten die älteren Zellkerne unregelmässige Spitzen, Auszackungen und Biegungen.

Aus diesen Formveränderungen geht hervor, dass der Aggregatzustand der Kerne in der Jugend ein etwas anderer ist als im Alter. Während sie zunächst das Bestreben haben, sich wie eine Flüssigkeit abzurunden, sind sie im Alter starr genug, um ihre spitzigen Formen beizubehalten.

Haben wir sehr alte Zellen vor uns, so kann die Einbuchtung der Zellkerne so weit gehen, dass sich Kernpartien abschnüren und von einander trennen. Wir erhalten dann wulstige, mehr rundliche Formen, die schliesslich zur Kernfragmentation führen.

Gleichzeitig mit diesen Formveränderungen erleidet das Aussehen und die Tinctionsfähigkeit der Kerne wesentliche Veränderungen.

Ich meine hier speciell das Aussehen der Kerne in unfixirten, lebenden Zellen. Im Jugendzustande besitzen die Kerne ein hellglänzendes Aussehen, sie sind stark lichtbrechend und zeigen in der lebenden Zelle keinerlei Strukturen, ausgenommen hiervon sind natürlich die in Theilung begriffenen Kerne, da man die Theilungsfigur auch schon in unfixirtem Zustande erkennen kann. Selbstverständlich fehlen jenen hellglänzenden Kernen die Strukturen keineswegs, sie sind nur aus irgend einem Grunde uns nicht sichtbar. Ich glaube, dass die Ursache des stark lichtbrechenden Aussehens in dem Quellungsstate der Kernsubstanzen zu suchen ist. Die Kernsubstanzen erweisen sich in den jüngsten Theilen bei Reagentienwirkung immer als etwas stärker quellbar oder löslich, und diese Eigenschaften müssen sich auch in der unverletzten Zelle geltend machen. Von Einfluss auf den Quellungsstate und das Aussehen mag auch der grössere Gehalt an Kalisalzen sein. Ausserdem kommt in den jüngsten Pflanzentheilen ein Eiweissstoff gleichmässig in dem Protoplasma und dem Zellsafte vor, welcher auch den Kern durchtränkt. Es ist dies der schon von Sachs nachgewiesene Proteinstoff, welcher sich mit schwefelsaurem Kupfer und Kalilauge violett färbt. Eine solche Eiweisslösung kann gerade so wie das Oel, welches fixirte, aber ungefärbte Kerne durchdringt, einen Theil der Struktur unsichtbar machen.

Fixirt man die jugendlichen Kerne, so tritt das engmaschige Kerngerüst zu Tage. Die Masse der Fibrillen ist im Vergleich zur Grundsubstanz sehr gross, das Kerngerüst bildet ein dichtes Netz, das für den weniger geübten Beobachter das Aussehen eines Körnchenhaufens hat, indem die Knoten des Kerngerüsts meist besser hervortreten als die übrige Substanz. Wie wir an dem Kerne aus der Wurzelspitze von *Hyacinthus* (Taf. III, Fig. 114) sehen, ist das Chromatin im ganzen Fibrillengerüst gleichmässig vertheilt, es erfüllt in grosser Menge den ganzen Kern, ohne dass besondere kugelförmige Ansammlungen zu beobachten wären. Dies ist jedoch nicht immer der Fall, indem bei bestimmten Pflanzen neben dem im Gerüste gleichförmig vertheilten Chromatin eine geringe Anzahl grösserer Kugeln vorkommen kann, welche in ihren sämtlichen Eigenschaften mit dem Chromatin, nicht aber mit den Nucleolen identisch sind. Als Beispiel führe ich die jungen Kerne aus dem Keimlingsstengel von *Vicia faba* (Taf. III, Fig. 94) an. Ein ganz ähnliches Aussehen bieten die Kerne aus der Wurzelspitze derselben Pflanze. Hier konnte ich genau verfolgen, wie aus dem ursprünglich gleichmässig gefärbten Kernfaden der soeben getheilten Kerne (Taf. III, Fig. 92) zunächst ein weitmaschiges Gerüst hervorging mit getrennten Körnchen (Fig. 93). Indem diese Chromatinkörnchen noch weiter zerfallen und der Kernfaden zugleich Anastomosen bildet, entsteht ein Bild, das dem ruhenden Kerne schon sehr nahe steht. Die kleinen Chromatinkörnchen können sich vollständig gleichmässig in der Gerüstsubstanz vertheilen, meistens bleiben jedoch einige grössere Chromatinpartien erhalten, es entstehen durch Zusammenfliessen grössere Chromatinkugeln, die dann dem Gerüst eingelagert sind (Fig. 94, 98, 105). Ich glaube, dass bei vielen Untersuchungen Verwechslungen dieser Chromatinkugeln mit Nucleolen untergelaufen sind, da dieselben in der Grösse nur wenig, in der Tingirbarkeit von den Nucleolen fast gar nicht abweichen. Diese grösseren Chromatinkugeln sind nicht etwa Kunstprodukte, denn man kann sie, besonders bei etwas älteren Zellen, auch am lebenden Object beobachten.

Durch Messungen an verschiedenen alten Kernen habe ich gezeigt, dass die Kerne nach der Theilung anfangs sehr bedeutend an Volumen zunehmen. Diese Volumzunahme ist nicht durch die Vermehrung des Chromatins bedingt, dessen Menge, soviel man bei der verschiedenartigen Vertheilung beurtheilen kann, anfangs unverändert bleibt, später jedoch entschieden abnimmt. Dagegen vermehrt sich die Gerüst- und Zwischensubstanz nach der Theilung sehr bedeutend.

Die Substanz des Kernkörperchens nimmt nach meinen Messungen in den Jugendstadien der Kerne bedeutend zu, die Grösse derselben geht jedoch schon herab, so lange das Kernvolumen noch steigt. In den weitaus meisten Fällen liegt das Maximum des Nucleolusvolumens vor der Zone, in welcher der Kern sein Maximum erreicht, und in vielen Fällen tritt gerade dann die bedeutendste Verkleinerung des Nucleolusvolumens ein, wenn der Kern sein Volumen am stärksten vergrössert. Es scheint mir demnach wahr-

scheinlich, dass ein Theil der Kernkörperchensubstanz direkt bei der Neubildung der übrigen Kernsubstanz verbraucht wird. Das Nähere hierüber findet sich in meiner oben citirten Arbeit.

Im Gegensatz zu diesen jugendlichen Kernen stehen die Kerne der ausgewachsenen Zellen. Im unfixirten Zustande sehen sie nicht mehr homogen, glänzend aus, sie lassen vielmehr schon in der lebenden Zelle einzelne Strukturelemente erkennen. Ist das Fibrillenetz dicht, so erscheint der ganze Kern meist körnig oder punktirig, ist das Fibrillenetz dagegen weniger dicht, so erkennen wir bei günstigen Objecten auch die einzelnen Fibrillen und die grösseren Chromatinkugeln. Derartige Objecte eignen sich besonders zum Studium der chemischen Eigenschaften der Kerne, da wir nicht immer erst zu färben brauchen, um zu erkennen, ob bestimmte Strukturelemente in einem Reagens gelöst sind oder nicht. Bemerkenswerth ist ferner noch, dass die Nucleolen bald hinter dem Vegetationspunkt sichtbar werden. Es deutet dies darauf hin, dass jene Substanzen, welche dem Kern das hellglänzende Aussehen verliehen haben, schon relativ bald verschwinden, wodurch der Kern durchsichtiger gemacht wird. Dabei ist jedoch nicht zu vergessen, dass in sehr alten Zellen der Nucleolus oft nur ein sehr geringes Volumen hat und deshalb im ungefärbten Kerne leicht übersehen werden kann.

Die von Johow (l. c. p. 12) angegebene Thatsache, dass die Zellkerne älterer Raphidenschläuche von *Tradescantia virginica* vacuolig oder schaumig werden, konnte ich niemals, auch nicht an sehr alten Zellen beobachten. Ich muss daher glauben, dass derartige Bilder erst durch die von Johow angewendete Maceration mit Kalilauge entstanden sind.

In sehr alten Zellen, namentlich in Geweben, deren Plasma dem Absterben geweiht ist, z. B. in Korkzellen, alten Holzgefässen etc. werden die Kerne vollständig strukturlos, sie bilden eine meist dunkel gefärbte, homogene oder undeutlich körnige Masse. Wie schon Strasburger<sup>1)</sup> erwähnt, verschwindet vom Protoplasma der Kern zuletzt, er schrumpft zu einem kleinen glänzenden Gebilde zusammen, nimmt hin und wieder gelappte Formen an und zerfällt schliesslich in einzelne Körnehen.

Zum genaueren Studium der Strukturen reicht frisches, unverändertes Material nicht aus, wir müssen unsere Objecte fixiren und färben, und wo auch dies nicht ausreicht, ist meine Methode der partiellen Lösung anzuwenden, wodurch erst die sichere Entscheidung zwischen den einzelnen Stoffen und Strukturelementen möglich wird.

Immerhin war es in vielen Fällen nothwendig, durch Färbungen die gewonnenen Resultate zu controlliren, namentlich muss man bei der Untersuchung über das Vorkommen des Chromatins darauf sehen, eine reine Chromatinfärbung zu erhalten. Wir dürfen nicht im Allgemeinen von der Tingirbarkeit des Kernes sprechen, denn auch die übrige Kernsubstanz speichert bis zu einem gewissen Grade Farbstoffe auf, sondern müssen den

1) Ueber den Bau und das Wachstum der Zellhäute. 1882. p. 51 u. 83.

Begriff Chromatin auf die von der Kernfigur abstammende, durch bestimmte chemische Eigenschaften ausgezeichnete, färbare Substanz beschränken.

Zum Nachweis des Chromatins bediente ich mich der von Gram angegebenen Methode, welche vorzügliche Bilder liefert. Da dieselbe in der Botanik bisher keine Verwendung gefunden hat und weitere Verbreitung verdient, sei es mir gestattet, dieselbe hier anzuführen.

Die durch circa 24stündiges Liegen in Flemming'scher Lösung fixirten Schnitte wurden mindestens ebensolange unter mehrmaliger Erneuerung mit Wasser ausgewaschen, eventuell noch mit Alkohol etwas nachgehärtet. Sie kommen sodann in die Färbeflüssigkeit, welche man sich aus 3 gr Anilinöl, 1 gr Gentanviolett, 15 gr Alkohol abs. unter einem Zusatz von 100 gr destillirtem Wasser bereitet hat. Nachdem die Schnitte in derselben 3 bis 5 Minuten verweilt, werden sie einige Secunden in Alkohol absol. abgespült, um die nachfolgende Entfärbung abzukürzen und sodann in eine Jodlösung (1 Th. Jod, 2 Th. Jodkalium, 300 Th. Wasser) eingetragen. Schliesslich werden sie mit Alkohol so lange entfärbt (es dauert dies circa 8 bis 10 Minuten), bis die Schnitte ein schwach blaues Aussehen haben, mit Nelkenöl aufgehellt und in Canadabalsam eingeschlossen.

Dieselbe Methode wurde schon früher von Fr. Nissen<sup>1)</sup> bei thierischen Kernen mit bestem Erfolge angewendet.

Nach diesem Excurs über die Methode kehre ich zur Beschreibung der Beschaffenheit des Kerns in älteren ausgewachsenen Zellen zurück.

Man kann sich leicht davon überzeugen, wie das Volumen des Kerns mit dem Alter der Zellen abnimmt, nachdem der Kern in einer gewissen Entfernung vom Vegetationspunkt seine Maximalgrösse erreicht hatte. Es fragt sich nun, sind bei dieser Reduction der Kernsubstanz alle Strukturelemente gleichmässig betheilig, können bestimmte Substanzen vollständig verschwinden, oder ist die Abnahme von Kernsubstanzen mehr eine ungleichmässige. Es ist dies nothwendig zu wissen, da bestimmte von uns angegebene Reactionen eventuell ausbleiben können, wenn ein oder das andere Strukturelement in zu geringer Menge vorhanden ist.

Das wesentlichste Ergebniss der in dieser Richtung durchgeführten Beobachtungen ist, dass die einzelnen Proteinstoffe wohl in dem Kerne abnehmen, der eine Stoff etwas mehr, der andere weniger; aber niemals verschwindet, so lange die Zelle lebensfähig ist, ein Strukturelement vollständig aus dem Kern. Die von mir unterschiedenen Stoffe resp. Strukturelemente sind demnach keine metaplastischen Substanzen, sondern sie bilden gewissermassen den constitutionellen Theil des Kerns.

Für die Abnahme der Gerüstsubstanz haben wir zwei, je nach der Pflanzenart verschiedene Formen. Erstens die Zahl der Fibrillen bleibt erhalten, aber sie werden bedeutend substanzärmer, sie weichen nur sehr wenig auseinander, bilden also auch noch im alten Kern ein dichtes Geflecht,

<sup>1)</sup> Archiv f. mikroskop. Anatomie. Bd. 26. p. 339.

ihre Contouren treten jedoch nicht mehr so scharf hervor wie im jungen Kern, die Chromatinmenge in der Gerüstsubstanz hat bedeutend abgenommen, die Kerne sind also weniger tingirbar. Als Beispiel führe ich die Kerne aus einer Hyacinthenwurzel an; Taf. III, Fig. 114 stellt einen Kern vom Vegetationspunkt dar, er zeigt ein dichtes Gerüst, während der Kern aus dem Basaltheil der Wurzel, Fig. 115, alle die besprochenen Veränderungen seines Alterszustandes aufweist.

Zweitens, die Zahl der Fibrillen vermindert sich, sie füllen nicht mehr den ganzen Kernraum aus, sondern bilden nur mehr einzelne Stränge, in denen dann die Chromatinkörper liegen. Ein noch verhältnissmässig dichteres Gerüst sehen wir z. B. bei den Kernen aus dem Blatte von *Scilla maritima* (Taf. III., Fig. 99). Eine weitergehende Reduction finden wir z. B. bei den Kernen der *Phajusknollen* (Taf. III., Fig. 105, 109, 110), wo die Fibrillen im Vergleich zur Grundsubstanz sehr zurücktreten, ebenso bei den Kernen aus dem Blatte von *Cymbidium aloefolium* (Fig. 98), oder aus dem Stengel von *Impatiens parviflora* (Fig. 102 und 103).

Bei dieser Reduction der Fibrillensubstanz ist das Chromatin nicht mehr gleichmässig in den Fibrillen vertheilt, es sammelt sich in Form von grösseren Kugeln und rundlichen Körpern an einzelnen Stellen des Gerüstes an (Taf. III, Fig. 98, 105, 109).

Bei der Bedeutung, welche in neuerer Zeit allgemein dem Chromatin zugeschrieben wird, möchte ich noch etwas näher auf dessen Vertheilung in der Pflanze eingehen.

Das Chromatin findet sich überall dort am reichlichsten vor, wo es sich um die Neubildung von Protoplasma handelt, also an allen jenen Theilen, wo Neubildung von Zellen stattfindet. Sind die Zellen ausgewachsen, so nimmt die Menge desselben bis zu einem gewissen Grade ab, ohne dass es jedoch jemals vollständig aus dem Kerne entfernt wird. Wie weit und wie schnell die Reduction des Chromatins vor sich geht, hängt in erster Linie von der Pflanzenart ab, während der Einfluss äusserer Umstände nicht klar zu definiren ist. Die Abnahme ist aber nicht abhängig von dem Ernährungszustande und der Menge des Inhalts der Zellen. So verschwinden z. B. in den Kernen aus dem Hypocotyl von *Lupinus luteus* (Taf. III. Fig. 97) die kleinen Chromatinkörnchen schon unmittelbar hinter dem Vegetationspunkte, es bleiben nur die etwas grösseren Chromatinkörper zurück, obgleich die Zellen sonst sehr inhaltsreich waren. Etwas ähnliches war bei der Keimlingswurzel von *Pisum sativum*, bei dem Hypocotyl von *Helianthus annuus* und *Linum usitatissimum* zu beobachten.

Besonders machte sich dann eine weitergehende Abnahme in der Quantität des Chromatins geltend, wenn die betreffenden Pflanzen sich unter ungünstigen äusseren Bedingungen befanden, speciell wenn sie langsam wuchsen, während bei kräftigem, raschen Wachsthum die Chromatinmenge eine grössere war.

Bei anderen Pflanzen, z. B. bei *Vicia sativa* oder *Vicia faba*, *Pha-*

*seolus multiflorus*, *Cymbidium aloefolium*, *Phajus grandifolius* nimmt die Chromatinmenge viel weniger ab, es bleiben auch noch in alten Zellen grössere Chromatinreste bestehen.

Die oben ausgesprochene Ansicht, dass die Menge des Chromatins nicht abhängig ist von dem Gehalt der Zelle an protoplasmatischer oder stickstoffreicher Substanz, wird uns noch durch zwei andere Thatsachen bestätigt.

Die inhaltsreichsten Zellen sind entschieden die Reservestoffe führenden Zellen von Samen und Knollen, und gerade diese zeigen nur wenig Chromatin.

Ausserdem sind hungernde Pflanzen maassgebend, bei welchen das Chromatin nicht schneller oder in höherem Maasse abnimmt, als dies ohnehin mit dem Alter geschieht.

Bei der Untersuchung von Samen stellte sich heraus, dass alle nicht mehr wachsenden Zellen sehr kleine Kerne besaßen und zugleich sehr arm an Chromatin waren. Dabei war es vollständig gleichgültig, was für Substanzen als Reservestoffe abgelagert waren. Bei den Samen von *Phaseolus multiflorus* und *Pisum sativum* sind ausser der Stärke sehr viel Proteinstoffe vorhanden, bei den Samen von *Hordeum vulgare*, ferner bei Kartoffelknollen und beim schwarzen Rettig sind die Zellen mit Stärke erfüllt; bei den Samen von *Linum usitatissimum*, *Pinus silvestris* dient Oel als Reservestoff, in allen Fällen war die Menge des Chromatins eine ganz geringe, nur in der Kleberschicht des Gerstensamens war etwas mehr Chromatin zugegen. Ausserhalb des Kerns war kein Chromatin vorhanden, die sonstigen Färbungen bei *Linum* und *Pinus* sind auf die vorhandenen Oeltropfen zurückzuführen, die in ähnlicher Weise das Methylviolett festhalten wie das Chromatin, die sich jedoch durch Benzin leicht entfernen lassen.

Im Gegensatz zu diesen Reservestoffzellen, die bei der Keimung nur wenig oder gar nicht wachsen, enthalten die Zellen des sich später vergrössernden Embryos grosse chromatinreiche Kerne. Dieser Reichthum an Kernsubstanz ist so auffallend, dass die Erscheinung nothwendig mit der Funktion dieser wachsenden Zellen zusammenhängen muss, der Ernährungszustand der ganzen Zelle dagegen ist nicht maassgebend.

Was die Hungerzustände der Pflanzen anbelangt, so liegt eine Angabe von Brass<sup>1)</sup> vor, nach welcher das Chromatin in hungernden Zellen vollständig verschwinden könne, während bei guter Ernährung die Kerne chromatinreich würden. Diese von Brass hauptsächlich an Infusorien gefundenen Thatsachen lassen sich bei den Kernen höherer Pflanzen nicht bestätigen. Bei den meisten Pflanzen nimmt, wie ich gezeigt habe, die Menge des Chromatins bald unter dem Vegetationspunkte ab, es bleibt jedoch eine je nach der Pflanzenart bestimmte Quantität zurück, diese Quantität wird aber auch bei hungernden Zellen nicht weiter reducirt. Ich liess Samen von *Phaseolus multiflorus* im Dunkeln keimen und die Pflanzen 4 Monate lang im Dunkeln stehen. Trotz dieser langen Hungersnoth ist

1) Zoologischer Anzeiger. VI. Jahrgang 1883. No. 156. p. 682.

das Chromatin nicht vollständig verschwunden, obgleich der übrige Zellinhalt besonders in den basalen Theilen des Stengels ganz ausserordentlich reducirt war. Wir finden Kerne (Taf. III, Fig. 104b), worin nur noch sehr kleine Chromatinkörnchen vorhanden sind, aber auch Kerne (Fig. 104a), wo noch ebenso viel Chromatin nachzuweisen ist, als im jungen inhaltsreichen Keimlingsstengel unterhalb des Vegetationspunktes.

Um das Aushungern zu beschleunigen, entfernte ich bei den im Dunkeln wachsenden Keimlingen von *Pisum sativum* und *Vicia sativa* bald nach dem Hervortreten des Epicotyls die Reservestoff führenden Cotyledonen. Die Stengeltheile blieben kürzer und sehr dünn. Ihre Zellen zeigten nach 6 Wochen nur sehr wenig Inhalt, die Kerne wiesen, was den Chromatingehalt anbelangt, jedoch keine wesentlichen Unterschiede auf, nur ihr Volumen hatte abgenommen. Wir sehen in Fig. 95 einen Kern aus dem Parenchym eines jungen Epicotyls von *Vicia sativa*, er besitzt ungefähr ebensoviel Chromatin als der Kern aus demselben Gewebe im Hungerzustande, Fig. 96. Die Befunde an Keimlingsstengeln von *Linum usitatissimum*, die 4 Wochen lang im Dunkeln gehungert hatten, und an *Helianthus*keimlingen mit abgeschnittenen Cotyledonen bestätigten die eben angeführten Thatsachen.

Zu erwähnen wären an dieser Stelle auch noch die Angaben von Johow<sup>1)</sup>, welcher an *Nitella translucens* constatirte, dass selbst nach monatelanger Verdunkelung und nachdem die Reservestärke in allen Theilen der Pflanzen längst verbraucht war, keinerlei Abnahme der Chromatinmenge eintritt.

Aus dem Gesagten folgt, dass das Chromatin keineswegs als ein Nahrungstoff anzusehen ist, dessen Menge sich nach dem Ernährungszustande der Zelle richtet.

Werfen wir noch einen kurzen Rückblick auf die Thatsachen, welche ich über die Reduction der einzelnen Strukturbestandtheile des Kernes angeführt habe, so geht aus denselben hervor, dass mit dem Alter der Kerne die einzelnen Bestandtheile desselben nicht vollständig gleichmässig abnehmen, dass die zu Tage tretenden Differenzen jedoch nicht so weit gehen, dass ein oder das andere Element vollständig verschwindet; die relativen Mengenverhältnisse zwischen den einzelnen Strukturelementen sind nicht constant.

## § 18. Einwirkung von Wasser auf die Zellkerne.

Im Vergleich zu dem Verhalten der Chlorophyllkörper gegen Wasser finden wir bei den aus den Zellen herauspräparirten Kernen verschiedener Pflanzen eine bei weitem grössere Mannigfaltigkeit der Reactionen, so dass es fast den Anschein haben könnte, als ob die Kerne der verschiedenen Pflanzen überhaupt keine allen gemeinsame Reactionen aufweisen würden. Wir können bei der Verletzung der Zellen und der Einwirkung von Wasser

<sup>1)</sup> Bot. Zeitung 1885 p. 544.

beobachten, dass die Kerne sich vollständig lösen, oder es löst sich nur ein Theil derselben, während die übrige Substanz als eine unlösliche Gallerte zurückbleibt, ferner kann der ganze Kern gleichmässig verquellen, ohne weitere Differenzen zu zeigen, oder die ganze Kernsubstanz erweist sich als vollständig unlöslich. Bevor wir auf die Ursachen dieses verschiedenen Verhaltens der Kerne gegen Wasser eingehen, ist es nothwendig, die zu beobachtenden Thatsachen näher ins Auge zu fassen.

Vollständige Lösung der Zellkerne tritt relativ selten ein und zwar beobachtete ich dieselbe nur an sehr jungen Geweben, namentlich an den Vegetationspunkten verschiedener Pflanzen, womit nicht gesagt sein soll, dass an allen Vegetationspunkten die Kerne sich bei Wasserzutritt auflösen. Löslichkeit der Kerne konnte ich an folgenden Objecten constatiren: *Pisum sativum*, Wurzelspitze und Vegetationspunkt des Epicotyls, *Vicia sativa*, Vegetationspunkt des Epicotyls, *Allium porrum*, in der Zwiebel eingehüllter Vegetationspunkt, *Solanum tuberosum*, Stengelspitzen junger, dicker Wintertriebe, *Humulus lupulus* und *Mentha piperita*, junge sowie etwas ältere Internodien, *Crocus vernus* und *Galanthus nivalis*, junge Blätter. Dabei ist zu bemerken, dass in allen Fällen die Löslichkeit abnahm, sobald die Zellen in ein älteres Stadium eingetreten waren, oft schon einige Millimeter unterhalb des Vegetationspunktes. In alten Geweben wurden niemals in Wasser vollständig lösliche Kerne beobachtet.

In allen diesen Fällen tritt die Lösung sehr bald nach dem Verletzen der Zellen ein und wird nur dann etwas verlangsamt, wenn in weniger verletzten Zellen der Kern noch von gequollenem Cytoplasma umgeben ist. Dagegen findet man niemals, dass anfangs nur gequollene Zellkerne sich später erst bei längerer Wasserwirkung auflösen.

Von der Quellung unterscheidet sich der hier besprochene Lösungsvorgang dadurch, dass man bei der Lösung durch fallende oder wasserentziehende Substanzen, wie Flemming'sche Mischung oder Alkohol, niemals wieder ein geformtes Gebilde herstellen kann, während man bei stark gequollenen Kernen hierdurch einen der ursprünglichen Kernform ähnlichen abgegrenzten Körper erhält.

Besonders möchte ich noch hervorheben, dass in den besprochenen Fällen auch der Nucleolus löslich war, da man geneigt sein könnte, die Angaben von W. Flemming und E. Zacharias zu verallgemeinern, nach welchen der Nucleolus in Wasser unlöslich sein und sich gerade dadurch von der Gerüstsubstanz unterscheiden soll. Der Nucleolus ist in älteren Zellen wohl fast immer unlöslich, obgleich man nicht behaupten kann, dass er vollständig unlöslich ist, wenigstens spricht die Vacuolenbildung bei Zutritt von Wasser dafür, dass auch in älteren Zellkernen noch eine Trennung von löslicher und unlöslicher Substanz stattfinden kann. Sehen wir von den ganz jungen Kernen ab, so bleibt doch der Nucleolus immer der am schwersten lösliche Theil des Kerns, indem wir an den etwas älteren Kernen der oben genannten Pflanzen häufig beobachten können, dass die übrige

Kernsubstanz noch löslich ist, während das Kernkörperchen schon in einen unlöslichen Zustand übergegangen ist. Immerhin bleibt die Thatsache für eine Reihe von Fällen sichergestellt, dass der Nucleolus seine Unlöslichkeit erst in einem späteren Stadium erhält.

Die zweite Kategorie der Reactionen auf Wasser bilden die Erscheinungen der Quellung und der partiellen Lösung, welche nicht immer scharf zu trennen sind.

Erstens, die ganze Kernsubstanz mit Ausnahme des Nucleolus verquillt gleichmässig, der Kern rundet sich mehr oder weniger gleichmässig ab, nimmt Wasser auf, vergrössert sein Volumen und bildet eine von der Kernmembran begrenzte klare homogene Masse, in welcher sich der wenig veränderte Nucleolus befindet. Oefter kommt es jedoch auch vor, dass der Nucleolus sich ebenfalls in der Kernmasse vertheilt und auch nach der Behandlung mit fällenden Mitteln nicht mehr sichtbar gemacht werden kann, so z. B. bei den circa 5 mm von der Wurzelspitze entfernten Kernen von *Pisum sativum*. Es ist schwer zu unterscheiden, ob die Kernsubstanz wirklich gelöst ist oder ob dieselbe nur gleichmässig gequollen ist, oder ob schliesslich gelöste und gequollene Substanz zugleich vorhanden ist. Eine Entscheidung ist schon aus dem Grunde schwer zu treffen, da wir kein bestimmtes Merkmal besitzen, welches Lösung und starke Quellung genau charakterisirt, und so werden wir denn gezwungen sein, im einzelnen Fall uns nach den zu Tage tretenden Nebenumständen zu richten.

Fassen wir jene Kerne ins Auge, welche im Jugendzustande vollständig löslich sind, so können wir beobachten, dass sie in einem etwas älteren Stadium, wie sie uns die Theile unterhalb des Vegetationspunktes darbieten, diese Löslichkeit noch beizubehalten scheinen. Die Kerne bilden, sobald sie nicht durch Zellwände oder das Deckglas beschränkt sind, eine Kugel, die Abrundung ist also vollständig, der in dem Kern befindliche Nucleolus ist verschiebbar, was uns zeigt, dass die Kernsubstanz, welche das gelöste oder sehr stark gequollene Chromatin, Linin und Paralinin enthält, kein dichtere Consistenz besitzt. Derartige Kerne behalten ihre Kugelform und mischen sich nicht mit dem umgebenden Medium vermöge der Kernmembran, die ebenso wie der Nucleolus mit dem vorgeschrittenen Alter der Kerne ihre Löslichkeit in Wasser verloren hat. Wir können daher öfter beobachten, dass die Kernmembran platzt und der Kerninhalt sich in die umgebende Flüssigkeit ergiesst.

Zweitens, und dieser Fall tritt am häufigsten ein, sehen wir, dass der Kern sich zwar abrundet, aber doch nicht vollständige Kugelform annimmt, was dafür spricht, dass der Kerninhalt mehr eine gallertartige Consistenz hat, er zeigt nicht mehr die Eigenschaft einer Flüssigkeit, Kugelform anzunehmen, und wenn er vielleicht auch mit einer Lösung durchtränkt ist, so muss doch eine andere nur gequollene Substanz dem Kern diese festere Consistenz verleihen und dies ist das Linin oder Paralinin, während das Chromatin sich viel leichter löst und vertheilt. Der Nucleolus bleibt fast immer erhalten

und ist unbeweglich in der Kernmasse eingebettet. Auch hier kann man Platzen der Kerne beobachten, die austretende Substanz mischt sich jedoch nicht mit der umgebenden Flüssigkeit. Fig. 121, Taf. IV. zeigt uns einen Kern aus dem Rindenparenchym des Epicotyls von *Pisum sativum* und zwar circa 65 mm vom Vegetationspunkt entfernt. Die innere Kernmasse ist homogen gequollen und hat die als doppelcontourirte Hülle sichtbare Kernmembran zersprengt. Bei Zusatz von Flemming'scher Fixirungsflüssigkeit schrumpfen die Kerne augenblicklich zusammen und erhalten ein feinpunktirtes Aussehen. Wir erhalten auf diese Weise einen feinkörnigen Niederschlag, der wesentlich anders aussieht, als der in der unverletzten Zelle fixirte Kern. Es ist ein Niederschlag, der mit den ursprünglichen Kernstrukturen nicht identisch ist. Wir müssen daher annehmen, dass das Kerngerüst durch die Wasservirkung gequollen und zerstört wurde.

Das Chromatin, welches in Körnchenform dieser achromatischen Gerüstsubstanz eingelagert war, hat sich im ganzen Kern vertheilt, ohne seine Tingirbarkeit verloren zu haben. Fixirt man nämlich die gequollenen Kerne und färbt sie mit Methylviolett nach der Methode von Gram (vgl. pag. 84), so erhalten wir die ganze Kernmasse gleichmässig tingirt, wir müssen daher wohl annehmen, dass das Chromatin gelöst, aber von der achromatischen Gerüstsubstanz festgehalten wurde.

Die Kernkörperchen verschwinden nur selten, das Pyrenin ist also zum grossen Theile unlöslich, dagegen zeigen sie sehr häufig Vacuolenbildung, d. h. es trennt sich in ihrem Inneren ein löslicher Theil von dem unlöslich gewordenen, wobei jedoch der unlösliche Theil an Menge den löslichen fast immer übertrifft.

Was schliesslich die Zwischensubstanz anbelangt, so lässt sich nichts bestimmtes über dieselbe aussagen, es ist nur wahrscheinlich, dass dieselbe auch hier löslich ist, da sie in Kernen, deren Gerüstsubstanz und Nucleolus weniger resistenter gegen Wasser ist, auch noch löslich ist.

Diese Quellungs- und Lösungsvorgänge spielen sich nach dem Verletzen der Zellen sehr rasch ab, so dass es nicht möglich ist, unter gewöhnlichen Umständen die einzelnen Uebergangsformen unter dem Mikroskop zu verfolgen. Beschränken wir jedoch den Wassereintritt, indem wir die Schnitte in Olivenöl eintragen, wo ihnen dann nur die Flüssigkeit des Zellsaftes zur Quellung zu Gebote steht, oder beobachten wir die Kerne in Hühnereiweiss, wo die zu schnelle Wasseraufnahme durch das Eiweiss und auch durch das umgebende Cytoplasma verhindert wird, so finden wir, dass vor dem Homogenwerden des Kernes eine Trennung der dichteren Substanz von einer weniger dichten Substanz eintritt. Einige Beispiele werden genügen, den Vorgang zu erläutern.

Schnitte durch die Hauptwurzel eines Keimlings von *Pisum sativum* wurden in Olivenöl eingelegt. Die Kerne der unverletzten Zellen (circa 2 mm vom Vegetationspunkt entfernt), waren sehr dicht, stark lichtbrechend, nicht vollständig rund, bei der ersten Einwirkung des Wassers bildeten sich ein-

zelne, unregelmässig gestaltete, ausgezackte hellere Stellen (Taf. IV., Fig. 123 a, b). Unter gleichzeitiger Vergrösserung des Kernes vermehrte sich diese helle Substanz, es trat eine Trennung ein, indem sich die dichtere netzförmig-gerüstartig verbundene Substanz von dieser weniger dichten Substanz schied, die Contouren des Nucleolus blieben sichtbar (Fig. 123 c). Bald darauf wurde jedoch auch dieses balkenartige Gerüst undeutlich (Fig. 123 d) und verschmolz mit der übrigen Substanz zu einer homogenen Masse (Fig. 123 e). Gleichzeitig verschwand der Nucleolus. Die Kernmembran war in diesem Falle nicht deutlich zu unterscheiden.

Das zweite Beispiel bezieht sich auf die Kerne aus dem jungen Endosperm von *Triticum vulgare* (Taf. IV., Fig. 124 a—c). In Eiweiss gelegt quellen manche Kerne gar nicht. Die übrigen verlieren jedoch nach einiger Zeit zunächst ihr glänzendes Aussehen, worauf sich in ähnlicher Weise wie bei *Pisum* die Trennung zwischen dichter Lininsubstanz und weniger dichter Paralininsubstanz vollzieht. In Fig. 124 a sehen wir den ungequollenen Kern, bei Fig. 124 b ist der Kern theilweise, bei Fig. 124 c vollständig fibrillär geworden. Die Quellung schreitet in diesem Falle nur weiter vor, wenn man statt des Eiweisses Wasser zutreten lässt.

Es kommt im Eiweiss jedoch nicht immer wie bei *Pisum* zur vollständigen Verquellung, es werden vielmehr häufig nur Vacuolen gebildet, in denen sich die gelösten Kernsubstanzen ansammeln. So z. B. bei Kernen aus dem in der Zwiebel eingeschlossenen Vegetationspunkte von *Allium porrum* (Taf. IV, Fig. 132), bei welchen sich am Rande eine grössere Anzahl von Vacuolen bildet.

Diese Beispiele lehren uns, dass bei beschränkter Quellung ein Theil der Kernsubstanz unlöslich bleibt, er bildet ein festeres Gerüst, das jedoch nur theilweise mit dem Gerüst des unverletzten Kernes identisch ist, indem die Form der Fibrillen durch Aneinanderlegen derselben und durch die Flüssigkeitsausscheidung mannigfaltige Veränderungen erleidet. Die übrige Substanz ist die Grundsubstanz des Kernes, das Paralinin, welches sich demnach durch seine grössere Quellungsfähigkeit vom Linin unterscheidet. In diesen Fällen ist die Beschränkung des Wasserzutrittes die Ursache der verminderten Quellung. Die analoge Erscheinung finden wir jedoch auch bei Kernen, deren Quellungsfähigkeit an sich durch innere Ursachen herabgemindert ist. Oft bei denselben Geweben, in denen homogene Quellung der Kerne stattfindet, sehen wir auch Kerne, welche eine weniger quellbare Gerüstsubstanz enthalten, oder Objecte, von denen die Gerüstsubstanz gar nicht quillt. Im letzteren Falle kann die sonst die Zwischenräume des Gerüsts ausfüllende Substanz sich in Form von grossen Tropfen entweder in dem Kerne selbst oder an dessen Peripherie ansammeln. Wir erhalten Vacuolen, welche die flüssige Substanz aufnehmen. Die Kernmembran verhindert das Austreten der Flüssigkeit und nur, wenn die Membran platzt, mischt sich der Vacuoleninhalt mit der umgebenden Flüssigkeit. Die Vacuolenbildung an den Kernen ist ebenso wie bei den Chlorophyllkörpern eine Tren-

nung flüssiger von quellbarer aber nicht löslicher Substanz, sie nimmt jedoch wesentlich andere Formen an als bei den Chlorophyllkörpern. Die Kerne verwandeln sich niemals in einen derartigen Blasenhaufen, wie wir es bei den Chlorophyllkörpern beobachten konnten, die Vacuolen bilden sich vielmehr an der Peripherie des Kernes. Die Kernsubstanz, welche nicht in die Vacuole übergeht, kann entweder homogen bleiben, oder sie kann ein der ursprünglichen Struktur ähnliches Fibrillennetz aufweisen. Das erstere findet z. B. statt bei den Kernen aus dem Epicotyl von *Pisum sativum*, 70 mm vom Vegetationspunkt entfernt (Taf. IV, Fig. 125 und 126), an welchen nur wenige Vacuolen gebildet werden. Die Kernmembran erscheint, wo sie nicht durch die Vacuolen abgehoben ist, doppelt contourirt, durch die Vacuole wird sie jedoch gedehnt, sie wird dünner und erscheint nur mehr einfach contourirt. Der Nucleolus wird bei dieser Quellungsform gut sichtbar. Eine ähnliche Erscheinung haben wir bei den Kernen aus der äussersten fleischigen Schale der Küchenzwiebel (Taf. IV, Fig. 127). Es werden hier zahlreiche Vacuolen gebildet, die nach längerem Liegen des Kernes im Wasser sich noch vermehren. Die Kernmembran war nicht deutlich, die übrige Kernsubstanz etwas gelblich gefärbt, welche Färbung jedoch erst durch die Berührung des Schnittes mit dem Rasirmesser entstanden ist, ebenso vermehrt sich dieselbe bei Zusatz von etwas Eisenchlorid, was auf die Gegenwart eines gerbstoffartigen Körpers schliessen lässt.

Ein etwas anderes Bild erhalten wir bei den Kernen aus jüngeren *Hyacinthenblüthen*. Wir müssen jüngere Entwicklungszustände wählen, da die Kerne der älteren gar nicht mehr quellungsfähig sind. Die Quellung mit Randvacuolen kommt hier nicht sehr häufig vor, wenn sie aber eintritt, so wird die übrige Kernsubstanz nicht homogen, sondern erhält ein körnig-fibrilläres Aussehen, ganz wie ein fixirter Kern (Taf. IV, Fig. 129). Nach meinen sonstigen Erfahrungen liegt hier wahrscheinlich eine partielle Fixirung vor, nur die lösliche Zwischensubstanz sammelt sich in den Vacuolen an. Diese Ansicht wird noch dadurch gestützt, dass wir auch an den oben angeführten homogenen Kernen, sobald die Quellung nicht zu weit gegangen ist, ein analoges Fibrillennetz erhalten können, sobald wir die Kerne durch Alkohol oder Flemming'sche Mischung fixiren.

Dieselben Erscheinungen hat früher schon L. Auerbach<sup>1)</sup> an thierischen Kernen beobachtet, ihnen aber eine andere Deutung gegeben. Auerbach nimmt an, dass bei dem Wasserzutritt die Kernsubstanz schrumpft und dieses Schrumpfen den Austritt eines oder mehrerer zarter Flüssigkeitstropfen zur Folge hat. Eine derartige Schrumpfung konnte ich nirgends beobachten, im Gegentheil, die Kerne vergrössern sich und ich glaube daher, dass meine Ansicht die richtigere ist, nach welcher durch die Wasserwirkung ein Theil des Kernes gelöst wird. Es ist möglich, dass in gewissen Fällen Schrumpfung eintritt u. z. dort, wo die Kernsubstanz netzförmig fibrillär erscheint, in den

<sup>1)</sup> Organologische Studien. Bd. I. 1874. p. 19.

bei weiten meisten Fällen behält jedoch die unlösliche Kernsubstanz ihr homogenes Aussehen, was entschieden darauf hinweist, dass keine Fällung stattgefunden hat, denn bei jedem beliebigen Fällungsmittel erhält der Kern ein körnigfibrilläres Aussehen, bleibt aber niemals homogen. Nach meiner Ansicht ist also die Schrumpfung der Kernsubstanz zur Bildung der Vacuolen nicht nothwendig. Nach Auerbach stellt dieses Stadium der Vacuolenbildung nur eine niedrigere Quellungsstufe dar, bei längerer Einwirkung von Wasser soll der Kern in eine gleichmässig feinpunktirte Kugel übergehen, indem die ganze Kernsubstanz aufquillt. Es ist nicht einzusehen, wie ein- und dieselbe Substanz, das Wasser, zuerst Schrumpfung, dann Quellung bewirken kann, weshalb ich die Richtigkeit dieser Auffassung bezweifle.

Meine auf viele Objecte ausgedehnten Beobachtungen zeigten mir, dass entweder von Anfang an gleichmässige Quellung der Kerne eintrat, oder Vacuolenbildung, aber niemals war das Stadium der Vacuolenbildung eine Vorstufe der gleichmässigen Quellung. Wir haben es also mit Kernen von differenter Quellungsfähigkeit zu thun. In dem einen Falle sind alle Substanzen des Kerns (exclusive der Kernkörperchen) quellungsfähig, wir erhalten dann einen homogen gequollenen Kern, der sich eventuell auch vollständig auflösen kann, im anderen Falle ist ein Theil der Kernsubstanzen nur beschränkt quellungsfähig, der Rest ist löslich; sondert sich dieser Rest in Tropfenform ab, so erhalten wir die Vacuolen.

Zwischen beiden Quellungsformen gibt es Uebergänge. Ist nämlich die sonst unlöslich bleibende und wenig quellbare Substanz etwas stärker quellbar, so kommt es nicht zur vollständigen Trennung der löslichen und unlöslichen Substanzen, d. h. es werden keine Vacuolen gebildet, die lösliche Substanz füllt die Zwischenräume der anderen aus, beide sind meist nicht scharf von einander getrennt, und wir erhalten ein netzförmiges Gerüst, dessen Maschen von der löslicheren Substanz erfüllt sind. Als Beispiele führe ich die Kerne von *Hyacinthus* an (Taf. IV, Fig. 130), oder jene von *Aconitum lycoctonum* (Taf. IV, Fig. 139). Die hier zu Tage tretenden Bilder gleichen vollständig jenen, welche wir bei den homogen quellenden Kernen erhalten, sobald wir den Wasserzutritt beschränken. Man vergleiche nur Fig. 123 c oder Fig. 124 c und Fig. 130, die Analogie liegt auf der Hand.

Bei richtiger Auswahl der Objecte können wir diese verschiedenen Erscheinungen der Wasserwirkung an ein und demselben Pflanzentheile beobachten. So z. B. bei blauen Blüten von *Hyacinthus orientalis* (Taf. IV, Fig. 129—131) oder bei dem Epicotyl von *Pisum sativum*. Homogene Quellung und Quellung mit Vacuolenbildung treffen wir fast bei allen Geweben zugleich an, vorausgesetzt, dass überhaupt Quellung stattfindet. Diese verschiedenen Quellungsformen sind also nicht durch verschiedene chemische Zusammensetzung bedingt, denn innerhalb desselben Gewebes einer Pflanze müssen wir wohl gleichartige chemische Zusammensetzung annehmen.

Ebenso wie bei den homogen quellenden Kernen vertheilt sich bei den Randvacuolen bildenden Kernen das Chromatin und verliert seine Körnchen-

form, ohne jedoch in die Vacuolenflüssigkeit überzugehen, das Linin bildet die eigentliche Masse der unlöslichen Substanz, wovon wir uns bei der Fixirung der vacuolenbildenden Kerne überzeugen können. Die Nucleolen bleiben hierbei immer ungelöst, ebenso die in vielen Fällen deutlich wahrzunehmende Kernmembran. Von den Substanzen des Kerns ist es also die sog. Grundsubstanz, das Paralinin, welches in die Vacuolen übergeht. Dass die Vacuolen wirklich Proteinsubstanzen enthalten, können wir nachweisen, indem bei der Anwendung von Fällungsmitteln in denselben ein feiner Niederschlag entsteht.

Dabei ist jedoch noch zu berücksichtigen, dass an der Vacuolenbildung auch noch die übrigen im Kerne selbst vorkommenden Substanzen ausser den gelösten Proteinstoffen theilnehmen können. Es ist jedoch schwer festzustellen, welchen Antheil das Paralinin und diese übrigen Stoffe haben. Aus der Vacuolenbildung allein dürfen wir daher noch nicht auf die Löslichkeit des Paralinins schliessen. Da dieser Stoff jedoch in vielen Fällen nachweislich stark quillt, ausserdem in den Vacuolen ein Proteinniederschlag entsteht, ist es sehr wahrscheinlich, dass er es ist, welcher bei der ausgesprochenen Vacuolenbildung in Lösung geht.

Es bleibt nun noch zuletzt übrig, einen Theil jener Pflanzen zu nennen, an welchen ich homogene Quellung oder Randvacuolenbildung beobachtet habe. Dies Verzeichniss ist nicht vollständig, da ich nicht alle von mir untersuchten Pflanzen notirt habe.

Vorwiegend homogene Quellung fand ich an folgenden Pflanzen: *Helianthus annuus*, Epidermis des Hypocotyls, *Phaseolus multiflorus*, Haupt- und Nebenwurzeln junger Keimpflanzen, *Tradescantia zebrina*, Stengel und Blätter, *Brassica rapa* var. *crispa* Blätter, *Ulmus corylifolia* und *Betula alba*, in der Knospe eingeschlossene junge Blätter, *Allium porrum*, Blüthenschäfte, *Solanum tuberosum*, ganz junge kleine Knollen, *Hyacinthus orientalis*, junge Blüthe.

Vorwiegend Vacuolenbildung fand ich bei: *Helianthus annuus*, Parenchym des Hypocotyls, *Lupinus luteus*, Hypocotyl, *Vicia faba*, Epicotyl, *Allium cepa*, ältere Zwiebelschalen, *Phaseolus multiflorus*, junger Stengel, *Impatiens Sultani*, jüngere Internodien.

Wir haben die löslichen Kerne besprochen, sowie die quellbaren und vacuolenbildenden ins Auge gefasst, hiermit ist jedoch die Reihe der Reactionen nicht erschöpft, indem wir noch jene Kerne zu berücksichtigen haben, welche bei der Einwirkung von Wasser vollständig unlöslich und unquellbar bleiben.

Ich habe schon im ersten Kapitel auf die Acidität des Zellsaftes hingewiesen, dieselbe kann sich auch, wie bekannt, in dem ausgepressten Pflanzensaft geltend machen, wenn die aus dem Protoplasma austretenden Alkalien nicht zur Neutralisation desselben hinreichen. Sehr geringe Mengen von Säure verändern die Wasserwirkung nicht, wenn der Zellsaft jedoch stärker sauer reagirt, so muss er beim Verletzen der Zelle in derselben

Weise einen Einfluss auf das Protoplasma ausüben, als wenn wir zu einer Zelle mit wenig saurem oder neutralen Zellsafte verdünnte Säure hinzufügen würden. Schon sehr verdünnte organische Säuren wirken auf das Protoplasma immer fixirend und dieselbe Wirkung wird der stärker saure Zellsaft ausüben, sobald die Zelle verletzt ist. Die Kernsubstanzen sind nun besonders empfindlich gegen die Einwirkung von Säuren, sie werden durch diese relativ schnell in einen unlöslichen Zustand übergeführt, so dass sie durch Wasser nicht mehr verändert werden. Da es sich hier um eine Fixirung handelt, ist es leicht erklärlich, dass die einzelnen Strukturelemente deutlicher hervortreten, als in der lebenden unverletzten Zelle.

Eine analoge Wirkung beobachten wir, sobald die Zelle in höherem Grade gerbstoffhaltig ist. Der Gerbstoff sammelt sich ebenfalls im Zellsafte an und macht seine Wirkung auf das Protoplasma geltend, sobald die Zelle verletzt ist. Sehr geringe Mengen von Gerbstoff fixiren das Plasma noch nicht, besonders da der Gerbstoff alkalisch reagirende Proteinstoffe nur schwierig fällt, das Protoplasma im Allgemeinen und der Kern im Speciellen wird jedoch gefällt und fixirt, sobald die Menge des Gerbstoffes ein grössere ist, namentlich wenn der Zellsaft ausserdem noch sauer reagirt. Davon, dass der Gerbstoff in der unverletzten Zelle wirklich nur im Zellsaft enthalten ist, können wir uns leicht überzeugen, indem wir gerbstoffhaltige unverletzte Zellen in eine Lösung von Kalibichromat einlegen. Es entsteht dann nur im Zellsaft der bekannte Niederschlag. Betrachten wir dagegen die verletzten Zellen, so lässt sich durch Zusatz von Eisenchlorid nachweisen, dass die Plasmatheile den Gerbstoff absorbirt haben, wodurch sie natürlich in einen im Wasser unlöslichen Niederschlag verwandelt werden.

Fast in allen Fällen, wo Unlöslichkeit der Kerne zu beobachten war, liess sich entweder Gerbstoff oder Säure in grösserer Menge nachweisen, und ich glaube daher, dass diese beiden Stoffe vor allen anderen die Fixirung der Kerne verletzter Zellen bewirken, womit natürlich nicht ausgeschlossen ist, dass bei bestimmten Pflanzen die Fällung auch durch andere Stoffe bewirkt werden kann.

Für jene Pflanzen, wo weder der Zellsaft stark sauer war, noch Gerbstoff zugegen war, liegt ausserdem die Möglichkeit nahe, dass die Proteinstoffe in eine unlösliche Modification übergegangen waren. Die im Vorhergehenden besprochene partielle Unlöslichkeit des Kernkörperchens kann sich ja auf sämtliche Kernsubstanzen ausdehnen. Die hierher zu rechnenden Fälle sind jedoch so wenig zahlreich, dass sie an den allgemeinen Resultaten nicht viel ändern.

Bringen wir einen dünnen Schnitt von Pflanzentheilen, welche Säure oder Gerbstoff in etwas grösserer Menge enthalten, auf dem Objectträger in Wasser, so wird der Gerbstoff oder die Säure nicht an allen Stellen gleichmässig concentrirt sein, am Rande des Schnittes wirkt eine verdünntere Lösung ein als in der Mitte des Schnittes, wo weniger Wasser Zutritt und der Zellsaft weniger verdünnt wird. Ausserdem ist häufig der Gerbstoffgehalt auf bestimmte Zelllagen beschränkt und die fixirende Wirkung desselben wird

sich danach richten, wie er sich über die anderen Zellen verbreitet. Diesen Verhältnissen entsprechend, wird die Fixirung mehr oder weniger vollständig sein, rascher oder langsamer vor sich gehen können und in Folge dessen sehen wir verschiedene Formen der Kernfixirung auftreten.

Wirkt nur sehr wenig Gerbstoff ein, so erhalten wir analoge Bilder, wie ich sie im Vorhergehenden beschrieben habe. Ein Theil der Kernsubstanzen bildet unlösliche Fibrillen, während der lösliche Theil die Räume zwischen den Fibrillen ausfüllt oder sich in Vacuolen ansammelt. Ist dagegen viel Gerbstoff vorhanden, geht daher die Fällung schnell vor sich, so erhalten wir jene bekannten körnigen Fixirungen, wie sie auch durch andere fixirende Mittel hervorgerufen werden. Der Kern wird dicht, kompakt, körnig und in allen seinen Theilen unlöslich in Wasser (Taf. IV, Fig. 135). Bei geringerem Gerbstoffgehalt und langsamerer Fällung ist der Kern noch besonderen Veränderungen unterworfen. Es bildet sich entweder eine centrale Vacuole oder die Kernmembran hebt sich von der übrigen Substanz ab. Die centrale Vacuole (vgl. hierzu Taf. IV, Fig. 140 und 141) entsteht einerseits dadurch, dass die Kernsubstanz schrumpft und sich so von dem Nucleolus abhebt, andererseits wird die noch nicht vollständig fixirte, also noch dehbare Kernsubstanz ausgedehnt, indem die in der Vacuole enthaltenen Stoffe Wasser anziehend wirken. Analoge Bildungen erhalten wir, wenn wir den Kern mit  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (vgl. § 21) behandeln; auch bei der Einwirkung von Pierinsäure entstehen bei langsamer Einwirkung Hohlräume um den Nucleolus; hierbei handelt es sich aber nur um Schrumpfungen der Kernsubstanz, während bei der combinirten Wasser-Gerbstoffwirkung ausserdem noch eine Vergrösserung des ganzen Kernvolumens stattfindet.

Beim Abheben der Kernmembran tritt ebenfalls eine Schrumpfung der Lininsubstanz ein, ausserdem aber wird die Membran durch die zwischen Lininsubstanz und Membran befindliche Flüssigkeit ausgedehnt, indem die letztere osmotisch wirksam ist. Der ganze von der Kernmembran umschlossene Raum ist demnach grösser als das ursprüngliche Kernvolumen. Die geschrumpfte Kernsubstanz hebt sich zumeist nicht von dem Nucleolus ab, manchmal kommt es jedoch auch noch zur Bildung einer kleinen centralen Vacuole (Taf. IV, Fig. 143).

Ich glaube, dass der eben beschriebene Vorgang sich der Bildung der Randvacuolen anschliesst. Nehmen wir z. B. einen Kern von *Allium cepa* (Taf. IV, Fig. 127), an welchem zahlreiche Randvacuolen gebildet werden, so ist der Fall wohl denkbar, dass diese Vacuolen ineinander fliessen und auf diese Weise eine einzige grosse Vacuole an der Peripherie der übrigen Kernsubstanz gebildet wird, wodurch sich naturgemäss die ganze Kernmembran abhebt. Man könnte mir vielleicht einwenden, dass jenes Gebilde, das ich für die abgehobene Kernmembran halte, nur ein Theil des Cytoplasmas sei, aber gerade an den Objecten, wo ich die besprochene Erscheinung beobachten konnte, war das Cytoplasma vollständig verquollen, ohne sonst ein ähnliches Membrangebilde zurtückzulassen. Da die Substanz der

Kernmembran, das Amphipyrenin, ausserdem mit dem Cytoplastin, der Protein-substanz des Cytoplasmas gar nicht übereinstimmt, ist die Annahme, die Membran zum Cytoplasma zu rechnen, hinfällig. Aehnliche Bilder dagegen können durch das Verquellen von Stärkebildnern entstehen, welche den Kern umgeben, indem die äusseren Begrenzungen derselben mit einander verschmelzen. Vor derartigen Verwechslungen hat man sich daher zu hüten.

Man könnte glauben, dass die hier besprochenen Erscheinungen nicht durch den Gerbstoff des Zellsaftes, sondern durch die chemische Zusammensetzung des Kernes verursacht sind, dass also quellbare und unlösliche Kerne chemisch different wären. Dagegen spricht jedoch die Thatsache, dass wir die verschiedenen Reactionen gleichzeitig an demselben Gewebe beobachten können. Die gleiche chemische Zusammensetzung der Kerne innerhalb desselben Gewebes vorausgesetzt, müssen wir annehmen, dass die Differenzen der Wasserwirkung durch die verschieden starke Beimengung eines anderen Reagens bewirkt sind, zumal da wir diese Erscheinungen nur bei Anwesenheit von Gerbstoff wiederfinden. So kann man z. B. an den Stengeln von Kartoffeln alle Uebergänge von der homogenen Quellung bis zur vollständigen Fixirung finden: homogene Quellung — Fig. 137, theilweise homogene Quellung, es bleiben Körnchen und Fibrillen erhalten — Fig. 138, Quellung mit Randvacuolen — Fig. 133, Trennung dichter fibrillärer Substanz von weniger dichter Substanz — Fig. 134, Bildung einer Centralvacuole — Fig. 140, Abhebung der Kernmembran — Fig. 136, vollständige Fixirung — Fig. 135.

Ebenso finden wir bei den Kernen aus der Epidermis der rothen Rübe (Taf IV, Fig. 141, 142, 143) sehr verschiedene Formen der Wasserwirkung. Die Quellung unterblieb in Folge des Gerbstoffgehaltes ausserdem noch bei folgenden Pflanzen: *Alnus glutinosa*, *Corylus avellana*, *Aesculus hippocastanum*, jüngste Blätter in den Knospen, *Geranium Robertianum*, älteres Internodium, *Aconitum lycoctonum* Stengel, *Quercus robur* Blätter, *Maxillaria picta* Knolle, *Episcia metallica* Stengelspitze, *Phajus grandifolius* (?) Knolle, *Pholidota imbricata* (?) Knolle, *Trifolium pratense*, Keimlinge.

Bei der Anwesenheit von Säure im Zellsaft werden die Kernsubstanzen ebenfalls unlöslich, es unterbleiben alle weiteren Veränderungen, höchstens findet man die Gerüstsubstanz etwas auseinandergewichen und verschoben. Figur 147a gibt uns einen ungequollenen Kern aus unreifen Weinbeeren wieder, während bei Fig. 147b und 147c in den Kernen durch die Wasserwirkung fibrilläre Bildungen sichtbar geworden sind. Die Kerne sehen nicht so undurchsichtig und kompakt aus wie bei der Gerbstofffixirung.

Unlöslichkeit in Folge des Säuregehaltes im Zellsaft fand ich bei folgenden Pflanzen: *Vitis vinifera*, unreife Beere, *Begonia hycotylefolia*, Blatt, *Vanda furva*, Luftwurzel, *Impatiens Sultani*, älteres Internodium, *Aloe perforata*, junge und alte Blätter, *Oncidium altissimum*, Blatt, *Calathea Makayana*, Blattepidermis, *Blechnum occidentale*, junges Blatt.

Ausserdem fand ich noch unlösliche Kerne, wo sich aber weder Gerbstoff noch Säure nachweisen liess, bei *Hyacinthus orientalis*, alte blaue

Blüthe, *Cypripedium venustum*, Blattparenchym und Epidermis, *Cymbidium aloefolium*, Blatt, denen sich vielleicht auch *Phajus grandifolius* und *Pholidota imbricata* anschliesst, bei denen nur wenig Gerbstoff nachzuweisen war.

Bei der Einwirkung von siedendem Wasser bleiben alle Zellkerne vollständig erhalten. Zumeist treten die Kernkörperchen scharf hervor, die übrige Substanz wird undurchsichtig. In den meisten Fällen war eine feinere Struktur nach dem Eintauchen in siedendes Wasser nicht mehr zu erkennen. Erfüllen die Fibrillen wie z. B. bei *Phajus* (Taf. III, Fig. 109) nicht den ganzen Kern, so schrumpfen dieselben beim Erwärmen zu undeutlichen Kugeln zusammen (Taf. III, Fig. 113), war jedoch das Gerüst mächtiger, so sehen wir an den erwärmten Kernen entweder nur ein undeutliches Netzgerüst, oder die Kerne erscheinen vollständig homogen undurchsichtig.

Das Chromatin bleibt auch nach längerem Erwärmen im Kerne erhalten und lässt sich leicht durch die Gram'sche Färbung nachweisen. Auch die übrigen Kernstoffe werden, soweit sich dies an den undeutlichen Bildern constatiren lässt, durch Erhitzen leicht coagulirt und es muss mir daher fraglich erscheinen, ob im Kern überhaupt durch Hitze nicht coagulirbare Stoffe vorkommen. Man könnte in dieser Beziehung vielleicht an das Paralin denken, indem das Kernvolumen beim Erwärmen kleiner wird und diese Volumverminderung auf die Lösung von gewissen Substanzen zurückzuführen wäre. Dies ist jedoch durchaus nicht beweisend, indem durch die Coagulation allein diese Volumverminderung bedingt sein dürfte. Nur soviel ist sicher, dass jedenfalls nur ein sehr kleiner Theil der Kernstoffe in heissem Wasser löslich ist, vielleicht sind jedoch alle Stoffe coagulirbar. Ausscheidung von Tropfen wie bei den Chlorophyllkörpern ist niemals zu constatiren.

Die Resultate unserer Untersuchungen sind:

Die Zellkerne verhalten sich bei Zutritt von Wasser nicht alle gleich.

- 1) Es kann vollständige Lösung eintreten, sämtliche Substanzen des Kerns, auch das Pyrenin (der Nucleolus), werden gelöst.
- 2) Es tritt nur partielle Lösung ein, wodurch der Kern fibrillär wird oder an seiner Peripherie Vacuolen bildet; hierbei erweist sich das Pyrenin und Amphipyrenin (der Nucleolus und die Kernmembran) als unlöslich und unverändert, das Linin (die Gerüstsubstanz) ist unlöslich, aber kann in einem gequollenen Zustand verbleiben, das Chromatin vertheilt sich in der Gerüstsubstanz, das Paralin geht in die Vacuolen über, ist demnach löslich.
- 3) Die Kerne sind unlöslich, werden durch das Wasser nicht verändert. In den meisten Fällen ist diese Unlöslichkeit nachweislich durch den Zutritt der im Zellsafte vorhandenen Gerbstoffe oder durch die Säure hervorgerufen.

Bei der Gerbstoffwirkung können wir die Bildung einer

centralen Vacuole oder das Abheben der Kernmembran beobachten; dabei tritt Schrumpfen der Kernsubstanz ein. Ausserdem wurden noch in Wasser unlösliche Kerne beobachtet, obgleich weder Gerbstoff noch Säure vorhanden war. Es ist fraglich, ob hier an sich unlösliche Kerne vorlagen, oder ob die Fällung etwa durch andere Substanzen bewirkt wurde.

Das verschiedene Verhalten der Kerne ist zumeist durch den Zutritt von Gerbstoff oder Säure bedingt, ausserdem aber scheint die grössere Löslichkeit an den jüngsten Theilen der Pflanzen durch den grösseren Kaligehalt hervorgerufen zu sein; mit dem Alter und der Verminderung des Kaligehaltes nimmt die Quellbarkeit der Substanzen ab, wir erhalten dann Zustände, wie sie unter 2) zusammengefasst sind.

In heissem Wasser sind alle Kernstoffe unlöslich, nur bei dem Paralinin ist die Löslichkeit nicht vollständig ausgeschlossen, wenn auch nicht wahrscheinlich.

### § 19. Auswahl der Objecte zu den übrigen Reactionen.

Selbstverständlich konnte ich bei den zahlreichen von mir angewendeten Reagentien nur eine beschränkte Menge von Pflanzen untersuchen. Bei der Auswahl der Objecte liess ich mich durch die bei der Wasserwirkung gemachten Erfahrungen leiten, indem ich vorerst jene Pflanzentheile ausschied, deren Zellsaft Gerbstoff und Säure in grösserer Menge enthielt. Wir sahen, wie durch die Anwesenheit jener Stoffe der Erfolg der Wasserwirkung wesentlich modificirt wird, und wenn auch der Einfluss dieser Substanzen gegenüber den hinzugefügten Reagentien mehr in den Hintergrund treten musste, so schien es mir doch nothwendig, derartige zweifelhafte Reactionen zu vermeiden. Dort, wo in Folge des Reagentienzusatzes Fällungen eintreten, wird die Gegenwart von Gerbstoff oder Säuren dieselben nur begünstigen, wo es sich jedoch um totale oder partielle Lösungen handelt, würden wir zu leicht auf mangelhafte und unvollständige Reactionen stossen. Trotzdem habe ich nicht darauf verzichtet, auch die in Wasser unlöslichen Kerne in den Bereich meiner Untersuchungen zu ziehen, ich wählte jedoch Pflanzenzellen, wo nur wenig oder gar kein Gerbstoff vorhanden war. Es gehören hierher die Kerne aus den Knollen von *Phajus grandifolius* und aus der Blumenblattepidermis blauer Hyacinthen. Namentlich empfiehlt sich, wie dies schon E. Zacharias<sup>1)</sup> hervorgehoben, *Phajus* zu diesen Untersuchungen. Das Chromatin kommt hier in Form grösserer Kugeln vor (vgl. Taf. III, Fig. 105), deren Verhalten gegen Reagentien leichter zu verfolgen ist, als wenn das Chromatin in sehr kleinen Körnchen im Gerüst ver-

<sup>1)</sup> Bot. Zeitung 1882 p. 653.

theilt ist. Zacharias hat diese Kugeln mit dem Namen Körperchen bezeichnet, es liegt jedoch bei der vollständigen Gleichheit der Reactionen kein Grund vor, dieselben nicht als Chromatin zu bezeichnen. Auch die Kerne aus dem Blatte von *Cymbidium aloefolium* (Taf. III, Fig. 98) wären wegen der Deutlichkeit der Chromatinkugeln zur Untersuchung zu empfehlen.

Zur Untersuchung der in Wasser löslichen Kerne verwendete ich Wurzelspitzen junger Keimlinge von *Pisum sativum* und die jüngsten Internodien der Keimpflanzen von *Vicia sativa*. Es ist bei diesen Objecten nicht nothwendig, die Kerne vom Vegetationspunkt selbst zu nehmen, da dieselben bis zu einer Entfernung von 1—2 cm noch löslich bleiben; in älteren Internodien von *Vicia sativa* ist man dagegen nicht ganz sicher, noch vollständig lösliche Kerne zu finden, sie sind dann nur mehr quellbar.

Die jungen Internodien der Keimpflanzen von *Lupinus luteus* und *Vicia faba* lieferten mir das Material zur Prüfung nur quellbarer und Randvacuolen bildender Kerne. Bei *Vicia faba* ist wohl etwas Gerbstoff zugegen, aber derselbe bewirkt höchstens eine Trübung der gequollenen Kernsubstanz und ist den übrigen Reactionen nicht hinderlich.

Ausser den genannten Pflanzen, an welchen ich sämtliche Reactionen durchprüfte, wurden noch für einzelne mir wichtiger erscheinende Reactionen andere Pflanzen herangezogen, um die erhaltenen Resultate mit mehr Recht verallgemeinern zu können. Die ausgewählten Pflanzen hatten hinreichend grosse Kerne, um die Details gut verfolgen zu können.

Damit die angewendeten Reagentien unmittelbar auf den Zellkern wirken konnten, ist es nothwendig, die Zellen anzuschneiden oder dünne Schnitte, die in dem betreffenden Reagenz liegen, zu zerzupfen, denn wenn man Stoffe anwendet, welche die Zelle nicht sogleich tödten, so tritt das Reagenz, dem langsamen Absterben der Zellen entsprechend, nur allmählich zum Kern, während dieser Zeit machen sich Gerinnungserscheinungen am Kerne geltend, oder es kommt der unvermischte Zellsaft zur Wirkung, so dass wir nur mehr die Eigenschaften des durch den Zellsaft veränderten Kernproductes eruiren können.

## § 20. Einwirkung von Neutralsalzen verschiedener Concentration auf die Zellkerne.

Fassen wir zunächst das Verhalten gegen Kochsalz ins Auge, so sehen wir, dass verdünntere Lösungen die Löslichkeit der Kerne bedeutend erhöhen, während concentrirte Lösungen die Zellkerne fällen. Die bei der Darstellung der Eiweissstoffe übliche 10proc. Kochsalzlösung bringt die Zellkerne der Erbse und der Wicke sogleich zur vollständigen Lösung, während bei *Vicia faba* und *Lupinus luteus* zunächst starkes Aufquellen eintritt, wobei der ganze Kerninhalt sich in eine homogene Masse umwandelt, während die Kernmembran anfangs jeder Veränderung widersteht. Bei *Lupinus* sondert sich eine dichtere, netzartig verbundene Substanz von einer mehr flüssigen

Substanz, welche die Zwischenräume der ersteren ausfüllt, bis schliesslich ebenso wie bei *Vicia faba* der ganze Kerninhalt gelöst wird, wobei auch die anfangs widerstandsfähigere Kernmembran zum Verschwinden kommt.

Beim Einlegen dünner Schmitte aus den Knollen von *Phajus*, die fast nur angeschnittene Zellen enthielten, in die 10procentige Kochsalzlösung, quellen die Chromatinkörner sogleich auf, dann auch die übrigen Kernsubstanzen ebenso wie die Nucleolen, nur die Kernmembran bleibt anfangs etwas widerstandsfähiger, nach längerem Verweilen werden jedoch auch hier sämtliche Kernsubstanzen gelöst und nur ausnahmsweise bleiben einzelne Kerne erhalten. Wir sehen also, wie auch in Wasser unlösliche Kerne durch Kochsalz löslich gemacht werden.

Diese Beobachtungen an *Phajus*kernen stimmen nicht vollständig mit den folgenden Angaben von E. Zacharias<sup>1)</sup> überein. Wurde zu frischen Schnitten aus der Knolle 10procentige Kochsalzlösung hinzugefügt, so lösten sich die Körperchen sofort (von mir als Chromatinkugeln bezeichnet), während die Nucleolen unverändert blieben, gleichzeitig wurde eine stark lichtbrechende, doppelt contourirte Membran sichtbar, welche den Kern umgab. Bei plötzlichem Zutritt der Kochsalzlösung erfolgte die Quellung der Körperchen sehr rasch und intensiv, die Membran platzte und die Nucleoli sammt Theilen der Zwischensubstanz, welche die Räume zwischen den Körperchen und Nucleolen am Kern ausgefüllt hatte, wurden ausgestossen. Hatte die Kochsalzlösung weniger plötzlich eingewirkt, so blieb die Struktur des Kerns selbst nach 40stündigem Liegen des Präparates in der Lösung im wesentlichen erhalten. Die Zwischensubstanz war deutlich geworden und umgab Hohlräume, aus welchen die Körperchen vollständig heraus gelöst zu sein schienen. Die Nucleoli hatten sich nicht verändert.

Diese Darstellung des Vorganges durch Zacharias macht es wahrscheinlich, dass Zacharias immer die Schmitte zuerst in Wasser gelegt hat und dann die Kochsalzlösung, wie er selbst sagt, hinzufügte; denn nur so kann ich es mir erklären, wenn dieser Autor von einer schnelleren oder langsameren Kochsalzwirkung spricht. Es ist nun auffallend, dass bei verschieden schnellem Zutritt des Kochsalzes sich die Reaction derartig ändert und ich kann mir dies nicht anders erklären, als dass bei dem allmählichen Zutritt des Kochsalzes, bei welchem sich der Kern als weniger löslich erweist, vor dem Hinzutreten des Kochsalzes Veränderungen im Kern vor sich gegangen sind, resp. Einwirkungen des Zellsafts Platz fanden, wodurch der Kern an und für sich unlöslicher geworden ist. Ich glaube, dass hierdurch die Differenz zwischen meinen Angaben und denen von E. Zacharias zu erklären ist. Diese Vermuthung wird mir durch eine andere Beobachtung an den sonst so leicht quellbaren Kernen aus dem Epicotyl von *Pisum sativum* bestätigt. Legt man dieselben zuerst in Wasser und fügt dann Koch-

1) Bot. Zeitung. 1882. p. 654.

salzlösung hinzu, so werden die Kernsubstanzen wenigstens theilweise gefällt. Derselbe Vorgang hat vielleicht auch bei *Phajus* stattgefunden.

In ähnlicher Weise wurde die Kochsalzreaction in einem anderen später von Zacharias erwähnten Falle<sup>1)</sup> modificirt. Schnitte aus der Fruchtknotenwand von *Galanthus nivalis* wurden in eine 10procentige Kochsalzlösung gelegt, die unverletzten Zellen wiesen Plasmolyse auf. Nach längerer oft mehrtägiger Dauer platzten der Zellsaft, und im Kern ist ein sehr lockeres Fadenwerk zu sehen, welches besonders an geplatzten Kernen, wo es stark auseinandergezogen wird, sehr deutlich hervortreten soll. Nach meiner Ansicht wird bei dem langsamen Absterben der Zellen das Protoplasma sowie der Kern zunächst durchlässiger für die Stoffe des Zellsaftes und dieser wirkt schon auf den Kern ein, bevor das Kochsalz zur Geltung kommt. Dasselbe wirkt auf den Kern erst nach dem Platzen der Cytoplasmahülle ein, findet den Kern dann aber schon theilweise verändert, was die partielle Unlöslichkeit zur Folge hat; es bleibt ein lockeres Fadenwerk gequollener Substanz zurück.

Besonders hervorzuheben wäre dabei noch, dass auch an diesen etwas veränderten Kernen das Chromatin löslich bleibt, die Stoffe des Kerns behalten sich demnach nicht alle gleich.

Für meine Ansicht kann ich noch ein weiteres Beispiel anführen. Die Kerne aus dem Stengel von *Platanthera bifolia* lösen sich auf, sobald man die verletzten Zellen unmittelbar in eine 10procentige Kochsalzlösung bringt, die Kerne bleiben dagegen erhalten, wenn die Zelle in der Kochsalzlösung abstirbt.

Eine interessante Erscheinung konnte ich ebenfalls an *Platanthera* beobachten. Unverletzte Zellen, die in 4procentiger Kochsalzlösung zuerst plasmolysirt und dann allmählig abgestorben waren, zeigten nach 17 Stunden Zellkerne, in denen sich die Gerüstsubstanz von der Membran zurückgezogen hatte (Taf. IV, Fig. 144), die Kernmembran erwies sich als unlöslich und ebenso der contrahirte Kernrest. Ich erwähne diesen Fall besonders, da es sonst, abgesehen von den Entwicklungszuständen unmittelbar nach der Theilung, sehr selten vorkommt, dass sich die Kernmembran von der übrigen Kernsubstanz trennt. Man konnte ausserdem hier sehr deutlich wahrnehmen, dass die Kernmembran mit Poren versehen war, eine Erscheinung, die sonst vielleicht deshalb nicht so klar zu Tage tritt, weil Kernsubstanz die Poren der Membran ausfüllt.

Der Vollständigkeit halber sei noch erwähnt, dass bei starkem Säuregehalt der Zellen das Kochsalz keine lösende Wirkung ausübt, die Kerne werden dann, wie z. B. an den Blattzellen von *Begonia hycotylefolia*, vollständig fixirt. Es stimmt dies mit den Erfahrungen der Chemiker überein, dass fast alle Eiweissstoffe durch ein Gemisch von Kochsalz und verdünnte Säure gefällt werden.

<sup>1)</sup> Bot. Zeitung. 1885. p. 263. Anmerkung.

Von anderen Neutralsalzen geringerer Concentration untersuchte ich noch eine 10procentige Lösung von schwefelsaurer Magnesia, dieselbe wirkte ganz wie Kochsalz, und, wie ich noch besonders hervorhebe, auch die sonst schwer löslichen Kerne von *Phajus* wurden vollständig aufgelöst.

Wesentlich anders als die Neutralsalze geringerer Concentration wirken die gesättigten oder hochconcentrirten Lösungen derselben. Ich untersuchte 20procentige Kochsalzlösung und gesättigte Lösung von schwefelsaurer Magnesia, ausserdem noch gesättigte Lösung von schwefelsaurem Ammoniak.

In 20procentiger Kochsalzlösung quellen die Kerne etwas auf, ohne sich jedoch zu lösen. Einzelne Ausnahmen hiervon fand ich nur bei den Kernen aus der Wurzelspitze von *Pisum sativum*, aber auch hier löste sich die Mehrzahl der Kerne nicht auf. Das Linin und Paralinin der Kerne wird in eine durchsichtige Gallerte verwandelt, die unter dem Mikroskop bei sehr starker Vergrößerung eine sehr feine und zarte gleichmässige Punctirung zeigt, bei schwacher Vergrößerung erscheint sie homogen. Die Chromatinkörnchen und Kugeln sind verschwunden, das Chromatin hat sich in der homogenen Masse vertheilt. Bei etwas schwächerer Quellung können in einzelnen Fällen in der gequollenen Kernmasse Fibrillen sichtbar bleiben, dieselben verquellen jedoch später ebenfalls. Pyrenin und Amphipyrenin dagegen bleiben erhalten. Die Nucleolen werden ziemlich durchsichtig, ohne sich zu lösen oder ihre Form zu verändern. Man kann sie nicht immer leicht in der übrigen Kernmasse sehen, durch Zusatz von Farbstoff oder durch Anwendung fixirender Substanzen kann man sich jedoch von ihrer Gegenwart überzeugen. Sehr deutlich tritt in allen Fällen die Kernmembran hervor, sie hebt sich deutlich als doppelte Contour von dem Kerninhalte ab. Sie grenzt sich besonders scharf ab, wenn man die Kerne längere Zeit (über 12 Stunden) in der concentrirten Kochsalzlösung liegen lässt, es werden sodann auch die Poren in der Membran sichtbar. Um letztere zu sehen, ist allerdings nicht jedes Object geeignet, indem man bei weniger günstigen Objecten nur hellere und dunklere Stellen in der Membran wahrnimmt. Viel trägt zum Erkennen der Poren gute Beleuchtung mittelst des Abbé'schen Condensors bei.

Wir sehen also, dass beim Einbringen der Kerne in die 20procentige Kochsalzlösung Pyrenin und Amphipyrenin unlöslich bleiben, während die übrigen Substanzen verquellen. Bei dem Mangel einer Struktur in der gequollenen Masse können wir nicht sagen, ob das Chromatin, die achromatische Gerüstsubstanz und die Grundsubstanz alle nur gequollen sind, oder ob die eine oder die andere derselben sich auch gelöst hat.

Das Verhalten der Kerne in gesättigter Lösung von schwefelsaurer Magnesia bis in die Details zu verfolgen, wird dadurch erschwert, dass die einzelnen Strukturelemente in dieser Flüssigkeit so undeutlich werden. Bringt man die angeschnittenen Zellen in die gesättigte Lösung, so bleiben die Kerne immer erhalten, nur wenn die schwefelsaure Magnesia, wie z. B. an wenig verletzten Zellen, nur allmählig mit dem Kerne in Berührung kam,

machten sich Lösungsercheinungen geltend, was ja auch natürlich ist, da eine verdünntere Lösung die Kerne ziemlich leicht aufnimmt.

Im Allgemeinen ist der Effect gesättigter Lösung von  $MgSO_4$  derselbe, wie bei Kochsalz in hoher Concentration. Die Kernmembran und die Nucleolen sind unlöslich, das Chromatin ist löslich. Die achromatische Gerüstsubstanz und die Grundsubstanz werden zumeist in eine Gallerte umgewandelt, in welcher man die beiden Strukturelemente nicht mehr genau unterscheiden kann. Doch behalten die Kerne häufig eine, wenn auch undeutliche fibrilläre Struktur, so dass man annehmen muss, die achromatische Gerüstsubstanz ist wohl etwas quellbar aber unlöslich. Sehr deutlich schied sich das Linin der Fibrillen von dem Paralinin der Gerüstsubstanz bei den Kernen von *Phajus* (Taf. III, Fig. 110). Die Zahl der Fibrillen ist hier gering, wovon man sich auch bei fixirten Kernen überzeugen kann (Taf. III, Fig. 109). Sie erleiden durch das Einlegen in die Salzlösung keine Veränderung, dagegen wird das Chromatin gelöst und die Grundsubstanz quillt stark auf. Auch von der Unlöslichkeit der Kernmembran und des Nucleolus kann man sich bei Fig. 110 überzeugen.

Einzelne Modificationen machen sich im Verhalten der anderen Kerne wohl geltend, im Grossen und Ganzen bleibt jedoch die Reaction gleich. So ist das Chromatin in den Kernen von *Pisum* und *Vicia sativa* etwas schwerer löslich, die Grundsubstanz und die Fibrillen quellen bei *Vicia faba*, *Vicia sativa*, *Pisum* weniger als bei *Phajus*, bei *Lupinus* etwas mehr. Ebenso sind die Kernkörperchen bei *Lupinus* nicht vollständig unlöslich. Wenn dies schliesslich auch nur quantitative Unterschiede in der Reaction sind, so werden sie doch den Werth der schwefelsauren Magnesia als Reagenz vermindern, wozu noch die Undeutlichkeit der Bilder unter dem Mikroskop hinzukommt.

Die kaltgesättigte Lösung von schwefelsaurem Ammoniak giebt ebenfalls keine klaren Kernbilder und dürfte sich deshalb nicht für die mikroskopische Untersuchung des Zellinhaltes eignen. Die Kerne sind in dieser Flüssigkeit unlöslich, bis auf das Chromatin, welches jedoch auch nicht sehr leicht aufgenommen wird. Die Kerne werden nicht momentan fixirt, sondern erleiden Veränderungen theilweise durch Hinweglösung des Chromatins, theilweise durch die Entziehung von Wasser. So weit man unter diesen Verhältnissen ein genaues Urtheil fällen kann, scheint mir ausser dem Chromatin nichts gelöst zu werden. Das Resultat ist jedoch nicht vollständig sicher.

Die in diesem Paragraphen gefundenen Thatsachen lassen sich folgendermaassen zusammenfassen:

Alle Substanzen der Kerne sind in 10% Kochsalz löslich, sobald weder Säuren noch Gerbstoff anwesend sind.

Beim allmählichen Absterben der Zellen in der Kochsalzlösung sind die Kerne nicht löslich, ebenso verhalten sich die durch Wasser veränderten Kerne.

In 20 procentiger Kochsalzlösung sind Pyrenin und Amphipyrenin unlöslich und nicht quellbar, Linin und Paralin verquellen, das Chromatin löst sich.

In gesättigter Lösung von schwefelsaurer Magnesia verhalten sich die Kernsubstanzen ebenso wie in der hochconcentrirten Kochsalzlösung, nur quillt das Paralin wenig, das Linin fast gar nicht.

In gesättigter Lösung von schwefelsaurem Ammoniak sind wahrscheinlich alle Substanzen bis auf das Chromatin unlöslich.

## § 21. Einwirkung von phosphorsauren Alkalien, Kalkwasser und freiem Alkali auf die Zellkerne.

### Verhalten gegen $\text{KH}_2\text{PO}_4$ .

Das Verhalten der Kernsubstanzen gegen Monokaliumphosphat wird wesentlich durch die Concentration dieses Reagens beeinflusst. Bei 1 % werden sämmtliche Kerne unlöslich gemacht, wenn auch die einzelnen Strukturelemente nicht so scharf hervortreten. Auch bei längerem Verweilen in dieser Lösung bleiben die Kerne von *Phajus* und *Hyacinthus* unverändert, während bei *Pisum*, *Vicia sativa* Schrumpfung des Linins eintritt, so dass es hier zur Bildung einer centralen Vacuole kommt. (*Pisum sativum* Taf. IV, Fig. 145.) Wir werden im Folgenden sehen, dass die Entstehung dieser Vacuole wahrscheinlich durch das Hinweglösen der Grundsubstanz bedingt ist.

Bei einer 5 procentigen Lösung werden die Kerne partiell fixirt. Während das Chromatin in allen Kernen gelöst wird, sind die Kernkörperchen und die Membran unlöslich, ebenso die Gerüstsubstanz. Die letztere ist besonders anfangs nach dem Einlegen der Schnitte in die Lösung sehr deutlich, was wohl daher kommen mag, dass die zwischen den Fibrillen befindliche Grundsubstanz etwas quillt und jene auseinander drängt, während die Fibrillen selbst gar nicht oder nur unbedeutend quellen (Kern von *Vicia sativa*, Taf. IV, Fig. 146). Nach einiger Zeit schrumpfen die Fibrillen sehr bedeutend, und zwar bleiben sie in Verbindung mit der Kernmembran, so dass um das Kernkörperchen eine centrale Vacuole entsteht (*Vicia sativa*, Taf. IV, Fig. 149). Solche Centralvacuolen konnte ich regelmässig bei *Pisum*, *Lupinus*, *Vicia faba* und *sativa* beobachten. Die einzelnen Fibrillen bleiben hier also im Zusammenhang und schrumpfen ohne sich zu trennen.

Bei *Hyacinthus* nimmt diese Schrumpfung eine etwas andere Form an, indem hier einzelne Fibrillenstücke sich zu Kugeln zusammen ballen, während die Grundsubstanz das übrige Kernvolumen ausfüllt.

Bei *Phajus* schrumpfen die Fibrillen weniger, die Grundsubstanz ist hier ebenfalls unlöslich, weshalb der Kern hier sein ursprüngliches Aussehen behält bis auf das Fehlen der Chromatinkugeln, welche weggelöst werden und an deren Stelle Hohlräume vorhanden sind. Bei *Hyacinthus* und *Phajus*

sind also alle Kernsubstanzen (incl. der Grundsubstanz) in 5%  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  unlöslich bis auf das Chromatin. Bei den übrigen Kernen verhalten sich die Substanzen ganz gleich, nur für die Grundsubstanz kann man nicht ohne Weiteres die gleiche Unlöslichkeit annehmen. Es ist richtig, dass die Bildung einer centralen Vacuole ausschliesslich durch Schrumpfung der Kernsubstanz verursacht sein kann, wie dies z. B. häufig beim Fixiren vermittelt concentrirter Picrinsäure zu beobachten ist. In diesen Fällen ist die centrale Vacuole jedoch sehr klein, was darauf hindeutet, dass die Kernsubstanz ihr Volumen bei der Fällung nur sehr wenig vermindert. Dasselbe beobachten wir auch bei anderen Fällungsmitteln. Obgleich nun die 5 procentige Lösung von  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  wenig wasserentziehend wirkt, so finden wir doch das Kernvolumen stark reducirt, was es mir wahrscheinlich macht, dass ein Theil der Kernstoffe in Lösung übergeht. Das Chromatin allein ist nur ein relativ kleiner Bruchtheil der Kernsubstanz, seine Lösung ist also nicht die eigentliche Ursache der Volumverminderung, zudem sehen wir auch bei *Lupinus*, wo nur wenig Chromatin vorhanden ist, dieselbe Zusammenziehung der Kernsubstanz eintreten. Ich glaube daher, dass noch eine andere Substanz und zwar die Grundsubstanz weggelöst wird. Beim Beginn der Wirkung des Monokaliumphosphates quillt die Grundsubstanz etwas, später ist sie nicht mehr zu beobachten. Die Quellung ist aber meist eine Vorstufe der beginnenden Lösung. Es ist mir daher wahrscheinlich, dass die Grundsubstanz bei gewissen Kernen löslich ist.

Die 20 proc. Lösung von  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  hat fast dieselbe Wirkung, wie die gleichconcentrirte Kochsalzlösung: die Kerne quellen etwas auf. Kernmembran und Nucleolen bleiben unlöslich, während die übrigen Substanzen eine homogene oder feinpunktirte Masse bilden. Bei *Vicia faba* sieht man anfangs noch kleine Chromatinkörnchen erhalten, sonst löst sich aber das Chromatin vollständig. Die Kerne werden in dieser hochconcentrirten Lösung sehr durchsichtig und selbst die Nucleolen heben sich nicht so scharf von der übrigen Masse ab. Es wäre daher leicht möglich, dass ein Theil der gequollenen Kernsubstanzen vollständig aus dem Kern hinweggelöst wäre; welche Substanzen dies sind, lässt sich nicht entscheiden.

#### Verhalten gegen $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ .

Das Dinatriumphosphat löst in den verschiedenen von mir angewendeten Concentrationen sämtliche Kernsubstanzen auf. Die Kernmembran und das Kernkörperchen sind etwas widerstandsfähiger, werden aber schliesslich ebenfalls aufgenommen.

In der 1 procentigen Lösung geht dem Verschwinden der Kerne ein Quellungsstadium voraus, die Kerne werden vollständig homogen, nur die Kernmembran und die Nucleolen bleiben noch erhalten. Bei *Phajus* und *Hyacinthus* erfolgt die Lösung der Kerne erst nach mehreren Stunden, bei den übrigen Pflanzen bald nach dem Einlegen der Schnitte in das Dinatriumphosphat. Immerhin dauert die Lösung etwas länger als wenn wir das

Salz in etwas höherer Concentration anwenden. Bei 5% erfolgt meist sofortige Lösung, nur bei *Phajus* dauert es etwas länger. Auch hier erweisen sich Kernmembran und Kernkörperchen als etwas schwerer löslich. Die gesättigte, d. h. 20procentige Lösung verhält sich wiederum wie die 1procentige. Vor dem Verschwinden der Kerne werden dieselben in eine sehr durchsichtige, oft feinpunktirte Masse verwandelt.

Die Geschwindigkeit, mit welcher das Dinatriumphosphat wirkt, ist von seiner Concentration abhängig, die Reaction bleibt jedoch dieselbe.

### Verhalten gegen Kalkwasser.

Die Kerne in Kalkwasser gebracht, quellen alle sehr stark auf und vergrößern ihr Volumen. Die in destillirtem Wasser unlöslichen Kerne quellen etwas langsamer, sie werden zunächst mehr homogen glänzend, es kommt bei ihnen auch oft zur Bildung von Randvacuolen (*Hyacinthus*, *Vicia faba*), was darauf hindeutet, dass ein Theil der Kernsubstanz in Lösung übergegangen ist. Nach längerer Einwirkung wird der Kern ganz homogen und nur der Nucleolus und die Kernmembran lösen sich nicht. Die beiden letzteren Substanzen werden jedoch ebenfalls von dem Kalkwasser angegriffen, sie quellen auf. Die weniger scharf contourirte Membran wird etwas dicker und ebenso vergrößert sich der Nucleolus, er wird zugleich vacuolig (vgl. *Vicia sativa*, Taf. IV, Fig. 148), was dafür spricht, dass er theilweise in Lösung übergegangen ist. Auf dem in Fig. 148 dargestellten Zustande verharren die Kerne der meisten Pflanzen und nur ausnahmsweise bei den sehr leicht löslichen Kernen von *Pisum sativum* platzt die Kernmembran, der Inhalt tritt aus. Theilweise löst sich bei *Pisum* auch die Membran, das Kernkörperchen verschwindet nur selten.

Die Reaction gegen Kalkwasser ist gewissen Modificationen unterworfen, die oft bei Kernen derselben Pflanze zu Tage treten, also wohl auf keine tiefgehende chemische Differenz hinweisen. So erscheint oft bei *Lupinus* der Kern statt homogen fein punktirt, die Lösung ist also unvollständig, die Kernmembran kann platzen, wobei dann vom Kern nur ein feiner Niederschlag zurück bleibt, der schliesslich jedoch auch gelöst wird. Bei *Hyacinthus* bleiben im Kern anfangs noch Chromatinkörnchen erhalten, die jedoch nach einiger Zeit ebenfalls verschwinden. Bei *Phajus* tritt die Membran weniger deutlich hervor, ausserdem ist hier das Chromatin besonders widerstandsfähig. Bei *Vicia faba* ist anfangs noch ein fibrilläres Gerüst im Kern sichtbar, dessen Hohlräume von einer helleren Flüssigkeit erfüllt sind. Sind die Zellen gerbstoffreich, kann die totale Lösung hier auch ganz unterbleiben.

Wie wir sehen, handelt es sich bei diesen Differenzen hauptsächlich nur um eine Beschränkung oder Verzögerung der Reaction, die für das Studium der chemischen Beschaffenheit des Zellkernes nicht von Belang sein kann.

### Verhalten gegen Kalilauge.

Mit wenigen Ausnahmen bewirkt Kalilauge der verschiedensten Concentration totale Lösung der Kerne, es gilt dies sowohl von verdünnter als von hoch concentrirter Lauge. Die Menge des Kalis, welche zur Auflösung nothwendig, ist sehr gering, schon 0,1% einer concentrirten Lauge genügt in den meisten Fällen. Die Kerne quellen zuerst auf, werden homogen, das Kernkörperchen bleibt anfangs noch erhalten, bis es später ebenfalls aufgenommen wird. Bei einem Theil der Pflanzen (*Phajus*, *Lupinus*) lösten sich die Nucleolen bei 0,1% überhaupt noch nicht, es geschah dies erst, wenn man eine etwas weniger verdünnte Lauge anwendete, bei 1% wurden jedoch auch die Nucleolen dieser Pflanzen gelöst. Bei *Lupinus* blieb in der 0,1 procentigen Lauge auch noch ein Theil des Linins in gequollenem Zustande zurück; sie zog sich von dem Nucleolus zurück, so dass eine centrale Vacuole gebildet wurde, trotzdem hier sicher keine Schrumpfung der Kernsubstanzen stattfand. Zur Erklärung dieser Vacuolenbildung müssen wir daher nothwendig die Lösung eines Theils der Kernsubstanz annehmen, wodurch das Volumen der übrig gebliebenen vermindert wurde.

In hochconcentrirter Kalilauge fand ebenfalls Lösung sämmtlicher Strukturelemente statt. Eine auffallende Ausnahme machten nur die sonst so leicht löslichen Kerne von *Pisum sativum*. In denselben (vgl. Taf. IV, Fig. 150) blieb nach Auflösung des Pyrenins und eines Theiles der übrigen Substanzen ein netzförmiges Gerüst zurück. Die Chromatinkörnchen waren ebenfalls verschwunden. Die ungelöste Substanz war sehr durchsichtig und hob sich nur wenig von der übrigen Kernmasse ab, sie glich ihrem Ansehen nach vollständig einer Gallerte, wie sie Eiweisskörper bei bestimmter Einwirkung des Alkalis ergeben. Etwas Aehnliches hat schon Sachs<sup>1)</sup> an Kernen von *Allium cepa* beobachtet, man darf diese Thatsache jedoch nicht, wie Sachs es gethan hat, verallgemeinern. Sobald nicht grössere Mengen von Gerbstoff vorhanden sind, erfolgt in den meisten Fällen auch in concentrirter Kalilauge vollständige Lösung.

Die Resultate dieses Paragraphen sind:

Das Monokaliumphosphat wirkt nur auf das Chromatin und wahrscheinlich auch auf das Paralinin lösend. Die anderen Kernsubstanzen werden gefällt.

In Dinatriumphosphat erfolgt vollständige Lösung aller Kernstoffe, das Pyrenin und das Amphipyrenin sind etwas schwerer löslich, gesättigte Lösungen haben hierbei dieselbe Wirkung, wie weniger concentrirte.

In Kalkwasser sind die Kernsubstanzen löslich oder stark quellbar bis auf das widerstandsfähigere Pyrenin und Amphipyrenin.

In Kalilauge erfolgt auch schon bei geringer Concentration

<sup>1)</sup> Beiträge zur Physiologie des Chlorophylls in Flora 1863.

totale Lösung. In hochconcentrirter Kalilauge kann ausserdem ein Theil des Kerns (wahrscheinlich das Linin) als Gallerte zurückbleiben, ohne sich zu lösen, meist jedoch ist auch hier die Lösung eine vollständige.

Alkalische Substanzen lösen das Chromatin relativ am leichtesten, während Nucleolus und Kernmembran etwas widerstandsfähiger sind.

## § 22. Einwirkung von freien Säuren auf die Zellkerne.

Jene Säuren, welche sämtliche Proteinstoffe fällen, welche auch die Chlorophyllkörper vollständig fixiren (vgl. § 37), wirken in analoger Weise auch auf die Zellkerne. Ich habe dieselben im Folgenden nicht näher berücksichtigt und nur die Wirkung der Essigsäure und Salzsäure näher ins Auge gefasst.

### Verhalten gegen Essigsäure.

Die sehr verdünnte Essigsäure, welche nur 0,2% Eisessig enthielt, wirkt durchwegs vollständig fixirend auf den Zellkern. Die Stoffe desselben sind hierin weder löslich, noch quellen sie auf. Wie bekannt, treten die Strukturen der Kerne deutlich hervor und wenn sehr substanzreiche, hellglänzende junge Kerne auch nicht sogleich nach der Berührung mit der Essigsäure Fibrillen und Körnchen aufweisen, so geschieht dies doch immer nach längerem Verweilen in der Lösung. Mit dieser Fällung aller Kernstoffe ist entweder gar keine oder nur eine geringe Schrumpfung verbunden. Im letzteren Falle kann es zur Bildung einer centralen Vacuole kommen (z. B. bei *Pisum*, *Vicia faba*). Meistens ist auch die Kernmembran sichtbar, sie hebt sich jedoch nicht so scharf ab, als in den früher erwähnten Fällen, wo der Kerninhalt verquollen ist, während die Membran intact bleibt.

Wenden wir eine etwas concentrirtere Essigsäure an, die 3% Eisessig enthielt, so bleibt die Wirkung auf das Chromatin, Linin und Paralinin fast dieselbe wie bei 0,2%; diese Stoffe sind unlöslich und nur sehr geringe Quellungserscheinungen machen sich geltend, indem die Fibrillen sich hie und da etwas verschieben können, oder wie bei *Phajus* sich auch zusammenballen. Diese Veränderungen sind aber im Allgemeinen sehr gering.

Anders verhalten sich Pyrenin und Amphipyrenin. Beide Substanzen quellen in der 3procentigen Lösung auf. Die Quellung ist beschränkt, indem die Volumvergrößerung sich immer innerhalb gewisser Grenzen hält. Niemals wird durch die Quellung des Nucleolus die übrige Kernsubstanz auseinander gesprengt. Die Nucleolen werden sehr durchsichtig, so dass man sie ohne Färbung eventuell übersehen kann. Bei *Pisum* wurden sie vacuolig, während sie sonst homogen gequollen sind. Es wäre also wie bei *Pisum* möglich, dass ein Theil der Nucleolarsubstanz in Lösung übergehen könnte. Die

Quellung der Membran ist schwieriger zu beobachten, indem naturgemäss die Dickenzunahme eine geringe ist. Immerhin fällt es auf, dass die Membran deutlicher wird und sich besser von der übrigen Substanz abhebt als an den mit 0,2 procentiger Essigsäure behandelten Kernen. Die Quellung äussert sich in einer geringen Dickenzunahme der Membran, also geht die Quellung hauptsächlich in radialer Richtung vor sich; durch etwas bedeutendere Quellung in tangentialer Richtung müsste ja bei der geringen Quellbarkeit des Kerninhaltes entweder ein Abheben der Membran oder Faltenbildung eintreten, was niemals zu beobachten war.

Bei weiterer Steigerung der Concentration der Essigsäure erleiden auch die übrigen Substanzen des Kerns mit Ausnahme des Chromatins wesentliche Veränderungen. Ausser dem Nucleolus und der Membran quellen noch die Gerüst- und die Grundsubstanz, während die Chromatinkörnchen als mehr oder weniger scharf begrenzte unlösliche Körper zurückbleiben.

In 50 procentiger Essigsäure vergrössern die Kerne ihr Volumen, wenn auch in verschiedenem Grade. Zwischen den einzelnen Pflanzen machen sich quantitative Unterschiede geltend. Bei *Lupinus* und *Vicia sativa* sind die Kerne stark gequollen, sie werden ganz durchsichtig, von der Differenzierung in Fibrillen ist nichts mehr zu bemerken, ebenso ist das Kernkörperchen homogen durchsichtig geworden, die Membran ist undeutlich, dagegen sieht man noch einzelne Körnchen in der durchsichtigen Masse, es ist das Chromatin. Bei *Vicia faba*, *Hyacinthus* und *Pinus* (Taf. III, Fig. 112) bleiben die Fibrillen noch etwas sichtbar, wenn sie auch durch die eingetretene Quellung wesentlich undeutlicher werden. Bei *Hyacinthus* runden sich die spitzig geformten Kerne zumeist ab. Die Quellung ist bei diesen Pflanzen immer geringer als bei den zuerst genannten. Das Chromatin bleibt überall unverändert. Am wenigsten quellen die Kerne von *Pisum sativum*, bei welcher Pflanze die Hauptvolumzunahme auf den Nucleolus fällt.

Lassen wir schliesslich concentrirten Eisessig auf die Kerne wirken, so finden wir schon bald nach dem Einlegen oder wenigstens nach 1 bis 2 Stunden den ganzen Kern in eine durchsichtige Gallerte verwandelt. Die schon von der 50 procentigen Lösung leicht angreifbaren Kerne von *Lupinus* und *Vicia sativa* werden in dem Eisessig so homogen-durchsichtig, dass man sie für gelöst hält. Durch Alkoholzusatz oder durch Auswaschen mit Wasser kann man sich jedoch davon überzeugen, dass sie nur gequollen und sehr durchsichtig gemacht waren, von den einzelnen Strukturelementen ist nichts mehr zu sehen, auch das Chromatin ist im ganzen Kerne vertheilt, die einzelnen Körnchen sind nicht mehr sichtbar, trotzdem ist das Chromatin nicht vollständig gelöst, denn die Kerne vermögen noch Farbstoffe festzuhalten und werden auch bei der Tingirung nach Gram'scher Methode gut gefärbt. Bei den übrigen Pflanzen entsteht durch die concentrirte Säure zunächst ein körnig-fibrillärer Niederschlag, der sich allmählich in eine durchsichtige körnige Gallerte verwandelt. In dieser letzteren erkennt man den homogen gequollenen Nucleolus, das Chromatin bleibt auch bei diesen Kernen nicht

vollständig intact. Dies erkennt man am besten an den grossen Chromatinkugeln von *Phojus*, von denen eigentlich nur die Randparthien erhalten bleiben. Die Kernmembran ist zumeist nicht mehr deutlich sichtbar, blos bei *Phajus* war sie leicht zu erkennen, sie erschien auch hier deutlich porös.

Durch diese concentrirte Essigsäure wird schliesslich immer eine durchsichtige Gallerte gebildet und es liegt sehr nahe, diese Verwandlung mit der Bildung von Acidverbindungen in Zusammenhang zu bringen (Albuminid<sup>1)</sup>), wie sie bei der Bildung von Acidalbumin aus Albuminen und Globulinen stattfindet. Diese Umwandlung kann bei der einen Pflanze etwas rascher erfolgen, als bei der anderen, aber sie ist das Endresultat bei allen Pflanzen. Von den einzelnen Stoffen des Kernes erweist sich das Chromatin als relativ am widerstandsfähigsten gegen die Säurewirkung.

### Verhalten gegen Salzsäure.

Eine Flüssigkeit, welche nur 0,01% Salzsäure enthält, wirkt auf den Kern ganz wie destillirtes Wasser. Die im Wasser löslichen oder unlöslichen Kerne behalten ihre Eigenschaften in einer derartig verdünnten Salzsäurelösung bei.

Durch 0,1procentige Salzsäure werden die Kerne ziemlich vollständig fixirt. Alle Bestandtheile des Kernes sind unlöslich, oft findet gar keine Quellung statt und wo eine Volumvergrösserung eintritt, ist dieselbe gering und beschränkt sich auf den Nucleolus und die Grundsubstanz. Das Chromatin tritt mehr oder weniger deutlich hervor, quillt niemals. Das Verhalten der 0,1proc. Salzsäure schliesst sich also dem der Essigsäure von 0,2% an, nur fixirt die erstere nicht so vollständig wie diese.

Zacharias<sup>2)</sup> beschreibt das Verhalten der *Phajus*kerne in 0,1proc. Salzsäure in etwas anderer Weise. Derselbe sagt: „Werden frische Kerne unmittelbar mit 0,1proc. Salzsäure behandelt, so quillt der Nucleolus, während die Körperchen sehr scharf hervortreten. Sie erfüllen das Innere des Kernes und sind einer Substanz eingebettet, die sich in ihrem Aussehen nicht von der den Kern umgebenden Flüssigkeit unterscheidet. Dort, wo sich der Nucleolus befand, ist ein kugeliges Raum von demselben Aussehen vorhanden. In der Peripherie des Kernes bilden dicht gelagerte Körperchen eine membranähnliche Schicht. Ausserhalb derselben erkennt man nur mit Mühe die etwas gequollene Kerntasche, in welche die Suspensionsfäden übergehen. Vermuthlich ist es diese Kerntasche, die bei der Quellung des Kernes in destillirtem Wasser die doppelt contourirte Membran darstellt.“

Hierzu muss ich bemerken, dass die grossen „Körperchen“ im Innern des Kernes, ebenso wie die dicht gelagerten Körperchen in der Peripherie desselben aus Chromatin bestehen; diese Substanz tritt, wie Zacharias richtig bemerkt, bei der Behandlung mit Salzsäure schärfer hervor. Dagegen

1) Vgl. auch die in § 38 citirten Angaben von A. Rollet.

2) Botan. Zeitung. 1882. p. 653.

ist es nur Zufall, dass bei den von Zacharias beobachteten Kernen die Chromatinkörnchen der Peripherie so dicht gelagert waren, dass sie eine membranähnliche Schicht bildeten, für gewöhnlich liegen sie viel weniger dicht. Ausserdem wäre diese Beobachtung ohne jede Analogie, da bei anderen Kernen nirgends eine membranartige Chromatinschicht beobachtet worden ist, die Kernmembran besteht vielmehr aus achromatischer Substanz. Jenes Gebilde, welches Zacharias als Kerntasche bezeichnet, ist die eigentliche Kernmembran, die an den von mir beobachteten Objecten ohne Schwierigkeit zu sehen war, ja man konnte sogar wahrnehmen, dass dieselbe aus dunkleren und helleren Theilchen bestand, welches Aussehen durch das Vorhandensein von Poren erklärt wird. Diese Kernmembran tritt wohl bei der Behandlung mit destillirtem Wasser deutlich hervor, Quellung des Kerns ist dazu jedoch nicht nothwendig, da dieselbe auch in Flemming'scher Lösung, also an fixirten Kernen deutlich zu sehen ist. Bei dem Nucleolus kann allerdings eine geringe Quellung eintreten, man darf jedoch nicht annehmen, dass er gelöst wird, wozu die etwas undeutliche Ausdrucksweise von Zacharias (an Stelle des Nucleolus sei ein kugeliger Raum von demselben Aussehen vorhanden) vielleicht Veranlassung bieten könnte. Jene Substanz, welcher die Chromatinkörper eingebettet sind, soll nach Zacharias nicht von der den Kern umgebenden Flüssigkeit zu unterscheiden sein. Es ist möglich, dass dies bei schwächerer Vergrösserung stattfand, mit der Oelimmersion erkannte man jedoch deutlich die vorhandenen Fibrillen, die einer homogenen Grundsubstanz eingelagert sind. Eine Volumzunahme der letzteren kann stattfinden, ist aber sehr gering.

Nach dem Gesagten glaube ich an meiner Behauptung festhalten zu können, dass alle Kernsubstanzen in einer 0,1procentigen Salzsäure unlöslich sind.

Die 1proc. Salzsäure wirkt weitaus energischer auf die Kernsubstanzen ein, die Kerne quellen, die Volumvergrösserung differirt jedoch bei den einzelnen Pflanzen innerhalb ziemlich weiter Grenzen. So quellen die Kerne von *Pisum* fast gar nicht, die Kerne von *Vicia faba*, *Vicia sativa*, *Phajus*, *Hyacinthus* nur wenig, jene von *Lupinus* ziemlich stark. Diese Differenzen sind vorzugsweise bedingt durch die grössere oder geringere Quellbarkeit des Linins und Paralinins, theilweise auch durch das Verhalten des Nucleolus. Bei *Hyacinthus* und *Vicia faba* bleiben die Fibrillen auch in der Salzsäure ziemlich unverändert erhalten, nur die Grundsubstanz quillt etwas stärker. Durch das geringe Auseinandertreiben der Fibrillen werden dieselben besser sichtbar als sonst. Bei *Pisum*, wo die Grundsubstanz nicht quillt, sind die Kerne zwar fibrillär gefällt, aber die einzelnen Fibrillen sind nicht so deutlich. Bei *Phajus* vergrössern sich die Kerne, zugleich wurden die Fibrillen undeutlicher, Grundsubstanz und Fibrillen quellen gleichmässiger. Bei *Lupinus* und *Vicia sativa* endlich bilden die zwei genannten Substanzen eine homogene Masse ohne sichtbare Struktur (vgl. hierzu Taf. IV, Fig. 151a u. 151b). Bei *Vicia sativa* vergrössert sich das Kernvolumen anfangs nur wenig,

in dem Kern selbst treten die unlöslichen Chromatinkörnchen scharf hervor. Allmählig wird die Kernmasse trüber, sie quillt noch etwas auf, verliert ihre scharfe Begrenzung, bis schliesslich unter gleichzeitigem Verquellen des Chromatins der Kern in einen feinen, gallertartigen Niederschlag verwandelt wird (Taf. IV, Fig. 151e). Bei *Lupinus* werden die Kerne sehr durchsichtig, theilweise werden sie sogar gelöst. Man findet Stadien, wo der gelöste Kerninhalt nach dem Platzen der Membran ausgetreten ist, und die Membran zurückblieb. Das Chromatin blieb immer länger erhalten, bis es nach längerer Einwirkung auch nicht mehr nachzuweisen war.

Trotz dieses differenten Verhaltens von Fibrillen und Grundsubstanz zeigt das Chromatin bei den verschiedenen Pflanzen dieselben Reactionen. Es ist immer schwer löslich, quillt anfangs gar nicht, wird jedoch nach längerem Verweilen in der 1 proc. Salzsäure schliesslich zerstört. Ohne Färbung tritt es nicht immer gleich deutlich hervor, bei vollständig homogener Quellung der übrigen Substanzen werden die Chromatinkörnchen besser hervortreten, als wenn sie noch in wenig gequollenen Fibrillen eingeschlossen sind. Durch Färben kann man sich jedoch auch in diesen Fällen von ihrer Anwesenheit überzeugen. Die gewöhnlichen kleinen Chromatinkörnchen werden zunächst undeutlich und verschwinden schliesslich, die grossen Chromatinkugeln von *Phajus* werden zunächst im Innern vacuolig, während die peripherischen Theile noch erhalten bleiben.

In Bezug auf den Nucleolus ist die Entscheidung nicht ganz leicht. Bei allen Pflanzen quillt derselbe am Anfang homogen auf, er vergrössert sein Volumen in allen Fällen, auch z. B. bei *Pisum*, wo die übrige Kernsubstanz nicht quillt. Das Kernkörperchen wird so durchsichtig, wie die den Kern umgebende Flüssigkeit. Bei *Lupinus* war er in Wirklichkeit gelöst, ebenso wahrscheinlich bei *Vicia sativa*, wo die übrige Kernsubstanz (Taf. IV, Fig. 151b) den Nucleolusraum bis zu ihrem Verquellen einschloss. Bei den übrigen untersuchten Pflanzen ist der Nucleolus zunächst nur gequollen und scheint erst bei längerer Salzsäurewirkung zu verschwinden.

Diesem Verhalten des Nucleolus schliesst sich die Kernmembran an, welche zuerst als homogene Hülle noch sichtbar ist, später aber verschwindet.

Betrachten wir die Lösungsverhältnisse einzelner Strukturelemente, namentlich des Chromatins, der Kernmembran und des Nucleolus, so erhalten wir die Ueberzeugung, dass bei längerer Zeit der Einwirkung chemische Zersetzungen stattfinden, denn sonst wäre die Thatsache nicht zu erklären, dass sich diese Substanzen anfangs wesentlich anders verhalten, als später. Die anfangs unlöslichen Substanzen werden mit der Zeit in lösliche verwandelt.

In 20 procentiger Salzsäure sind die Kerne unlöslich, sie quollen nicht, sondern können sogar etwas schrumpfen, wie bei *Phajus* oder bei *Pisum*. Im letzteren Falle entsteht durch Schrumpfung eine kleine Centralvacuole um das Kernkörperchen. Die einzelnen Strukturelemente sind anfangs meist deutlich wahrzunehmen, bei längerem Liegen wird die Struktur jedoch zerstört, wir erhalten einen feinkörnigen Niederschlag in der Form des Kernes.

Das Chromatin verhält sich wie in der 1procentigen Salzsäure. Die Nucleolen quellen in der concentrirteren Flüssigkeit weniger auf, wenn sie auch meist etwas homogener werden. Die Kernmembran ist erhalten, aber undeutlich.

Concentrirte Salzsäure wirkt energisch auf die Kerne ein. Dieselben werden zumeist in eine durchsichtige Gallerte verwandelt, die entweder, wie der Nucleolus, homogen erscheinen kann (*Pisum*, *Vicia faba*), oder sehr feinkörnig aussieht (*Vicia sativa*, *Hyacinthus*, *Lupinus*). Bei *Phajus* wurde manchmal der ganze Kern gelöst, oder es blieb ein ausserordentlich feines spongiöses, durchsichtiges Gerüst zurück, das bei längerem Liegen (20 Stunden) noch weiter an Deutlichkeit verloren hatte. Ausnahmsweise kann auch bei *Pisum*, namentlich in stark verletzten Zellen, der Kerninhalt gelöst werden. Die Membran ist relativ am widerstandsfähigsten, doch ist sie niemals scharf contourirt. Sie bleibt immer, ebenso wie das Kernkörperchen, homogen und ist besonders dann deutlich, wenn der Kerninhalt feinkörnig ist. Das Chromatin wird bald nach der Berührung mit der concentrirten Salzsäure zersetzt.

Zacharias untersuchte ebenfalls die Wirkung concentrirter Salzsäure auf die Kerne von *Phajus*. Er legte die Kerne zuerst in eine 0,1procentige Salzsäure und verdrängte die verdünnte Säure durch concentrirte, oder liess concentrirte Salzsäure auf Alkoholmaterial einwirken. Er fand in beiden Fällen, dass der Kern unter Verquellung des Chromatins homogen wird und nun von einer doppelt contourirten Membran umgeben ist, welche dieselbe Lichtbrechung wie die Plasmatheile der Zelle zeigt. Diese Kernmembran soll wahrscheinlich mit der Kerntasche identisch sein, Beweise werden hierfür nicht gegeben.

Nach einiger Zeit erkennt man im Kern ein Netzwerk, welches die Nucleoli enthält, die Körperchen (das Chromatin) sind verschwunden. Liess Zacharias die Schnitte des Alkoholmaterials 48 Stunden in der concentrirten Säure liegen, so ist in den Zellen nach Zusatz von Jod in Jodkalium kein Inhalt mehr wahrzunehmen. — Ebenso gibt Strasburger an, dass an dem mit Alkohol fixirten, ruhenden Zellkerne aus dem protoplasmatischen Wandbelage von *Fritillaria imperialis* bei der Behandlung mit rauchender Salzsäure eine mässige Grössenzunahme eintritt, die Microsomen (unser Chromatin) schwinden, während das Hyaloplasmanetz und die Nucleolen nur wenig gequollen zurück bleiben. Auch die Kernwandung zeichnet sich bei dieser Behandlung nur schärfer.

Im Wesentlichen bestätigen meine Beobachtungen jene von Zacharias und Strasburger, die kleinen Differenzen dürften durch die vorhergehende Behandlung mit 0,1procentiger Säure und Alkohol hervorgerufen sein.

Aehnlich, wie bei der concentrirten Essigsäure, tritt auch durch die concentrirte Salzsäure Bildung von Acidverbindungen ein, die unter dem Mikroskop als Gallerten erscheinen, womit nicht ausgeschlossen ist, dass auch anderweitige Zersetzungen eintreten, welche sich der mikroskopischen Beobachtung entziehen.

Die Ergebnisse der Säurewirkung sind demnach:

Sehr verdünnte Säuren, 0,2% Essigsäure oder 0,1% Salzsäure fixiren die Kerne, die Kernsubstanzen sind unlöslich und nicht quellbar, nur in der verdünnten Salzsäure können Fibrillen und Grundsubstanz ihr Volumen etwas vergrössern.

Durch 3% Essigsäure werden Chromatin, Linin und Paralinin gefällt, Pyrenin und Amphipyrenin quellen etwas.

In 50proc. Essigsäure bleibt nur das Chromatin unverändert, die übrigen Substanzen quellen mehr oder weniger stark.

Durch Eisessig werden die Kerne in eine durchsichtige Gallerte verwandelt, auch das Chromatin wird im Kern vertheilt.

In 1proc. Salzsäure quellen Fibrillen und Grundsubstanz verschieden stark oder auch gar nicht. Das Chromatin ist anfangs immer unlöslich und unquellbar. Nucleolen und Membran quellen etwas, können sich schliesslich lösen.

In 20proc. Salzsäure sind die Kerne anfangs fixirt, werden unter Verlust der deutlichen Struktur feinkörnig, Nucleolen und Membran bleiben erhalten.

Concentrirte Salzsäure wirkt ähnlich wie Eisessig, manchmal werden die Kerne vollständig gelöst.

In freien Säuren ist das Chromatin der relativ widerstandsfähigste Körper, der jedoch durch hohe Concentrationen ebenfalls zersetzt wird. Membran und Kernkörperchen quellen bei geringerer Concentration leicht auf, können sich eventuell lösen.

### § 23. Einwirkung einiger Metallverbindungen auf die Zellkerne.

Bringt man dünne Schmitte in eine Mischung von Ferrocyankalium und Essigsäure, wie ich sie in der Einleitung (pag. 7) angegeben habe, so werden die Kerne und das Cytoplasma gefällt. Die Kerne sehen fibrillärkörnig aus wie bei anderen Fällungsmitteln. Bald nach dem Einlegen kann man jedoch beobachten, dass die Kernmasse etwas heller wird und dort, wo sich auch im ungefärbten Zustande die Chromatinkörnchen leicht erkennen lassen, kann man nun direkt unter dem Mikroskop verfolgen, dass das Chromatin sich vollständig löst. Die fibrilläre Struktur des Kerns erhält sich ziemlich lange, oft mehrere Stunden lang, während das Chromatin bald nach dem Einlegen verschwindet. Allmählich werden die Fibrillen undeutlicher, ohne jedoch gelöst zu werden und an Stelle der Fibrillen und Grundsubstanz finden wir nach längerem Verweilen in der Flüssigkeit einen feinkörnigen Niederschlag, die Masse schrumpft oft noch etwas, so dass um das Kernkörperchen eine centrale Vacuole entsteht. Bei *Phajus* (Taf. III, Fig. 111) sind die durch das Lösen der grossen Chromatinkugeln entstandenen Hohlräume leicht wahrzunehmen, bei feinerer Vertheilung des Chro-

matins ist es dagegen nothwendig, sich durch Färbung von der Abwesenheit des Chromatins zu überzeugen. Es ist vielleicht nothwendig, an dieser Stelle nochmals darauf hinzuweisen, dass nicht die einfache Aufnahme von Farbstoff für das Chromatin charakteristisch ist, sondern vielmehr die feste Fixirung des Farbstoffes, welche der Entfärbung einen so bedeutenden Widerstand entgegensetzt. Alle Theile des Protoplasmas nehmen Farbstoffe auf, daher färbt sich auch der Kern nach der Entfernung des Chromatins, wenn er in eine Anilinfarben- oder Carminlösung eingelegt wird, aber der Farbstoff kann leicht wieder ausgewaschen werden. Bei der Tinktion nach der Gram'schen Methode, wo nur das Chromatin und der Nucleolus gefärbt werden, kann man sich indessen von der Abwesenheit des Chromatins in den mit Ferrocyankalium und Essigsäure behandelten Kernen leicht überzeugen.

Die Nucleolen sind überall aufgelöst, sie treten auch schon im ungefärbten Kern meist scharf hervor (vgl. Fig. 111), bei der Tinktion nach Gram färben sie sich ebenfalls, es wollte mir jedoch scheinen, als ob sie etwas weniger intensiv tingirt wären als vor der Behandlung mit Ferrocyankalium.

Die Kernmembran wird durch die Behandlung mit unserer Flüssigkeit sehr deutlich. Sie war besonders anfangs scharf contourirt, während bei längerem Liegen der Unterschied im Lichtbrechungsvermögen zwischen Kerninhalt und Kernmembran geringer, die Membran selbst also undeutlicher wurde.

Bei der hier besprochenen Reaction ist die Mischung des Ferrocyankaliums mit Essigsäure wesentlich, indem Ferrocyankalium allein (in 8 bis 10proc. Lösung) sämtliche Kernsubstanzen löst, während bei Zusatz von Essigsäure nur das Chromatin verschwindet. Ferner darf man unsere Mischung nicht zu sehr mit Wasser verdünnen, da sonst die Lösung des Chromatins unterbleibt. Bei der Darstellung des Chromatins auf macrochemischen Wege dürfte demnach schon ein Verdünnen mit Wasser das gelöste Chromatin ausfällen.

Die ziemlich concentrirte Lösung von schwefelsaurem Kupfer wirkt ähnlich wie das eben besprochene Reagenz, nur dauert die Lösung des Chromatins etwas längere Zeit. Man muss die Schnitte mehrere Stunden lang in der Lösung liegen lassen, bevor das Chromatin vollständig verschwunden ist. Dafür bietet das schwefelsaure Kupfer den Vortheil, dass die Fibrillen deutlicher hervortreten und auch bei längerem Liegen unverändert bleiben. Die Fibrillen sind meist so vollständig fixirt, dass man in denselben noch kleine Hohlräume erkennen kann, die vor der Einwirkung des Reagenz mit chromatischer Substanz erfüllt waren. Ich habe (Taf. III, Fig. 116) den Versuch gemacht, einen Kern aus der jungen Blüthe von *Hyacinthus* möglichst naturgetreu zu zeichnen, der 5 Tage lang in dem schwefelsauren Kupfer gelegen hatte; nach der Zeichnung könnte man glauben, dass die Fibrillen körnig wären, Chromatinkörnchen sind jedoch nicht vorhanden. Die dunkleren Stellen in den Fibrillen sind jene Hohlräume, aus denen das Chromatin hinweggelöst wurde. Bei *Phajuskernen* erkennt man diese Hohlräume besser, da hier die Chromatinkörper sehr gross sind.

Die Kernkörperchen und die Kernmembran sind unlöslich, letztere ist nicht immer deutlich wahrzunehmen, z. B. bei *Hyacinthus*, *Vicia faba*, während sie in anderen Fällen sich gut von der übrigen Kernsubstanz unterscheiden lässt (*Lupinus*, *Vicia sativa*, *Pisum*, *Phajus*).

Das doppeltechromsaure Kali wurde früher vielfach zum Härten und Fixiren mikroskopischer Objecte verwendet, da es jedoch die Struktur nicht vollständig getreu erhält, hat man es in neuerer Zeit fallen lassen. Dasselbe wirkt nur bei geringerer Concentration fällend auf die protoplasmatischen Substanzen, bei höherer Concentration dagegen bleibt nur ein Theil der Substanzen unlöslich, die übrigen verquellen.

Im Kern quellen Linnin und Paralinin sehr stark auf, während das Chromatin und das Amphipyrenin der Membran vollständig unlöslich bleiben. Die Membran wird namentlich sehr deutlich, da der Kerninhalt entweder das Aussehen einer Flüssigkeit annimmt oder ganz feinpunktirt durchsichtig wird. Oft konnte man auch die Poren der Membran wahrnehmen. Die Kernkörperchen sind nur unvollkommen löslich, sie zerfallen meist in einzelne Stücke oder verändern doch wenigstens ihre Gestalt.

Das von mir noch angewendete Ferrum solubile bietet zur Untersuchung des Kernes keine besonderen Vortheile, da die entstehenden Bilder nicht sehr deutlich sind. Die Kerne quellen auf, die Fibrillen bleiben noch mehr oder weniger erhalten, die unlösliche Kernmembran lässt sich gut von der übrigen Substanz unterscheiden. Eine Differenz macht sich auch zwischen Nucleolen und Chromatin geltend, indem die ersteren homogen quellen, jedoch nicht stark, das Chromatin dagegen löst sich langsam auf.

Die Resultate dieser Beobachtungen sind:

In angesäuerter Lösung von Ferrocyankalium, ebenso in schwefelsaurem Kupfer, löst sich das Chromatin, während sämmtliche übrigen Substanzen erhalten bleiben.

In concentrirter Lösung von doppeltechromsauren Kali ist das Chromatin und die Kernmembran vollständig, der Nucleolus partiell unlöslich, die Fibrillen und Grundsubstanz quellen gleichmässig auf.

In Ferrum solubile ist nur die Membran unlöslich, das Chromatin ist löslich, die übrigen Substanzen quellen.

Alle hier genannten Stoffe machen die Kernmembran deutlich.

Schwefelsaures Kupfer kann zum Fixiren des Kernes verwendet werden, da ausser dem Chromatin alle anderen Stoffe in ihrer Form erhalten bleiben.

## § 24. Einwirkung von Verdauungsfermenten auf die Zellkerne.

### Verhalten gegen Trypsin.

Ueber die bei den Verdauungsversuchen angewendete Methode, sowie über die Zusammensetzung der Verdauungsflüssigkeit, habe ich schon in der

Einleitung (pag. 7) und im § 14 berichtet. Bei der Verdauung der Kerne wurde ebenfalls meist Alkoholmaterial verwendet, nur bei Kernen, die sich im Wasser nicht verändern, wurde mit frischem Material operirt. Die Alkoholbehandlung ist jedoch auch auf die Verdaubarkeit des Kernes ohne Einfluss. Wenn ich auch das Trypsin nach Kühne's Angabe zumeist bei einer Temperatur von 35—40° C. wirken liess, so gelangte ich doch zu denselben Resultaten, wenn ich bei Zimmertemperatur operirte, die Verdauungsprocesse verliefen im letzteren Falle nur etwas langsamer.

Durch das Trypsin werden die Kerne bei längerer Wirkung vollständig verdaut und gelöst. Die vollständige Lösung tritt meist erst nach 20—24 Stunden ein, manchmal sogar noch etwas später, es lässt sich dann weder bei nachträglicher Fixirung noch bei intensiver Färbung irgend ein Kernrest nachweisen. Man kann auch vorher tingirte Kerne der Verdauung unterwerfen, sie verschwinden allmählig vollständig.

Wenn nun auch der ganze Kern aus Proteinstoffen besteht, welche bei der Trypsinbehandlung verdaubar sind, so machen sich doch bei den einzelnen Kernstoffen in Bezug auf die Leichtigkeit der Verdaubarkeit weitgehende Differenzen geltend.

Das Chromatin ist durchgehends der am leichtesten verdaubare Körper, dasselbe verschwand schon 5—10 Minuten nach dem Einlegen der Schnitte in die Verdauungsflüssigkeit. Nur in Zellen, wo die Trypsinlösung langsamer eindringen konnte, blieb das Chromatin etwas länger erhalten. Wir können das Lösen des Chromatins direkt unter dem Mikroskop verfolgen, wenn wir mit Safranin gefärbte Kerne der Verdauung unterwerfen. Die intensiv gefärbten Chromatinkörnchen schwinden, gleichzeitig wird der vorher roth gefärbte Kern gelblich. Die übrige Kernsubstanz bleibt auch nach der Lösung des Chromatins anfangs noch etwas gefärbt.

Interessant war das Verhalten des Chromatins in Kernen der Epidermis von blauen Hyacinthenblüthen (Taf. III, Fig. 117—120). Legt man die abgezogene Epidermis in verdünnte Salicylsäure von derselben Concentration (0,1 %) wie die Verdauungsflüssigkeit, so verändern sich die Kerne nicht weiter, wendet man dagegen die salicylsäurehaltige Trypsinlösung an, so werden sie schon bei gewöhnlicher Temperatur nach 10 Minuten heller, nach längerem Liegen werden sie jedoch so durchsichtig, dass man sie nur nach Fixirung mit Alkohol oder Flemming'scher Mischung wahrnehmen kann. Das circa 1 Stunde verdaute Object wurde mit Wasser abgespült, mit Flemming'scher Mischung fixirt, schliesslich nach der Gram'schen Methode gefärbt. Es stellte sich heraus, dass der Kern in seiner Form noch überall erhalten geblieben war. In den weitaus meisten Fällen war er jedoch so vollständig von allem Chromatin befreit, dass man ihn gleichsam als den Schatten des unverdauten Kernes bezeichnen konnte (Fig. 120). In einem kleineren Theil der Zellen war die Verdauung noch nicht so weit fortgeschritten, weshalb man gerade an diesen Zellen den Verlauf der Lösung des Chromatins gut verfolgen konnte. Das im normalen Zustande in dem

ganzen Kerngerüst enthaltene Chromatin war zu kleineren Tropfen zusammengelaufen, diese Tropfen waren entweder noch im Kerne angesammelt (Fig. 117) oder schon theilweise ausgetreten (Fig. 118) oder hatten sich neben dem farblosen Kerne als kugelförmiger Körper angesammelt (Fig. 119). Das Chromatin ist also in diesem Falle zunächst in eine löslichere Modification übergeführt worden, die jedoch noch die farbenspeichernden Eigenschaften des Chromatins bewahrt hatte. Bei den vollständig verdauten Zellen waren diese zusammengelaufenen Kugeln nach der Fällung und Färbung nicht mehr zu sehen, woraus man wohl schliessen darf, dass das Chromatin vollständig umgewandelt wurde.

Diese Beobachtung stimmt mit den Erfahrungen der Chemiker überein, wonach bei der Verwandlung der Eiweissstoffe in Pepton zunächst leichter lösliche Zwischenglieder entstehen. Derartige Zwischenglieder zu beobachten, ist jedoch nicht immer möglich; besonders wenn man mit Alkohol fixirtes Material verdauen lässt, so werden zwar die Chromatinkugeln etwas grösser, sie quellen etwas auf, dann erfolgt jedoch Lösung.

Der bei der Trypsinverdauung nach kürzerer Zeit noch zurückbleibende Kernrest zeigt anfangs noch undeutliche Fibrillenstruktur, ebenso erhält sich der Nucleolus ziemlich lange, erst allmählich wird die Kernmasse gleichmässig durchsichtig und homogen, nur das Kernkörperchen bleibt noch sichtbar. Der letztere ist jedoch auch nicht mehr vollständig unverändert, was sich durch seine geringere Tinctionsfähigkeit kundgibt.

Zum Vergleich verdauter und nicht verdauter Kerne habe ich dieselben in beiden Zuständen nach Fixirung mit Flemming'scher Mischung und Färbung mit Methylviolett (nach Gram'scher Methode) abgebildet. Fig. 105, Taf. III stellt einen unverdauten Kern von *Phajus* dar, Fig. 106 einen Kern, welcher 1½ Stunden mit Trypsin behandelt worden war, Fig. 99 und Fig. 100, Taf. III geben dieselben Veränderungen wieder, wie sie sich an den Kernen aus dem Blatte von *Scilla maritima* beobachten lassen, Figur 99 ist der unveränderte, Fig. 100 der verdaute Kern.

Schliesslich möchte ich hierzu noch bemerken, dass die vorliegenden Veränderungen nur durch das Ferment bewirkt sein konnten, da eine schwach salicylsaure Lösung die Kerne niemals verändert, sie macht sie im Gegentheil unlöslicher in Wasser. Mit Alkohol fixirte Kerne bleiben auch nach Tage langem Verweilen in der verdünnten Salicylsäure unverändert. Da unsere Verdauungsflüssigkeit auf Lakmus schwach sauer reagirte, ist ausserdem eine Lösung durch Alkalien ausgeschlossen. Bakterien hatten sich während der Versuchszeit nicht entwickelt, die Lösung der Kerne kann demnach auch nicht auf Fäulniss zurückgeführt werden.

Das Gesagte kurz zusammengefasst: Das Chromatin ist der in Trypsin am leichtesten verdaubare Stoff des Kerns, die übrigen Stoffe werden etwas schwerer verdaut, am langsamsten der Nucleolus.

### Verhalten gegen Pepsin.

Die Verdaubarkeit pflanzlicher Zellkerne in schwach salzsaurer Pepsinlösung wurde schon von E. Zacharias näher untersucht. Er fand, dass die Hauptmasse des Kerns nicht verdaut wird, dass jedoch die bei der Verdauung zu Tage tretenden Erscheinungen darauf hinweisen, dass aus allen Formbestandtheilen des Kerns — Grundsubstanz, Chromatinkörperchen und Nucleolus — ein Theil durch die Pepsinwirkung hinweggelöst wird. Dieses Resultat stützt sich vor Allem auf die Untersuchung frischer Kerne aus *Phajus*swurzeln. Die von ihm früher untersuchten Kerne von *Tradescantia* und *Ranunculus* bezeichnet er als ungeeignet zur Entscheidung der Frage, in welcher Weise sich die durch ihre Reactionen unterscheidbaren Stoffe am Aufbau der einzelnen Formbestandtheile des Kerns betheiligen.

Da ich nicht alle Angaben von Zacharias bestätigen kann, ist es nothwendig, auf die von ihm angeführten Thatsachen, speciell die Untersuchung der Kerne von *Phajus* einzugehen.

Zacharias sagt: „Unterwirft man Schmitte aus frischen Wurzeln der Verdauung in künstlichem Magensaft, so werden die Körperchen (unser Chromatin) ungemein stark lichtbrechend und scharf contourirt, während Nucleoli und Zwischensubstanz ein etwas gequollenes blasses Aussehen erhalten, was auch bei den unverdaulichen Theilen des Protoplasmas der Fall ist. Im Nucleolus zeigen sich Theile verschiedener Lichtbrechung. Extrahirt man die Kerne nach der Verdauung mit absolutem Alkohol, behandelt sie dann vorsichtig mit einer schwach essigsäuren Lösung von Methylgrün und untersucht in schwach essigsäurem, stark mit Wasser verdünntem Glycerin, so bleiben Zwischensubstanz und Nucleoli farblos, die Körperchen aber werden intensiv gefärbt. Sie sind nimmehr unregelmässig gestaltet, nähern sich aber häufig der Kugelform. Die grösseren zeigen eine blasige Beschaffenheit. Manche sind eckig und mit benachbarten durch feine gefärbte Fortsätze verbunden, andere scheinen hingegen isolirt zu liegen.

Verglichen mit gefärbten verdauten Kernen, zeigen gefärbte unverdaute ein bedeutenderes Volumen. Namentlich ist die ungefärbte Zwischensubstanz viel deutlicher und scheint substanzreicher zu sein, ferner tritt der Nucleolus schärfer hervor und sieht homogener aus. Auch die gefärbten Körperchen sind homogener und nähern sich meist mehr der Kugelgestalt. Es scheint somit durch den Magensaft ein Theil der Substanz des Kerns gelöst zu werden und zwar scheint diese in Magensaft lösliche Substanz in allen Theilen des Kerns vorhanden zu sein. Im Uebrigen besteht der Kern den beschriebenen Reactionen zu Folge aus Nuclein und Plastin (abgesehen von Stoffen, welche in Alkohol löslich sind). Das Nuclein gehört den Körperchen an, das Plastin der Zwischensubstanz und den Nucleolen.“

Ohne an dieser Stelle auf den Vergleich der Kernstoffe mit anderweitig gewonnenen Substanzen wie Nuclein und Plastin einzugehen, möchte ich zunächst bestätigen, dass die von Zacharias direkt beobachteten That-

sachen für den vorliegenden Fall im Wesentlichen richtig sind, dass man sie aber nicht ohne Weiteres verallgemeinern darf.

Abgesehen hiervon ist Zacharias den Beweis schuldig geblieben, dass die beobachteten Veränderungen wirklich nur durch die Pepsinverdauung entstanden sind, und nicht etwa durch die längere Einwirkung der verdünnten Salzsäure bei höherer Temperatur.

Die Chromatinkugeln sind anfangs compact, treten beim Einlegen in die Verdauungsflüssigkeit scharf hervor, nach längerem Verweilen darin, namentlich bei 35—40° C., werden diese Kugeln sehr häufig, aber nicht immer partiell zerstört, es entstehen in denselben hellere Räume (Taf. III, Fig. 107), ja die Kugeln können sogar ganz zerfallen. Solche Veränderungen können sich bei 45° C. schon nach 1 Stunde bemerkbar machen, während sie bei Zimmertemperatur erst nach mehreren Stunden auftreten. Ganz dieselben Umwandlungen sind aber auch zu beobachten, wenn wir die Schnitte längere Zeit in einer 0,2proc. Salzsäurelösung ohne Pepsinzusatz bei höherer Temperatur verweilen lassen. Die Chromatinkörper werden also nicht eigentlich verdaut, sondern in ähnlicher Weise wie durch concentrirtere Salzsäure in kurzer Zeit durch die verdünnte Salzsäure in längerer Zeit und bei höherer Temperatur zersetzt, als Verdauung kann man dies jedoch nicht bezeichnen.

Was die partielle Verdaubarkeit der Grundsubstanz (im Sinne von Zacharias) anbelangt, so möchte ich zunächst bemerken, dass Zacharias hiermit sowohl die als Fibrillen differenzirten Theile, als die zwischen den Fibrillen befindliche Substanz — die Grundsubstanz in unserem Sinne — zusammenfasst. Die Kerne verkleinern ihr Volumen, wie Zacharias richtig angibt, unter dem Einfluss der Verdauungsflüssigkeit. Ich konnte direkt beobachten, wie in einzelnen Fällen aus verdauten Kernen hellglänzende Tropfen ausgetreten waren (Taf. III, Fig. 108), obgleich noch in dem Kernrest Fibrillen, wenn auch undeutlich, zu erkennen waren. Beim Beginn der Verdauung bleiben auch die Fibrillen noch sichtbar, während die Zwischen substanz heller und heller wird. Aus alledem schliesse ich, dass nicht die Fibrillen die eigentlich verdaubare Substanz bilden, sondern vielmehr die Grundsubstanz.

Der Nucleolus wird bei *Phajus* durch das Einlegen in die Pepsin-Salzsäurelösung sehr durchsichtig, er verliert auch an Tinctionsfähigkeit<sup>1)</sup>, die vorhandenen Unterschiede sind jedoch nicht durch die Pepsinlösung, sondern durch die Salzsäurewirkung bedingt.

Nach dem Gesagten wäre also sowohl das Chromatin als die Fibrillen, als der Nucleolus vollständig unverdaubar und nur die zwischen den Fibrillen befindliche Grundsubstanz würde gelöst. Dagegen wären sowohl Chromatin als Nucleolus partiell zersetzbar durch die längere Einwirkung der verdünnten Salzsäure.

<sup>1)</sup> Gefärbt nach Gram'scher Methode.

Dieses Resultat ist nicht ohne Weiteres zu verallgemeinern, das Chromatin erwies sich durchweg als unverdaubar, zeigte sich jedoch in den übrigen von mir untersuchten Fällen bedeutend widerstandsfähiger gegen die verdünnte Salzsäure. Bei Verdauungsversuchen, die bis zu 24 Stunden dauerten, veränderten sich die Chromatineinlagerungen nicht im Mindesten. Ein sehr geeignetes Object, um die bei *Phajus* gefundenen Thatsachen zu controlliren, bieten uns die Kerne aus den Blättern von *Cymbidium aloefolium*. Es kommen dort (vgl. Taf. III, Fig. 98) ähnliche grosse Chromatinkugeln vor wie bei *Phajus*. Dieselben werden hier jedoch nicht angegriffen, werden nicht vacuolig und zerfallen niemals. Ebenso blieben die kleinen Chromatinkörnchen von *Impatiens parviflora* (junger Stengel, Längsschnitt) und von *Tradescantia virginica* (Blattepidermis) intact.

### § 25. Hinweis auf die Methoden zur Sichtbarmachung der Strukturelemente in den Zellkernen.

Zur Feststellung der Lagerungsverhältnisse und Vertheilung der einzelnen Strukturelemente im Kerne wird die Beobachtung an fixirtem und gefärbtem Material immerhin den besten Anschluss geben. Zur Unterscheidung der einzelnen Strukturtheile ist diese Methode jedoch nicht ausreichend. Das Chromatin lässt sich ja wohl sehr leicht unterscheiden, aber schon die Trennung von Chromatin und Nucleolarsubstanz stösst bei fixirtem und gefärbtem Material auf Schwierigkeiten, daher bietet in solchen Fällen meine Methode der partiellen Lösung eine nothwendige Ergänzung der bisherigen mikroskopischen Methoden.

Handelt es sich darum, das Chromatin allein zu entfernen, die übrige Substanz zu fixiren, so verdient das schwefelsaure Kupfer den Vorzug vor den anderen Reagentien, indem die übrigen Strukturelemente vollständig in ihrer ursprünglichen Form festgehalten werden. Es dürfte sich diese Methode auch bei dem Studium der Kerntheilungsvorgänge bewähren, wenn es sich um die Untersuchung der sog. achromatischen Substanz handelt.

Die Mischung von Ferrocyankalium und Essigsäure löst ebenfalls nur das Chromatin, fällt die übrigen Stoffe, es treten hier jedoch nachträglich Quellungserscheinungen auf, welche dies Reagens zur Fixirung nicht geeignet erscheinen lassen.

Die Unterscheidung von Chromatin und Pyrenin, den beiden intensiv färbbaren Substanzen des Kerns, ist durch eine Reihe von Reagentien möglich. Schon das Einbringen verletzter Zellen in Wasser genügt in sehr vielen Fällen, jedoch nicht in allen. Es ist daher die Behandlung mit 20 procentiger Kochsalzlösung, Kalkwasser (Chromatin löslich — Pyrenin unlöslich) vorzuziehen, ebenso treten die Differenzen deutlich hervor in 50 procentiger Essigsäure und in concentrirter Lösung von doppelchromsaurem Kali, in welchen Substanzen das Chromatin erhalten bleibt, die Kernkörperchensubstanz verschwindet.

Die Kernmembran wird durch dieselben Reagentien deutlich gemacht, wie der Nucleolus. Es kommt hierbei hauptsächlich darauf an, die Gerüst- und Grundsubstanz zum Quellen zu bringen, und die Membran und Nucleolen ungelöst zu erhalten, die sonst geringen Lichtbrechungs-differenzen zwischen Membran und Kernhalt werden dann vergrößert, die Membran deutlicher. Es gelingt das häufig schon durch die Einwirkung von Wasser, besser jedoch durch 20procentige Lösung von Kochsalz oder von Monokaliumphosphat, durch doppelchromsaures Kali, Ferrocyankalium, Essigsäure und häufig auch durch Kalkwasser.

Die Unterscheidung von Gerüstsubstanz und Grundsubstanz ist schwierig, sie gelingt noch am besten durch gesättigte Lösung von schwefelsaurer Magnesia (nicht immer) und durch 1—5procentige Lösung von Monokaliumphosphat.

Das Nähere hierüber ist in den betreffenden Paragraphen dieses Kapitels nachzusehen.

## Kapitel IV.

### Cytoplasma.

#### §. 26. Die Ergebnisse der bisherigen Untersuchungen des Cytoplasmas in chemischer Beziehung.

Die bei der Untersuchung des Cytoplasmas maassgebenden Gesichtspunkte sind dieselben wie bei Chlorophyllkörpern und Zellkernen. Wir haben uns die Frage vorzulegen, besteht auch das Cytoplasma aus verschiedenartigen Proteinstoffen, wie wir dies bei oben genannten Gebilden nachgewiesen haben oder ist eine derartige Differenzirung nicht vorhanden? Können wir ein aus Fäden und einzelnen Balken bestehendes Gerüst von spezifischer chemischer Beschaffenheit unterscheiden oder bildet das Cytoplasma eine einfache Mischung oder Emulsion verschiedenartiger Substanzen? Speciell ist auch zu berücksichtigen, ob die Grenzschichten des Cytoplasmas nach Innen und Aussen (Plasmamembran und Vacuolenwand) eine besondere chemische Zusammensetzung aufweisen oder nicht. Hieran schliesst sich die Frage: durch welche Reactionen unterscheidet sich das Cytoplasma von den übrigen Gebilden?

Reinke<sup>1)</sup> und Rodewald haben für *Aethalium septicum* nachgewiesen, dass das Protoplasma dieses Schleimpilzes eine grosse Menge sehr verschiedenartiger Stoffe enthält. Ohne die einzelnen Stoffe aufzuzählen, möchte ich als wesentlich hervorheben, dass es Reinke<sup>2)</sup> gelungen ist, das Protoplasma von *Aethalium*, das hauptsächlich aus Cytoplasma besteht, durch Auspressen in eine festere Gerüstsubstanz und in eine abpressbare Flüssigkeit zu zerlegen. Die letztere bezeichnet Reinke mit dem Hanstein'schen Ausdruck Enchylema, obwohl beiläufig bemerkt, sich diese Ausdrücke bei Reinke und Hanstein<sup>3)</sup> nicht vollständig decken.

Reinke<sup>4)</sup> stellt sich diese Vereinigung von festerer und flüssiger Substanz folgendermaassen vor: „Gerüstsubstanz und Enchylema bilden ein imiges Gemenge mit einander, wobei jedoch die Gerüstsubstanz keineswegs etwa

---

1) Studien über das Protoplasma 1881.

2) l. c. p. 9.

3) J. v. Hanstein, Das Protoplasma 1880. p. 39.

4) l. c. p. 9 u. 10.

aus lauter kleinen gesonderten Partikeln besteht, wie die rothen Blutkörperchen im Blute, oder die Fettkügelchen in der Milch, sondern es geben sich hinreichende Gesichtspunkte für die Annahme, dass dieselbe einerseits die oberflächliche Hautschicht des Plasmaleibes darstellt, andererseits diesen letzteren nach allen Richtungen als ein festes, aber doch plastisches und contractiles Continuum durchsetzt in netzartigen Anastomosen. Es dürfte dies Gerüst, dessen Maschen wegen der Plasticität der Maschen unausgesetzter Grössen- und Formänderungen fähig sind, mit der Substanz eines Badeschwammes zu vergleichen sein; wie dieser letztere sich voll Wasser zu saugen vermag, so sind die Zwischenräume der Gerüstsubstanz des Protoplasmas von Enchylema erfüllt.“

Reinke führt für seine Auffassung, dass die Gerüstsubstanz des Protoplasmas aus einem netzartig anastomosirenden Continuum feiner Fäden und Platten besteht, den Umstand an, dass es bei dem Protoplasma nicht wie z. B. an der Milch gelingt, durch eine kräftige Centrifuge die feste und flüssige Substanz zu sondern. Ich halte dies jedoch nicht für beweiskräftig, da auch bei homogener Mischung von Gerüstsubstanz und Enchylema keine Trennung durch die Centrifuge erfolgen muss. Ausserdem weist Reinke auf die Arbeiten von Frommann und Schmitz hin, deren Resultate, wie wir weiter unten zeigen werden, ebenfalls nicht richtig sind.

Wenn ich diese Ansicht Reinke's über die Vertheilung von fester und flüssiger Substanz auch nicht acceptiren kann, so verkenne ich doch keineswegs den eigentlichen Werth seiner Untersuchungen, welche in der Bestimmung der chemischen Eigenschaften von Gerüstsubstanz und Enchylema liegen.

Die Gerüstsubstanz besteht zum grossen Theil aus einem specifischen Proteinstoff, dem sog. Platin, welcher sich nach Reinke in seinen Löslichkeitsverhältnissen den Fibrinen anreihen lässt, sich jedoch von diesen durch seine Unverdaubarkeit in Pepsin unterscheidet. Ausserdem kommen in dem Gerüst wahrscheinlich noch feste Fettsäuren, Lecithin, Cholesterin, Harz und andere Körper vor.

Das Enchylema enthält dagegen alle in Wasser oder in schwach alkalischer Lösung aufnehmbaren Stoffe und ausser Kohlenhydraten, Säureamiden, organischen Säuren auch noch coagulirbare Eiweissstoffe und Pepton.

Die Untersuchungen von Reinke haben für uns ein besonderes Interesse, weil sie uns neue Gesichtspunkte zur Betrachtung des Cytoplasmas der höheren Pflanzen gewähren. Dabei müssen wir jedoch in erster Linie berücksichtigen, dass hier die Absonderung des Zellsaftes stattgefunden hat, welcher letzterer viele Stoffe in sich aufnimmt, die bei dem Plasmodium des Schleimpilzes noch nicht gesondert sind. Nichtsdestoweniger besteht, wie wir später sehen werden, auch das Cytoplasma der höheren Pflanzen aus einer festeren Substanz, welche dem Platin Reinke's nahe steht und aus einem flüssigen Theile, welcher verschiedene lösliche Stoffe enthält.

Den Plastingehalt des Cytoplasmas höherer Pflanzen hat schon E. Zacha-

rias<sup>1)</sup> nachgewiesen. Zacharias nimmt an<sup>2)</sup>, dass im Protoplasma der Zellen (unserem Cytoplasma) die Eiweissstoffe quantitativ gegen das Plastin ausserordentlich zurücktreten, hier vielleicht sogar ganz fehlen. Als Plastin wird von Zacharias jener Körper bezeichnet, der wie das Nuclein bei der Pepsinverdauung in saurer Lösung erhalten bleibt, ausserdem jedoch noch unlöslich ist in 10procentiger Kochsalzlösung, in verdünnter und concentrirter Salzsäure.

Zacharias glaubt nun, dass das Plastin sowohl im Zellkern als im Cytoplasma vorkommt und hierin liegt jedenfalls eine Confundirung zweier verschiedener Stoffe. Das Plastin soll im Kerne der Zwischensubstanz angehören, diese Zwischensubstanz des Kerns zeigt aber wesentlich andere Reactionen (vgl. Kap. V, § 36) als das Plastin des Cytoplasmas, und die von Zacharias angeführten Reactionen genügten keineswegs, die Identität beider Stoffe zu beweisen.

Die Behauptung, dass das Cytoplasma in den ausgewachsenen Zellen kein oder doch nur sehr wenig Eiweiss enthält, begründet Zacharias durch das Verhalten des Cytoplasmas gegen Blutlaugensalz<sup>3)</sup>, was jedoch nach unserer Ansicht nicht einwandfrei ist. Die zu untersuchenden Schmitte wurden nach einem schon von Th. Hartig angegebenen Verfahren in eine essigsäure Lösung von gelbem Blutlaugensalz getaucht, nach einstündigem Liegen in derselben werden die Schmitte mit Alkohol von circa 60 Volumprocent ausgewaschen und schliesslich in eine verdünnte Lösung von Eisenchlorid eingelegt. Das Cytoplasma mit Ausnahme mancher grösserer Microsomen bleibt farblos, während die Stärkebildner, Chlorophyllkörper und Zellkerne sich blau färben. Zacharias hat nun in derselben Weise wässrige Lösung von Hühnereiweiss behandelt und gefunden, dass der entstandene Niederschlag sich in ähnlicher Weise blau färbt wie die oben genannten Gebilde. Aus dieser Reaction die Identität der Stoffe zu schliessen ist sehr misslich, auch wenn sie noch durch eine andere Reaction wie z. B. die Pepsinverdauung gestützt würde. Nach meiner Ansicht handelt es sich in erster Linie um die Speicherung des Blutlaugensalzes, das ganz so wie ein beliebiger Anilinfarbstoff fixirt wird. Der Kern speichert ebenso wie die Chlorophyllkörper und Stärkebildner, sowohl Farbstoffe als andere gelöste Substanzen in höherem Grade, als das Cytoplasma. So kann man auch die Zelle z. B. mit Molybdänsäure oder mit verdünnter Gerbstofflösung behandeln, auswaschen und Eisensalze zusetzen, wir werden immer in ersterem Fall die blaue, im letzteren Fall die schwarze Farbe im Kern am intensivsten auftreten sehen, in den übrigen Gebilden relativ schwächer, am geringsten im Cytoplasma. Das Festhalten von Ferrocyankalium ist also nur ein specieller Fall des relativ verschiedenen Speicherungsvermögens der plasmatischen Bestandtheile der Zelle. Nach der Darstellung bei Zacharias

1) Ueber Eiweiss, Nuclein und Plastin. Bot. Zeitung 1883. p. 209 ff.

2) l. c. p. 211.

3) Schon früher von Th. Hartig, bot. Zeitung 1854 angegeben.

ist man geneigt zu glauben, die Differenzen in der Blaufärbung von Chlorophyllkörpern und Stärkebildnern einerseits und Cytoplasma andererseits seien sehr grosse, dies ist jedoch nicht der Fall, auch wenn man nur kurze Zeit mit Alkohol auswäscht, um nicht zuviel Ferrocyankalium zu entfernen. Die Differenzen in der Färbung gleichen jenen bei Zusatz von Anilinfarbstoffen. Der Umstand, dass der Niederschlag von Hühnereiweiss ebenfalls Ferrocyankalium speichert, beweist nichts, da z. B. auch von Nucleinniederschlägen (vgl. Gierke's Untersuchungen über Färbungsmethoden) Farbstoffe und daher wohl auch Ferrocyankalium festgehalten werden.

Meine Ansicht geht also dahin, dass diese Blutlaugensalzreaction nicht zu positiven Schlüssen über die Anwesenheit von Eiweisskörpern berechtigt, d. h. von Stoffen, welche den Albuminen verwandt sind.

Es wäre eher noch zulässig, aus dem Fehlen einer Blaufärbung auf die Abwesenheit eines Albuminstoffes zu schliessen. Die von O. Loew<sup>1)</sup> dagegen gemachten Bedenken sind, wie schon E. Zacharias<sup>2)</sup> in seiner Erwiderung gezeigt, nicht stichhaltig. Wenn nach der vorherigen Behandlung mit verdünnter Kalilauge die Blutlaugensalzreaction auch an dem Cytoplasma, resp. an dem Plastin eintritt, so liegt die Annahme wohl am nächsten, dass eine Zersetzung des Plastins durch die Kalilauge stattgefunden hat. Zacharias sagt mit Recht: „Die Hindernisse für das Eintreten der Blutlaugensalzreaction in dem Protoplasma der untersuchten Zellen bestehen eben darin, dass dieses Protoplasma im Wesentlichen aus Plastin besteht, und das Plastin eine Substanz ist, welche sich in ihren Reactionen von den Stoffen unterscheidet, die man als Eiweissstoff zu bezeichnen pflegt.

Auf Grund einer anderen Reaction kam auch Sachs<sup>3)</sup> zu dem Schluss, dass in den Parenchymzellen nach der Streckung die Eiweissstoffe verschwinden. Sachs verwendete das unter dem Namen der Biuretreaction bekannte Verhalten der Eiweisskörper gegen schwefelsaures Kupfer und Kalilauge zur Entscheidung der Frage, ob in den Zellen Eiweiss vorhanden sei, oder nicht. Die Schmitte wurden in der Lösung von schwefelsaurem Kupfer 2—10 Minuten liegen gelassen, kurz abgespült und in concentrirte Kalilauge gebracht. Die den Eiweisskörpern entsprechende Violettfärbung trat ausser in den Cotyledonen oder dem Endosperm, solange diese noch nicht ausgesogen sind, nur in dem Urmeristem der Knospen und Wurzelspitzen auf, ferner in dem Siebtheil des Phloëms (Leitzellen, Gitterzellen, Cambiformzellen wie das Original sagt). Bei der Streckung des Parenchyms verschwindet die Reaction. Wenn nun auch nicht von Sachs speciell erwähnt wird, in welchen Theilen der Zelle die Färbung auftritt, so geht doch daraus hervor, dass in den erwachsenen Zellen, bis auf jene Zellen, die zur Leitung von plastischen Stoffen dienen, sowohl Protoplasma als

1) Bot. Zeitung 1884, p. 273.

2) Bot. Zeitung 1884, p. 389.

3) Flora 1862, p. 290 und 297.

Zellsaft keinen Proteinstoff enthalten, der die Biuretreaction aufweist, also auch keine, den Albuminen und Globulinen entsprechenden Stoffe.

Fraglich muss hierbei nur erscheinen, ob die in einem mikroskopischen Schnitt vorhandene Eiweissmenge immer ausreicht, um eine Färbung zu ergeben. Es wäre demnach wohl möglich, dass man besonders, wo es sich um sehr dünne Flüssigkeitsschichten handelt, einen geringen Eiweissgehalt im Protoplasma übersehen könnte. Ausserdem ist es keineswegs sicher, dass alle Eiweisskörper die Biuretreaction zeigen.

In jenen Theilen der Pflanzen, welche eine Violettfärbung ergeben, ist dieser Eiweissstoff, wie ich mich durch eigene Untersuchungen überzeugte, in der ganzen Zelle vorhanden, sowohl im Zellsaft, als im Protoplasma, hierbei ist jedoch noch zu bemerken, dass der Kern immer stärker gefärbt wird, als das Cytoplasma, und auch in etwas älteren Zellen, wo Cytoplasma und Zellsaft keine Biuretreaction mehr zeigen, ist der Kern noch schwach roth-violett tingirt. Es ist möglich diese Thatsachen zu verfolgen, wenn man die Schnitte nach der Behandlung mit schwefelsaurem Kupfer in hoch concentrirte Kalilauge einträgt, da in der letzteren die einzelnen Zellgebilde erhalten bleiben, während sie in verdünnter Kalilauge verquellen.

Betrachten wir einerseits das Vorkommen des Stoffes, welcher die Biuretreaction gibt, in allen Theilen der Zelle, auch im Zellsaft, andererseits die Gewebe, in denen die Reaction auftritt, so müssen wir zu der Ueberzeugung kommen, dass dieser Eiweissstoff ein Reservestoff ist, der in den Samen aufgespeichert wird, von dort durch das Leitgewebe zu den Vegetationspunkten geschafft wird und hier zum Aufbau des Protoplasmas verwendet wird. Die Kohlenhydrate zeigen ein analoges Verhalten und ich glaube daher, dass jene Substanz direkt als ein metaplasmatischer Stoff anzusprechen ist. Nach den vorliegenden Untersuchungen ist übrigens gar nicht zu entscheiden, ob die Reaction durch Eiweiss oder durch Pepton hervorgerufen wird.

Ausser den soeben angeführten Thatsachen besitzen wir noch zahlreiche einzelne Angaben über das chemische Verhalten des Cytoplasmas, so über das Verhalten gegen Säuren, Neutralsalze, Metallverbindungen, Alkalien, Alkohol etc., welche sich auf das gesammte Cytoplasma beziehen, ohne dass sie zur Entscheidung der am Eingange dieses Paragraphen aufgeworfenen Fragen verwendet worden wären. Die meisten dieser Reactionen lassen sich auf die Eigenschaften des Plastins zurückführen. Ich werde dieselben erst bei der Einwirkung der verschiedenen Stoffe auf das Cytoplasma näher besprechen.

Wenn wir demnach über die Beschaffenheit des Plastins im Cytoplasma der höheren Pflanzen schon besser unterrichtet sind, so ist die Vertheilung und die Beschaffenheit des Enchylems noch sehr wenig erörtert. Wir wissen, dass sich der Zellsaft absondert vom Cytoplasma, können aber nach den vorliegenden Thatsachen nicht entscheiden, ob dem Cytoplasma noch ein

spezifisches Enchylem eigen ist, und ob dieses Cytochylem (vgl. Strasburger<sup>1</sup>) identisch ist mit dem Zellsaft. Wenn es auf mikroskopischem Wege auch nicht möglich ist die Bestandtheile dieses Cytochytems nachzuweisen, so können wir doch einige bestimmte Fragen erledigen, ob dieses Cytochylem z. B. Proteinstoffe enthält, ob es bei der Bildung der Plasmamembranen mitwirkt, ob es alkalische oder saure Reaction zeigt etc. Zu einer näheren Untersuchung reichen jedoch die uns bisher zu Gebote stehenden Methoden nicht aus.

## § 27. Die Struktur des Cytoplasmas.

Die Art und Weise, wie man sich die Vertheilung von fester und flüssiger Substanz im Cytoplasma vorzustellen hat, ist noch keineswegs entschieden. Im Grunde genommen stehen sich jedoch nur zwei verschiedene Ansichten gegenüber.

Erstens das Protoplasma bildet eine homogene Substanz, in welcher meist in bestimmten Schichten körnige Gebilde abgelagert sind. Die körnchenfreien Schichten bilden die Begrenzung des Cytoplasmas sowohl nach aussen als nach innen, dem Zellsaft zu. Dementsprechend hat man zu unterscheiden zwischen Hyaloplasma oder Hautplasma (Pfeffer) oder Hautschicht (Pringsheim) einerseits und Körnchenplasma (Strasburger) oder Körnchenschicht (Pringsheim) oder Polioplasma (Nägeli) andererseits.

Nach der anderen Auffassung bildet das Körnerplasma ein Gerüst, oder im einfachsten Falle ein Netz aus anastomosirenden Fäden und Balken, desgleichen besitzt das Hyaloplasma eine ähnliche Struktur, nur dass hier die Maschen des Netzes enger, die feinsten Fäden einander näher gerückt sind. Die Körnchen sind theilweise oder in ihrer Gesamtheit nur die dichter erscheinenden Knotenpunkte des Gerüsts.

Eine vermittelnde Stellung nimmt Flemming ein, er stimmt der Ansicht vom gerüstartigen Bau der Zellsubstanz nur in sofern zu, als er die Existenz von Fäden und Fadenwerken zugibt, die jedoch in einer homogenen strukturlosen Grundmasse liegen und wesentliche Verschiedenheiten bei den differenten Organen und Zellen aufweisen.

Die erst genannte Ansicht wurde schon von Max Schultze und Pringsheim aufgestellt, von Nägeli, Pfeffer, in seinen früheren Arbeiten auch von Strasburger acceptirt und hat erst neuerdings in Berthold<sup>2</sup>) einen beredten Vertheidiger gefunden. Die Auffassung des Protoplasmas als ein Netzgerüst wurde dagegen von Frommann und Schmitz vertreten, denen sich auch Strasburger anschloss. Dieselben Differenzen, wie auf botanischem Gebiete, herrschen auch bei den Zoologen; da ich jedoch nur beabsichtige, die hierher gehörigen Fragen zu präcisiren, aber keine historische

1) E. Strasburger, Ueber den Theilungsvorgang der Zellkerne und das Verhältniss der Kerntheilung zur Zelltheilung 1882, p. 4.

2) G. Berthold, Studien über Protoplasma-mechanik 1886.

Uebersicht zu geben, kann ich in dieser Beziehung einfach auf die Darstellung bei Flemming<sup>1)</sup> verweisen.

Da alle Autoren darin einig sind, dass das Protoplasma aus festen und flüssigen Theilen besteht, so haben wir uns in dem einen Falle die Grundmasse des Cytoplasmas als eine Mischung vorzustellen, welche dem äusseren Ansehen nach homogen ist, aber immerhin noch eine verschiedenartige Vertheilung der einzelnen Substanzen möglich erscheinen lässt, während in dem andern Falle die festen Theile das Gerüst bilden, die flüssigen Theile dagegen die Zwischenräume desselben ausfüllen.

Um hier eine Entscheidung zu treffen, ist es nothwendig, auf die Begründung dieser Ansichten näher einzugehen. Gehen wir aus von der unmittelbaren Beobachtung des lebenden, unveränderten Objectes, so wird man sich wohl niemals von der Gegenwart eines Gerüsts im Cytoplasma überzeugen können. Dies ist jedoch kein so schwerwiegender Beweis, als man glauben möchte, indem ja auch im ruhenden jugendlichen Kerne keinerlei Strukturen wahrzunehmen sind, ohne dass dieselben fehlen würden. Aber ich glaube, dass Manche umgekehrt von der Struktur des Kerns auf einen gerüstartigen Bau des Cytoplasmas geschlossen haben und hierdurch schliesslich zu unbewiesenen Analogien gelangt sind. Die Mittel, im Kern eine derartige Struktur sichtbar zu machen, bestehen in einer Fällung d. h. Fixirung und Färbung der protoplastischen Substanz, wodurch, sobald Strukturen bestehen, natürlich dieselben deutlicher hervortreten, da sich die einzelnen Strukturelemente voraussichtlich nicht alle gleich verhalten können. Dagegen ist die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dass durch die Fällung wirklich homogener Substanzen ähnliche Strukturen entstehen.

Schon Flemming<sup>2)</sup> hat darauf hingewiesen, dass aus dem Zellsaft von *Spirogyra* netzförmige Niederschläge entstehen können. Dieselben haben jedoch, wie sie Flemming abbildet, eine geringe Aehnlichkeit mit den Gerüststrukturen und überdies handelt es sich ja nicht um die Ausfällungen aus dem Zellsaft, sondern um die Ausfällungen im Cytoplasma. Nichtsdestoweniger war der Gedanke weiter zu verfolgen und eine Untersuchung jener Niederschläge angezeigt, die man aus homogenen Substanzen ähnlicher Consistenz wie das Protoplasma erhielt. Namentlich musste gezeigt werden, dass man unter verschiedenen Bedingungen auch dieselben mannigfaltig verschiedenen Strukturen erhalten konnte, wie sie von Schmitz angegeben werden. Dies ist mir gelungen, indem ich eingedickte Pepton und Eiweisslösungen, sowie Leimgallerten und andere Substanzen in entsprechender Weise fällte, wodurch alle jene Cytoplasmastrukturen zum Verwechseln ähnlich nachgebildet wurden. Maassgebend für die Gestalt des Niederschlags ist die Consistenz resp. die Verdünnung der betreffenden Sub-

1) W. Flemming, Zellsubstanz, Kern und Zelltheilung 1882, erster Abschnitt, Zellsubstanz. p. 10—85.

2) Zellsubstanz, Kern etc. p. 51.

stanz und nur derartig halbflüssige, schleimige bis zähe Stoffe sind zur Erzeugung von künstlichen Strukturen geeignet. Das Nähere hierüber ist im § 28 beschrieben.

Durch die Erzeugung dieser künstlichen Strukturen ist es sehr wahrscheinlich gemacht worden, dass die bei dem gleichen halbflüssigen Aggregatzustande des Cytoplasmas durch Fällung entstandenen Strukturen ebenfalls Kunstproducte sind. Es war jedoch die Möglichkeit nicht vollständig ausgeschlossen, dass sie vorher schon existirten, denn auch in diesem Falle mussten sie im Cytoplasma durch die Einwirkung der fixirenden Substanzen hervortreten. Um eine derartige Möglichkeit auszuschliessen, wendete ich meine bei den Chlorophyllkörpern und Kernen von Erfolg begleitete Methode der partiellen Lösung an. Bei dem Cytoplasma sind an Fällungspräparaten die Maschen des Netzes resp. des Gerüsts keineswegs bloß mit Flüssigkeit erfüllt, die Füllmasse ist vielmehr tingirbar (bei stärkerer Färbung), sie enthält demnach ebenfalls coagulirbare Substanz. Existirte ursprünglich im Cytoplasma ein Gerüst, so musste man, nach Kernen und Chlorophyllkörpern zu urtheilen, hier ebenfalls eine Differenz in der chemischen Beschaffenheit nachweisen können. Dies gelang jedoch durch kein Reagens. Die durch die gewöhnlichen Fixirungsflüssigkeiten fällbare Substanz war nur ein Stoff, u. z. um dies im Voraus zu bemerken, ein „Plastin“. Die geringen Differenzen in der Tinctionsfähigkeit von Gerüst und Zwischensubstanz rühren davon her, dass ersteres etwas dichter ist; ganz dieselben Differenzen des Tinctionsvermögens finden wir auch bei den nicht organisirten Niederschlagsbildungen.

Die Bilder, wie sie uns Schmitz<sup>1)</sup> beschreibt, sind fast ausschliesslich Fällungsproducte an unverletzten Zellen, die durchaus nicht immer identisch sind mit den von Frommann beschriebenen Strukturen. Frommann hat, was das Cytoplasma anbelangt, hauptsächlich pathologisch verändertes, etwas gequollenes Protoplasma gesehen und beschrieben, das von mehr oder weniger verletzten Zellen herrührte.

Frommann<sup>2)</sup> sagt: „Die mitgetheilten Befunde ergeben in Betreff der Strukturverhältnisse des Körnerplasmas der Kerne und der Chlorophyllkörper insoweit ein übereinstimmendes Resultat, als die einfachste Form, unter welcher die Differenzirung dieser Zellbestandtheile auftritt, die von Netzen ist, deren Maschen bei gleichmässiger Vertheilung der Knotenpunkte (Körnchen) eine annähernd gleiche Weite und deren Fäden eine ziemlich gleiche Stärke besitzen. Die Maschen sind dann entweder rund und die Netze bekommen ein siebartiges Aussehen oder sie sind quadratisch und es entsteht ein zierliches Maschengitter.“ Etwas weiter unten führt er an, dass die sieb- und

<sup>1)</sup> Schmitz, Sitzungsbericht der niederrheinischen Gesellschaft für Natur- und Heilkunde in Bonn 13. Juli 1880.

<sup>2)</sup> C. Frommann, Beobachtungen über Struktur und Bewegungserscheinungen der Pflanzenzellen 1880. p. 33.

gitterförmigen Netze im Protoplasma (unserem Cytoplasma) häufig in beschränkter Ausdehnung, mitunter aber auch über Flächen vom doppelten und 3fachen Durchmesser eines Kernes ausgebreitet zu sehen sind.

Die hier beschriebenen Bilder sind durch eine Art Vacuolenbildung im Protoplasma entstanden. Beim Verletzen der Zellen, auch schon bei stärkerem Druck oder anderen schädlichen Einflüssen, wie z. B. durch die Einwirkung sehr verdünnter Anilinfarbstoffe kann im Cytoplasma eine Ausscheidung von Flüssigkeit stattfinden oder richtiger gesagt, eine Sonderung von festerer, zäherer Substanz und von Flüssigkeit. Es bilden sich im Protoplasma richtige Tropfen, die Kugelform annehmen, sobald sie nicht in zu grosser Anzahl ausgeschieden werden. Zwischen den einzelnen Tropfen befindet sich eine mehr zähe homogen aussehende Masse, so dass der Cytoplasmakörper das Aussehen eines Siebes erhält. Ist die Zahl der abgeschiedenen Tropfen eine sehr grosse, so platten sie sich gegenseitig ab, die dazwischen befindliche Plasmamasse nimmt die Form von geradlinigen Lamellen an, analog den Celluloselamellen der Zellen. Die Abbildungen bei Frommann sind ungenau und übermässig schematisirt, so dass man an ihnen den richtigen Sachverhalt nicht gut erkennen kann. Etwas besser sind (l. c.) noch Figur 12, Taf. I und die Figuren 8 und 13, Taf. II.

Eine Vacuolenbildung tritt in der Regel nur dort ein, wo das Cytoplasma in dichteren Schichten vorkommt, daher die Angabe von Frommann, dass sich die Netze besonders an den Enden der Zellen und um den Kern herum vorfinden, aber nicht überall gleichmässig im ganzen Cytoplasma.

Auf die nähere Beschreibung dieser Verhältnisse werde ich im § 30 bei der Besprechung der Wasserwirkung auf das Cytoplasma eingehen, hier sei nur noch bemerkt, dass auch derartige Bildungen nicht die Praeexistenz eines Netz-Gerüstes erweisen, indem man aus einer homogenen Mischung nicht organisirter Körper dieselben Bilder erhalten kann (vgl. hierzu § 29).

Die hier kurz angedeuteten Gesichtspunkte sind in den folgenden Paragraphen näher ausgeführt, sowie mit dem nöthigen Beweismaterial belegt.

Wenn ich nun auch die Ansichten von Frommann und Schmitz über allgemein vorkommende Cytoplasmagerüste und Netze verwerfe, so läugne ich doch nicht, dass auch in den Pflanzenzellen fädige Bildungen des Cytoplasmas vorkommen, die jedoch für die Funktionen der Zelle nicht von wesentlicher Bedeutung sein können. Wir wissen, dass in jugendlichen Zellen das Cytoplasma den ganzen von Zellkern und den jungen Chlorophyllkörpern freien Raum einnimmt, in alten Zellen dagegen bildet das Cytoplasma nur einen dünnen Wandbelag. In nicht zu inhaltsarmen Zellen, wo sich jedoch schon der Zellsaft abgeschieden hat, finden wir ausser dem Wandbelag der Zelle häufig das Cytoplasma zu feinen Strängen ausgezogen, die entweder durch das Zellumen gespannt sind oder der Innenseite des Wandbelages anliegen. In einzelnen Fällen ist es wohl schwer zu entscheiden, ob diese Fäden nicht etwa in dem Cytoplasma selbst liegen, mit Sicherheit konnte ich mich davon jedoch nicht überzeugen. Die hier in Frage stehenden

Protoplasmafäden sind keine Kunstprodukte, man beobachtet sie mit Leichtigkeit an dem lebenden Object, das jedoch in ganz frischem Zustande sich befinden muss, da diese Fäden häufig schon gegen wenig schädliche Einflüsse sehr empfindlich sind. Da ich sonst nicht Gelegenheit habe auf diese Fadenwerke einzugehen, mögen hier einige diesbezügliche Beobachtungen eingeschaltet werden.

Wir haben zu unterscheiden zwischen den mehr unregelmässig geformten Cytoplasmasträngen, wie sie Jedem durch das bekannte Bild der Staubfadenhaare von *Tradescantia virginica* geläufig sind, und Cytoplasmafäden, die ebenso wie die ersteren entweder den Zellsaft durchsetzen oder nur an dem plasmatischen Wandbelag der Zelle vorkommen. Die letzteren sind gleichmässig dicke Stränge, die nur durch Vereinigung mit anderen Strängen, durch Anastomosenbildung und Verschmelzung ein unregelmässigeres Ansehen erhalten. Ein principieller Unterschied besteht nach meiner Ansicht nicht, oder ist wenigstens bisher durch nichts bewiesen. Für meine Ansicht spricht, dass es bei verschiedenen Pflanzen Uebergänge gibt, welche diese Stränge und Fadenbildungen mit einander verbinden.

Bei einer sehr grosszelligen *Spirogyra* (Taf. V, Fig. 152) waren die inneren Schichten des Cytoplasmas ausgekleidet mit sehr zahlreichen feinen Fäden, die man erst bei Anwendung guter, starker Objective deutlich sehen konnte. Die Contouren sind keineswegs sehr scharf, das Lichtbrechungsvermögen der Fäden nicht wesentlich von dem des übrigen Cytoplasmas verschieden. Man erkennt diese Fäden dadurch leichter, dass die zahlreichen Mikrosomen sich in ihnen fortbewegen und die Fäden selbst häufig eine hin- und herschwingende oder schlängelnde Bewegung zeigen. Die Fäden gehen über die Aussenseite der Chlorophyllkörper hinweg, wie man aber an den chlorophyllfreien Stellen beobachten kann, ragen sie vielfach in den Zellsaft hinein, bilden Schlingen und Fadenwerke, welche direkt vom Zellsaft umspült werden, ohne dass sie denselben durchsetzen. Gerade ihre schwingende Bewegung spricht dafür, dass sie nicht direkt im Cytoplasma eingebettet liegen, da dieses einer derartigen Bewegung grösseren Widerstand entgegenzusetzen würde. Diese Cytoplasmafäden sind ausserordentlich empfindlich, sie ballen sich schon bei längerem Liegen in destillirtem Wasser zusammen, desgleichen wenn man 10 procentige Kochsalzlösung durchzieht und ebenso bei allen langsamer tödtenden Substanzen. Sie bilden dann kleine körnige Klümpchen, die sich besonders an den Chlorophyllbändern anhäufen (Taf. V, Fig. 154).

Analoge Fadenwerke hat auch Berthold in der farblosen Grundmasse von *Bryopsis* beobachtet, er beschreibt dieselben in seinen Studien zur Protoplasmaechnik (p. 60) folgendermaassen: „Im plasmatischen Wandbelag ausserhalb der von den Chlorophyllkörpern eingenommenen Schicht liegen massenhaft glänzende, homogene Fädchen von verschiedener Länge mit torulösen Auftreibungen versehen. Zuweilen erscheinen sie in der Flächenansicht auch als runde Tröpfchen. In radialer Richtung sind sie stark abge-

plattet, sie wechseln langsam ihre Lage, zerfallen gelegentlich und verschmelzen auch wohl miteinander. Bei Eingriffen erweisen sie sich als sehr unbeständig, sie verquellen sofort, es treten Vacuolen in ihnen auf, die sich vergrößernd der gesammten Grundmasse des Plasma eine anscheinend netzförmige Struktur verleihen. Ziemlich gut kann man sie aber mit Osmiumsäure, Jod in Meerwasser, Sublimat conserviren“.

Bei dieser weitgehenden Gleichheit der Eigenschaften können wir wohl annehmen, dass diese Fadenwerke bei *Bryopsis* und *Spirogyra* analoge Gebilde sind.

Etwas Aehnliches konnte ich an den Blättern von *Mnium undulatum* (Taf. V, Fig. 153) beobachten, welche ich im September untersuchte. Zahlreiche, feine, perlschnurartige Stränge erfüllen die ganze Zelle. Obwohl sie hier und da miteinander zusammenhängen, so verlaufen sie doch im Wesentlichen parallel u. z. zumeist in der Richtung der Zellen, welche auf dem Mittelnerv ungefähr senkrecht steht. In der Regel trifft dies zusammen mit der Längsachse der Zellen. Die Stränge verlaufen innerhalb der Chlorophyllkörper und bedecken dieselben nur an ihrer centralen Seite, man sieht sie daher auch am besten bei Wandstellung der Chlorophyllkörper. Diese Cytoplasmafäden sind hier feine Stränge, welche durch den Zellsaft, aber dem Wandbelag anliegend, verlaufen. Ihr charakteristisches Aussehen erhalten sie durch die mit grosser Regelmässigkeit vertheilten Microsomen, welche in diesem Falle nur kleine Fetttropfchen sind. Die Stränge sind überall gleich breit und ebenso die Körnchen gleich gross. Je nach der Einstellung des Mikroskops resp. der Beleuchtung der einzelnen Schnüre zeigen dieselben entweder dunklere Körnchen auf hellerem Bande oder hellere Körnchen auf dunklerem Bande.

Die kleinen Tröpfchen zeigen bei den im Wasser liegenden Blättern eine schwingende, hin- und hergleitende Bewegung innerhalb der Fäden, welche einigermaassen mit der Brown'schen Körnchenbewegung Aehnlichkeit hat, sich von derselben jedoch insofern unterscheidet, als die Körnchen nur in der Längsrichtung der Fäden hin- und herschwingen. Diese Bewegung ist eine Lebenserscheinung, denn sie ist an die Gegenwart von Sauerstoff gebunden, sie fehlt z. B. an Blättern, die in Olivenöl lagen, fast vollständig und nur eine minimale Bewegung bleibt übrig, die auch ganz fehlen kann und wahrscheinlich nur durch den bei der Assimilation der Chlorophyllkörper frei werdenden Sauerstoff unterhalten wird.

Die hier besprochenen Cytoplasmafäden sind ebenfalls sehr empfindlich gegen nachtheilige Einflüsse. Schon bei längerem Verweilen in Wasser gerathen sie in Unordnung, die einzelnen Fäden verwirren sich gewissermaassen. Lässt man sie unter Sauerstoffabschluss in Olivenöl liegen, so sind nach 22 Stunden schon die meisten Fäden zusammengeballt, es entstehen unregelmässige Körnchenhaufen, umgeben von den plasmatischen Resten der Fäden. Nach 3tägigem Liegen in Oel war von dem ursprünglichen Fadenwerke nichts mehr zu sehen, obwohl die Zelle in Kochsalzlösung noch

vollständig contrahirbar war, auch sonst keine Zeichen des Absterbens aufwies.

Beim Fixiren der Zellen stossen wir in der Regel auf ähnliche, zum Theil tiefgreifende Veränderungen. Am besten fixirten die Flemming'sche Mischung aus Chromsäure, Osmiumsäure und Essigsäure, sowie wässrige Sublimatlösungen, während durch verdünnte Osmiumsäure (1<sup>10</sup>%) oder Essigsäure (1%) allein, sowie durch Jod, Picrinsäure oder Alkohol die ursprüngliche Struktur vollständig verwischt wurde.

Bei Zusatz von Alkohol absolutus zu einem in wenig Wasser liegenden Moosblatt gerathen die Fäden zuerst in eine unruhige Bewegung, sie biegen seitwärts aus, zerreißen oder vereinigen sich zu einem weitmaschigen Netz. Dies Bild erhält sich jedoch nicht lange, die Fäden schrumpfen noch mehr, ballen sich zusammen, während die ursprünglich vorhandenen Tröpfchen (Microsomen) gelöst werden. Auch beim direkten Einlegen der Blätter in Alkohol abs. bleiben schliesslich nur einzelne Fäden zwischen den Chlorophyllkörpern übrig, die nicht mehr entfernt an das ursprüngliche Aussehen erinnern.

Bei 1% Essigsäure bleiben die Fäden und Tröpfchen anfangs erhalten, sie verlieren jedoch bald ihre scharfe Begrenzung und ballen sich nach längerer Wirkung zu kleinen Klümpchen zusammen, die allmählig erstarren.

Concentrirte Picrinsäure zerstört in kurzer Zeit die Fäden, die Körnchen werden gelöst, wendet man dagegen eine circa 3—4 procentige Säure an, so bleiben die Fibrillen zum Theil erhalten, nur ihre Lage ist ganz verschoben, sie bilden ein weitmaschiges Netz, das zumeist im Innern der Zellen dichter ist.

Ich habe noch eine ganze Reihe von Fixirungsflüssigkeiten angewendet, im Grunde genommen jedoch keine wesentlich anderen Bilder erhalten wie bei den eben genannten Reagentien. Ich habe die letzteren nur angeführt, um zu zeigen, wie empfindlich derartige Fadenwerke sind und speciell wie vorsichtig man bei der Verwendung fixirter Präparate sein muss. Das Verhalten gegen verdünnte Picrinsäure, dem sich auch die Einwirkung von 0,1% Osmiumsäure anschliesst, hat uns gelehrt, dass Plasmanetze auch durch die Zerstörung von Fadenwerken gebildet werden können.

Den Fadenwerken von *Mnium* schliesst sich zunächst die Fadenbildung an, wie ich sie in den Zellen junger unreifer Cotyledonen von *Ricinus sanguineus* (Taf. V, Fig. 155 und 156) beobachten konnte. Hier haben wir es ebenfalls mit perlschnurförmigen Gebilden zu thun, die in regelmässiger Vertheilung kleine Oeltröpfchen enthalten, auch überall gleich dick sind. Die Fäden verlaufen hier jedoch unregelmässig durch das Innere des Zellsaftes, ohne dass eine bestimmte Richtung bevorzugt wäre. Man erhält ein derartiges Präparat, wenn man Schnitte in frisches Hühnereiweiss bringt, das den Zellinhalt in verletzten Zellen sehr schön erhält, natürlich nur auf beschränkte Zeit.

Diese Fadenwerke bilden schon den Uebergang zu den Cytoplasmasträn-

gen. Bei Zellen aus der Wurzelspitze von *Pisum sativum* (Taf. V, Fig. 157) kann man derartige dünne Stränge sehr häufig finden, sie sind zahlreich in der ganzen Zelle vertheilt, ihre Dicke ist nicht mehr so gleichmässig, sie bilden Anastomosen mit dickeren Knotenpunkten, vereinigen sich wohl auch hie und da zu dickeren Strängen. Körnige Bildungen fehlten in diesem Falle, kamen jedoch bei anderen Pflanzen vor.

Gehen wir noch einen Schritt weiter, so kommen wir zu den Cytoplasmasträngen von *Tradescantia*haaren, die wie bekannt eine sehr verschiedene Dicke zeigen können, in ihrer Form auch wesentlich different sind. Es sind dies nur mehr Ausbuchtungen des Cytoplasmas, die wohl auch sehr feine Fäden bilden können, in der Regel aber kompakter sind.

Alle diese Fäden und Stränge können unter Umständen von dem plasmatischen Wandbelag aufgenommen werden, so bei *Spirogyra* schon bei ungünstiger Beleuchtung, bei *Mnium* nach längerer wochenlanger Verdunklung, bei *Pisum* und *Tradescantia* beim Aelterwerden der Zellen. Es stimmt dies mit meiner Ansicht überein, dass alle diese Fadenwerke und Stränge nur morphologisch differenzirte Gebilde sind, aber in ihrer Zusammensetzung und physiologischen Bedeutung nicht wesentlich vom übrigen Cytoplasma abweichen. Bei ihrer meist nur geringen Beständigkeit ist es schwer, die vollständige chemische Uebereinstimmung nachzuweisen; so weit dies möglich war, konnte ich mich jedoch davon überzeugen, dass keine wesentlichen Differenzen vorlagen. Geringere Unterschiede sind jedoch nicht ausgeschlossen. Was die Stränge von *Tradescantia* anbelangt, so wird wohl Jeder meine Annahme acceptiren; indem ich nun die Analogie zwischen diesen Strängen und den feinen Fadenwerken aufgedeckt, ist der Schluss nicht unberechtigt, dass auch diese Fadenwerke eine dem übrigen Cytoplasma sehr ähnliche chemische Beschaffenheit haben, besonders da keine Differenzen nachzuweisen sind.

Meine Ansicht geht nach dem Gesagten dahin, im Cytoplasma sind keine präformirten Netze und Gerüste vorhanden, ein Theil desselben kann sich jedoch zu Fäden und Strängen umbilden. In Consequenz dessen muss ich annehmen, dass das Cytoplasma eine Mischung ist, in welcher unter Umständen eine Trennung von festerer, zäher und flüssiger gelöster Substanz eintreten kann.

Die Vacuolenbildung im Cytoplasma ist demnach, wie dies schon von Berthold hervorgehoben wurde, ein Entmischungsvorgang, welche Anschauung wir auch bei der chemischen Untersuchung des Cytoplasmas festzuhalten haben. Das letztere ist aus dreierlei Substanzen resp. Substanzgruppen gemischt. Erstens die zähdehbare Substanz, welche wir als Cytoplastin zu bezeichnen haben, zweitens die in den Vacuolen gelösten Stoffe, drittens die in Wasser sowie im Cytoplasma unlöslichen Microsomen. Die Letzteren können auch ganz fehlen, während die Zusammensetzung aus Plastin und löslichen Stoffen nur relative Veränderungen aufweist.

Der mikroskopischen Untersuchung sind vorläufig nur die Eigenschaften des Plastins und der Microsomen zugänglich, während wir bei den löslichen Substanzen nur nachweisen können, dass es keine Proteinstoffe sind. Wo Kohlenhydrate und stickstoffhaltige Substanzen von Zelle zu Zelle wandern, da müssen nothwendiger Weise diese Stoffe auch im Cytoplasma vorhanden sein, wenn sie auch dort nicht gespeichert werden. Ebenso müssen die löslichen Umwandlungsprodukte der in den Chlorophyllkörpern gebildeten Kohlenhydrate zeitweise das Cytoplasma durchtränken. Auf Grund ähnlicher Erwägungen liesse sich wohl die Anwesenheit noch mancher Stoffe wahrscheinlich machen, es ist jedoch sehr fraglich, ob das Vorkommen dieser Stoffe auf das Cytoplasma beschränkt ist und da uns zur Zeit die Methoden zum directen Nachweis fehlen, muss ich darauf verzichten, dieselben näher zu bestimmen.

Die Microsomen des Cytoplasmas sind sehr verschiedenartige Gebilde. Einerseits hat man es hier mit Körnchen zu thun, die erst durch die Einwirkung von fällenden Substanzen entstanden sind, die also ursprünglich noch nicht vorhanden waren, andererseits handelt es sich um Einlagerung unlöslicher körniger Substanzen in das Cytoplasma, die jedoch wiederum sehr weitgehende stoffliche Differenzen aufweisen.

Die durch Fällungen entstandenen Körnchen sind zumeist kleiner, wenn auch die Grössendifferenz allein nicht maassgebend ist, ihre Form ist oft unbestimmter, es ist jedoch an fixirtem Material zumeist nicht möglich, dieselben ohne nähere Untersuchung von den schon ursprünglich vorhandenen Gebilden zu unterscheiden.

Solche Fällungsprodukte kommen sehr häufig neben den eigentlichen Microsomen vor. So erwähnt z. B. Schmitz, dass ganz junge plasmareiche Zellen (junge Ascosporen von Pilzen, junge Sporenzellen von *Characeen*, junge Pollenmutterzellen und Pollenzellen von *Phanerogamen*) nach dem Erhärten gleichmässig punktiert erscheinen. In dieser feinpunktirten Protoplasma-masse aber treten einzelne kleine Körnchen in wechselnder Anzahl deutlich hervor durch ihre stärkere Lichtbrechung sowie durch ihre grössere Tinctionsfähigkeit. Ganz dieselbe Struktur zeigen auch solche Abschnitte älterer Zellen, die aus sog. körnchenfreiem Plasma, sog. Hautplasma, bestehen (wie z. B. der hyaline Empfängnissfleck an den unbefruchteten Sporen von *Characeen*, hyaline Ausstülpungen der Myxomyceten, Plasmodien u. a.), nur dass hier diese dunkleren Körnchen viel weniger zahlreich und viel kleiner sind.

Die grösseren Körnchen sind die ursprünglichen Microsomen, während die kleinen Körnchen, wodurch die Grundmasse das feinpunktirte Aussehen erhält, nach meiner Ansicht erst durch die Fällung entstanden sind. Dass einzelne Körnchen auch in dem hyalinen Protoplasma zu finden sind, kann durch geringe Verschiebungen der plasmatischen Substanz beim Tödten resp. Fixiren verursacht sein, oder auch direkt eine Fällungserscheinung sein. Im nächsten Paragraphen sind derartige Bilder ebenfalls durch Fällung homogener Substanzen erhalten worden.

Abgesehen von diesen körnigen Fällungsprodukten sind die schon ursprüng-

lich vorhandenen Körnchen von sehr verschiedener chemischer Beschaffenheit. Bei Zellen in der Nähe von Harzgängen sind es kleine Harztröpfchen, bei ölführenden Pflanzentheilen irgend welche Oele. Ferner glaube ich, haben häufig sehr kleine Stärkebildner, die im Cytoplasma vorkommen, zur Täuschung Anlass gegeben. Bei Pflanzentheilen, die anfangs grün sind, wo aber die Chlorophyllkörper im Laufe der Entwicklung verschwinden, z. B. bei Hyacintheublüthen, findet man als Degenerationsproducte derselben ebenfalls körnige Bildungen vor, die dann natürlich aus Proteinstoffen bestehen. Für die Bedeutung all dieser körnigen Bildungen ist es wesentlich, dass sie nur temporär auftreten, und da sich ausserdem in verschiedenen Fällen nachweisen liess, dass sie aus Oel oder Stärke bestehen, so ist der Schluss wohl berechtigt, dass sie nur metaplasmatischer Natur sind. Da ich nicht die Absicht hatte, mich mit diesen metaplasmatischen Stoffen zu befassen, so habe ich die Microsomen keiner näheren Untersuchung unterworfen.

Auch ohne näheres Eingehen auf die chemische Beschaffenheit der Microsomen des Cytoplasmas lässt sich jedoch mit Sicherheit sagen, dass die Microsomen des Cytoplasmas etwas wesentlich anders sind, eine total verschiedene Bedeutung haben als die Microsomen des Kerns, mit welchem Namen die Chromatinkörnchen bezeichnet wurden.

Es bleibt somit für unsere Untersuchung übrig, die Eigenschaften der im Cytoplasma vorkommenden Proteinstoffe zu bestimmen. Es stellte sich dabei heraus, dass wir es nur mit einer bestimmten Art von Stoffen zu thun haben, welche mit dem Plastin von Reinke und Zacharias, soweit sich dies constatiren liess, übereinstimmen. Dies Cytoplastin kommt in allen Theilen des Cytoplasmas vor, gemengt mit einer grösseren oder geringeren Quantität von Flüssigkeit und löslichen Stoffen.

Vor allen Dingen ist es wesentlich, dass auch die Grenzschichten des Cytoplasmas aus Plastin bestehen, dessen Eigenschaft bei längerer Berührung mit Wasser unlösliche Verbindungen zu geben, bisher übersehen wurde. Eine chemisch differente Vacuolenwandung wie sie De Vries annimmt, ist ursprünglich nicht vorhanden, es kann jedoch, wenn der Zellsaft gewisse Substanzen enthält und andere Vorbedingungen zutreffen, zur Bildung einer Niederschlagsmembran um den Zellsaft kommen.

Das Plastin des Cytoplasmas unterscheidet sich in chemischer Beziehung nur in einigen Reactionen von dem Chloroplastin der Chlorophyllkörper (vgl. § 36); zum Unterschied von dem letzteren habe ich es als Cytoplastin bezeichnet.

Ein Unterschied zwischen der Grundsubstanz des Körnerplasmas und dem Hyaloplasma war in Bezug auf den Plastingehalt nicht zu constatiren. Es muss mir sehr zweifelhaft erscheinen, ob überhaupt ein Unterschied besteht und ob mit Recht im Cytoplasma ein Körnerplasma und Hyaloplasma zu unterscheiden ist.

Nehmen wir eine Mischung eines halbflüssigen Körpers von ähnlicher Beschaffenheit wie das Protoplasma, also vielleicht eine eingedickte Peptonlösung oder eine ziemlich consistente Lösung von Traube'schem  $\beta$ -Leim

oder ein flüssiges Harz und vermengen diese Substanzen mit sehr feinen unlöslichen Körnchen, so lässt sich unter dem Mikroskop an der Peripherie eines Tropfens immer eine körnchenfreie Schicht wahrnehmen, d. h. die Körnchen liegen immer eingebettet in der betreffenden zähen Flüssigkeit, ohne dass sie die Oberfläche erreichen. Haben wir eine Mischung genommen, welche von Wasser nicht benetzt wird, so können wir die besprochene Erscheinung auch an jeder Grenze des Tropfens beobachten, welche mit Wasser in Berührung steht. Wir können auch eine Emulsion herstellen und immer werden wir beobachten, dass die Körnchen die Oberfläche nicht erreichen. Kann die Mischung, welche wir gewählt, in Fäden ausgezogen werden, zeigt sich dieselbe Erscheinung, und nur wenn die Dicke der Fäden sich der Grösse der Körnchen nähert, wird es schwer, mit Sicherheit eine Grenzlamelle nachzuweisen. Dasselbe finden wir aber auch bei dünnen Protoplasmasträngen, bei welchen die Körnchen auch nur von einer nicht mehr wahrnehmbaren Cytoplasmasschicht bedeckt sind. Immerhin muss in beiden Fällen wohl ein continuirlicher Zusammenhang der Grundsubstanz bestehen, sonst wäre das Ausziehen in Fäden sehr beschränkt, da die Cohäsion zwischen Körnchen und Grundsubstanz in den meisten Fällen geringer sein wird, was wir aus der leichten Verschiebbarkeit der Körnchen im Plasma schliessen können.

Aus dem Gesagten geht hervor, dass in Mischungen in Folge von Oberflächenspannungen oder ähnlichen Kräften immer eine bestimmte Vertheilung kleiner ungelöster Körper angestrebt wird, welche sich darin kund gibt, dass die Oberflächen körnchenfrei bleiben. Wenn hiermit auch nicht gesagt ist, dass im lebenden Organismus noch besondere Combinationen von Kräften ausgeschlossen sind, welche diese Anordnung der Körnchen wesentlich modificiren, so gelangt man doch zu dem Schluss, dass eine derartige Unterscheidung des Cytoplasmas in körnchenfreie und körnchenhaltige Schichten nicht irgend welchen wesentlichen Organisationsverhältnissen des Cytoplasmas entspricht und somit für uns nur eine geringere Bedeutung hat.

Nach Abschluss meiner Arbeit erschienen die Studien über die Protoplasma-mechanik von G. Berthold, welche ich noch speciell erwähnen möchte, wenn ich dieselben auch nicht wesentlich benutzen konnte. Berthold kommt in Bezug auf die Struktur des Cytoplasmas zu einem ähnlichen Resultate, nur dass Berthold, meiner Ansicht nach, ein zu grosses Gewicht auf die Schichtung des Cytoplasmas legt. Berthold begründet seine Anschauungen betreffs der Struktur hauptsächlich durch die Art und Weise der Bewegungsvorgänge am lebenden Protoplasma; da dieselben Erscheinungen jedoch auch auftreten können, wenn ein hinreichend verschiebbares Gerüst im Cytoplasma vorhanden ist, scheint es mir nicht überflüssig zu sein, die Angaben Berthold's noch durch andere Beobachtungen zu stützen. Im Uebrigen möchte ich jedoch dies geistreich geschriebene Buch Jedem, der sich für diesen Gegenstand interessirt, auf das wärmste empfehlen.

## § 28. Fällungsercheinungen und künstliche Strukturen.

Ich habe in dem vorhergehenden Paragraphen darauf hingewiesen, dass die bisher als Strukturen des Cytoplasmas beschriebenen Bilder, abgesehen von den schon ursprünglich vorhandenen Plasmafäden, entweder Fällungsproducte sind oder durch die Fixirung von Protoplasma entstanden sind, welches theilweise in Vacuolenbildung übergegangen war. An dieser Stelle sollen nun zunächst jene Formen der Niederschlagsbildung besprochen werden, welche bei der Fällung mehr oder weniger flüssiger Körper entstehen, speciell von Substanzen ähnlicher Consistenz wie das Cytoplasma.

Die Strukturen, welche wir hier zu erklären haben, sind in ihrer Form sehr mannigfaltig, wovon wir uns leicht überzeugen können, wenn wir die Tafeln der Arbeiten von Flemming, Strasburger und Anderen durchsehen, doch lassen sich gewisse Typen festhalten.

Der einfachste Fall ist, dass das Cytoplasma in eine feinkörnige, punktirte Masse verwandelt wird. Die durch das Fixirungsmittel niedergeschlagenen Körnchen können sehr klein sein oder grösser, sich scharf abheben oder nur undeutliche Contouren besitzen, sie werden dabei immer eine zusammenhängende Masse bilden, welche bei stärkerer Vergrösserung häufig zwischen den einzelnen Niederschlagskörnchen eine homogene Zwischensubstanz erkennen lässt. Derartige feinkörnige Strukturen habe ich schon im Vorhergehenden (pag. 137) erwähnt.

Speciell wäre noch hervorzuheben, dass derartige feinkörnige Bildungen von einem homogenen Rand begrenzt sein können, ohne dass sich jedoch dieser homogene Saum immer scharf von der körnigen Masse abhebt.

Wir finden solche körnige Bildungen besonders häufig an jungen, plasmareichen Zellen, doch auch in älteren Zellen kommen sie vor, nur sind sie dort mehr grobkörnig.

Gleichartige Niederschläge entstehen besonders bei dünnflüssigeren Substanzen, oder bei unvollkommener Bildung einer Niederschlagsmembran.

Eine zweite Form der sogenannten Cytoplasmastrukturen ist die Ausbildung eines Gerüsts, welches aus unregelmässig gebogenen, zusammenhängenden, etwas kompakteren Fadenstücken besteht. Es handelt sich hier nicht um einen lückenlosen Verband, das ganze Plasma gleicht vielmehr einem Schwamm mit unregelmässig gestalteten Hohlräumen. Diese Hohlräume sind zumeist von Flüssigkeit ausgefüllt, können jedoch unter Umständen auch von einer weniger dichten Substanz erfüllt sein.

Derartige Gerüste finden wir namentlich an Zellen mit kompaktem Plasmakörper, in welchen der Zellsaft noch mehr zurücktritt. Wir erhalten sie andererseits durch Fällung dickflüssiger, zäher Substanzen.

An Zellen mit ausgebildetem Zellsaft, die jedoch noch einen dickeren protoplasmatischen Wandbelag besitzen, tritt fast immer nach der Fixirung ein dichteres Fibrillengerüst auf, bei welchem jedoch die einzelnen unregelmässig verbundenen kurzen Fadenstücke in einer homogen erscheinenden Grund-

masse liegen. Wir sehen einen derartig lückenlosen Verband auf Taf. V, Fig. 161 abgebildet. Das Protoplasma der Epidermiszellen eines Blumenblattes von *Hyacinthus orientalis* wurde durch angesäuerte Ferrocyankaliumlösung fixirt, wodurch aus dem ursprünglich homogen erscheinenden Cytoplasma ein kurz fibrilläres Gerüst entstand. Die einzelnen Fibrillenstücke erscheinen nicht körnig, sie sind dichter als die dazwischenliegende Masse und färben sich daher auch intensiver als diese.

Aehnlich sehen jene Strukturen aus, welche ich auf Taf. V, Fig. 160 abgebildet habe. Es sind Zellen aus einem nicht zu alten Internodium von *Pisum sativum* (Keimling) nach der Fixirung mit Chrom-Osmium-Essigsäuregemisch. Der Unterschied zwischen diesen Bildungen und dem Cytoplasma von *Hyacinthus* besteht darin, dass die einzelnen Fibrillen körnig sind und etwas weiter auseinander liegen.

Ferner sind hier jene Cytoplasmafällungen anzuschliessen, welche an einer gleichmässigen Grundmasse einzelne unregelmässig vertheilte Körnchen zeigen. Diese Körnchen können sich stellenweise zu fibrillenähnlichen Formen vereinigen und auf diese Weise Uebergänge zu den vorbergehenden Bildungen zeigen. Die Grundmasse kann entweder homogen erscheinen oder fein punktirt. Als Beispiel einer derartigen Struktur habe ich eine Zelle aus dem Parenchym eines ziemlich alten Internodiums von *Phaseolus multiflorus* abgebildet (Taf. V, Fig. 159). Die hier sichtbaren grösseren Körnchen sind kleine Stärkebildner, während die übrigen Körnchen durch Fällung entstanden sind.

Zwischen den einzelnen hier besprochenen Formen giebt es natürlich Uebergänge, wodurch die Mannigfaltigkeit der Formen wesentlich vermehrt wird.

Gleichartige Strukturen erhalten wir an dünnen Niederschlagshäuten, über deren Aussehen wir uns vorläufig orientiren können, wenn wir die Figuren 162—169 auf Taf. VI. in Betracht ziehen.

Ausserdem kann durch Fällungen noch ein grobmaschiges Netz entstehen, bei welchem jedoch die Stoffe aus dem Zellsaft betheiligt sind. Beobachtet man nur fixirte Objecte, so ist es nicht möglich, den Ursprung dieser mehr oder weniger weitmaschigen Netze zu erkennen, sie wurden daher auch vielfach als Strukturen des Cytoplasmas beschrieben.

Aehnliche weitmaschige Netze können aus dem Cytoplasma entstehen, wenn Cytoplasma, das in Folge langsameren Absterbens in Vacuolenbildung übergegangen ist, fixirt wird. Diese Formen werden jedoch erst im nächsten Paragraphen besprochen.

Wollen wir nachweisen, dass diese vermeintlichen Strukturen wirklich Fällungsproducte sind, so haben wir zunächst zu zeigen, wodurch das verschiedene Aussehen des Niederschlags bedingt ist, auf welche Weise solche künstliche Strukturen entstehen können.

Wir haben dreierlei Fällungserscheinungen zu berücksichtigen. Erstens eine Niederschlagsbildung aus homogener Substanz, wobei das Fällungs-

mittel den fällbaren Stoff vollständig durchdringt. Der Niederschlag entsteht bei der Pflanze aus dem Cytoplasma und der Fixirungsflüssigkeit.

Der zweite Fall ist, es wird an der Grenze zweier Stoffe eine Niederschlagsmembran gebildet, wie dies bei den sog. Traube'schen Zellen stattfindet. Die dazu nothwendigen Membranbildner sind wiederum die Proteinstoffe des Cytoplasmas und die Fixirungsflüssigkeiten.

Drittens haben wir es mit Ausfällungen aus dem Zellsaft zu thun, welche auf dem Cytoplasma niedergeschlagen werden.

Die allgemeinste Bedeutung hat die erste Form der Fällung, deshalb sei dieselbe auch zunächst behandelt. Gibt der in Lösung befindliche Körper bei seiner Ausfällung einen leicht krystallisirbaren Niederschlag, so werden die ausgefällten Theilchen kleine Kryställchen sein, sobald die Concentration der gelösten Substanz eine geringe war. Eine concentrirtere Lösung wird einen dichteren Niederschlag liefern, der unter Umständen auch grössere Krystalle aufweisen kann. War die Lösung mehr oder weniger vollständig gesättigt, so wird die ganze Masse meistens zu einem zusammenhängenden Körper erstarren, und nur seltener adhären die einzelnen Niederschlagstheilchen nicht aneinander. Bei nicht oder nur schlecht krystallisirbaren Körpern haben wir ähnliche Verhältnisse, nur dass die ausfallenden Theilchen nicht Krystalle, sondern kleine Körnchen oder Tröpfchen vorstellen.

Die Gestalt des Niederschlages hängt hier ebenfalls in erster Linie von der Concentration des Stoffes ab, ausserdem ist jedoch die Fähigkeit eine zusammenhängende Niederschlagshaut zu liefern, von der Beschaffenheit des niedergeschlagenen Körpers abhängig. Die grösste Cohäsion der Niederschlagstheilchen zeigen colloidale Körper, um solche handelt es sich aber bei der Fixirung des Cytoplasmas. Sehen wir ab von sehr verdünnten Lösungen, in welchen ein Niederschlag wegen der vorhandenen geringen Stoffmenge nur langsam entsteht, so würden diese Körper im leichtflüssigen Zustande einen feinkörnigen, jedoch zusammenhängenden Niederschlag geben. Der ganze Niederschlag bildet eine ziemlich durchsichtige, feinpunktirte Masse, die, besonders bei schwächerer Vergrösserung, ein durch und durch gleichartiges Aussehen hat. Bei sehr starker Vergrösserung sieht man jedoch, dass auch hier schon Differenzen in Bezug auf die Grösse der den Niederschlag bildenden Körnchen bestehen. Steigt nun die Concentration etwas, ohne dass jedoch der zu fällende Körper den Charakter einer Flüssigkeit verliert, so wird der Niederschlag etwas grobkörniger; es liegen etwas grössere Körnchen in einer mehr feinkörnigen Masse. Bei festerer Consistenz der den Niederschlag liefernden Substanzen treten die gröbereren Körnchen in grösserer Menge auf, sie vereinigen sich zu kurzen Fibrillenstückchen; diese Fibrillen können sich dann besonders bei zähflüssigen Substanzen zu einem Netzwerk vereinigen, das entweder Flüssigkeitslücken zwischen sich lässt, oder dessen Zwischenräume von einer feinkörnigen Masse erfüllt sind. Die hier gegebenen Thatsachen sind so ziemlich allen Niederschlägen aus colloidalen Stoffen gemeinsam. Um die Differenzen, welche bei verschieden-

artigen Stoffen zu beobachten sind, kennen zu lernen, müssen wir auf diese selbst eingehen.

Getrocknetes Hühnereiweiss, von Schuchardt in Görlitz bezogen, wurde pulverisirt, in Wasser gelöst und durch Filtriren von den beigemengten körnigen Verunreinigungen befreit. Die verdünnte Lösung gibt bei Zusatz von Alkohol absolutus, oder 1 procentiger Picrinsäure oder mit Flemming'scher Mischung einen sehr feinkörnigen Niederschlag. Ist das Eiweiss dickflüssiger, so entstehen Körnchen, die in einer Grundmasse liegen und sich zu gebogenen, in einander geschlungenen Stäbchen vereinigen. Die Körnchenatur tritt hier besser hervor, als bei anderen Niederschlägen, sie erscheinen besonders in der Picrinsäure etwas dunkler als die Grundmasse. Wir erhalten dieselben Bilder, ob wir nun einen Eiweisstropfen auf dem Objectträger untersuchen, oder ob wir die einzelnen Flocken eines im Reagenzglas gebildeten Niederschlages untersuchen. Die Körnchen und die Grundsubstanz speichern Farbstoffe, die ersteren sind jedoch etwas dichter und so erscheinen sie intensiver gefärbt als die übrige Masse, ohne dass hier natürlich eine chemische Differenz vorhanden wäre. Wir sehen daraus, dass man aus der etwas stärkeren Färbung gerüstähnlicher Theile nicht auf chemische Differenzen schliessen darf.

Hervorzuheben ist dabei noch, dass die Beschaffenheit des Fällungsmittels auf die Natur des Niederschlages keinen Einfluss hat, die Niederschläge sehen gleich aus, ob Alkohol, Flemming'sche Mischung oder Picrinsäure angewendet wurde. Diese drei Substanzen durchdringen sogleich den ganzen Eiweisstropfen. Der Einwand also, dass dieselben Strukturen entstehen, gleichgültig welches Fixierungsmittel man angewendet hat und dass deshalb die zu Tage tretenden Strukturen schon ursprünglich vorhanden sein müssten, ist demnach hinfällig. Das Aussehen des Niederschlages richtet sich nach der Consistenz des colloidalen Körpers, hier also des Eiweisses, in der Zelle des Cytoplastins, während die Concentration des Fixierungsmittels nur insofern in Betracht kommt, als die zur schnellen Fällung nothwendige Menge vorhanden sein muss.

Anders verhält es sich, wenn wir zu dem Eiweisstropfen Eisenchlorid hinzufügen. Das Eiweiss wird nicht vollständig gefällt, es entstehen an der Oberfläche des Eiweisses Häute, die homogen sind oder nur schwach körnige Struktur aufweisen. Hier handelt es sich also mehr um die Bildung einer Niederschlagsmembran, die ich weiter unten näher besprechen werde. Aehnliche Erscheinungen finden wir auch bei dem Cytoplasma.

Mit Peptonlösung erhält man wesentlich dieselben Bilder wie mit Eiweisslösung. Zur Bildung eines zusammenhängenden Niederschlages ist es nothwendig, dass die Peptonlösung anfängt schwerflüssig bis zäh zu werden. Man kann verschiedene Stadien nebeneinander erhalten, wenn man nicht zu concentrirte Peptonropfen auf dem Objectträger eintrocknen lässt. Es wird der Rand zuerst zähflüssig, während die Mitte noch leichtflüssiger bleibt. Bei Zusatz von Alkohol entsteht im Innern ein körniger Niederschlag, an

der Peripherie ein eng und weitmaschiges Fibrillennetz. Die Beschaffenheit des Fällungsmittels war auch hier gleichgültig, ich wendete Alkohol, verdünnte Picrinsäure und Jodlösung an.

Gewöhnlicher Tischlerleim gibt in verdünnter Lösung bei der Fällung mit Alkohol keinen feinkörnigen Niederschlag wie Eiweiss und Pepton, es entstehen vielmehr einzelne runde Tröpfchen — also eine Emulsion. Der Grund hiervon ist die Beschaffenheit des Leimes. Dagegen entsteht ein schönes Gerüst, gleich dem an kompakten Plasmakörpern, sobald die Leimlösung sehr concentrirt war. Sehr schön bildet sich diese Struktur, wenn man einen Tropfen von Leim, der in der Wärme zähflüssig ist und sogleich beim Erkalten fest wird, auf dem Objectträger mit Alkohol abs. oder noch besser mit wässrigem Alkohol benetzt.

Anders verhält sich der lösliche Leim (von Traube  $\beta$ -Leim genannt), der in Wasser sehr leicht aufquillt, bei der Fällung mit Gerbstoff. Kommt Gerbstoff und Leim in genügender Concentration mit einander in Berührung, so entsteht, wie bekannt, eine Niederschlagsmembran. Ist jedoch einer der Membranbildner nicht in genügender Concentration in der Lösung vorhanden, so entsteht nur ein Niederschlag.

Eine sehr verdünnte Lösung von  $\beta$ -Leim mit 0,5% Gerbstoff gefällt, ergibt ein weitmaschiges Fibrillennetz, wie es in Taf. VI, Fig. 163 abgebildet ist, wobei die Fibrillen meist deutlich körnig erscheinen, oder es entsteht ein feinkörniger mehr gleichmässig vertheilter Niederschlag. Auf die Bildung und Lagerung sind in diesem Falle Bewegungen in der Flüssigkeit, sowie die Art des Zutrittes der Gerbstofflösung nicht ganz ohne Einfluss. Es ist diese Niederschlagsbildung von besonderem Interesse, weil die hier entstehenden Netze jenen gleichen, welche man bei Ausfällungen aus dem Zellsaft erhält.

Wird die verdünnte Leimlösung durch eine 6procentige Gerbstofflösung gefällt, so entsteht ein dichter, zusammenhängender, fibrillärer Niederschlag, wie er auf Taf. VI, Fig. 162 abgebildet ist. Die Fibrillen liegen hier in einer Grundmasse ohne Struktur, sie sind wenig oder gar nicht körnig, die Maschen sind ausserordentlich eng, die Fibrillen unregelmässig gebogen und ineinander verschlungen. Die Bewegungen der Flüssigkeiten, sowie die Art des Zutrittes der Gerbstofflösung sind ohne Belang.

Fällt man eine concentrirtere Leimlösung durch eine ungenügende Menge von Gerbstoff (0,5% Gerbstoff), so entstehen Bilder wie Fig. 163, bei mehr Gerbstoff bilden sich feinkörnige Niederschlagshäute.

Gummi arabicum quillt beim Einlegen in Wasser, bevor er sich löst. In diesem gequollenen Zustand entstehen bei Zusatz von Alkohol Körnchen und Fibrillen, die in einer weniger dichten Grundmasse liegen. Ist Lösung eingetreten, so fällt ein feinpunktirter Niederschlag heraus, der um so feiner ist, je verdünnter die Lösung war, bei sehr verdünnten Gummilösungen ist der Niederschlag ganz durchsichtig.

Dieselben Differenzen beobachten wir an verdünnter und concentrirter

Gelatinelösung bei Fällung mit Alkohol. Merkwürdig ist jedoch, dass Gelatinegallerte, d. h. die nach dem Erkalten gestandene Substanz mit Alkohol keine Netzstruktur gibt, sondern nur Häute an der Oberfläche der Gelatine. Etwas Alkohol, doch nur sehr wenig, kann auch durch diese Niederschlagsmembranen dringen, was man aus dem Undurchsichtigwerden der Gallerte schliessen kann. Erwärmt man die Gelatinegallerte in Alkohol, so entstehen ebenfalls Fibrillengerüste. Wir erschen hieraus, dass eine Umlagerung der kleinsten Theilchen, wie man sie beim Gallertigwerden einer Gelatinelösung anzunehmen hat, die Niederschlagsform modificirt. Ähnliche Differenzen könnten möglicherweise in den verschiedenen Schichten des Cytoplasmas vorhanden sein, wodurch erklärt würde, dass die Grenzschichten bei der Fixirung ein anderes Bild geben können als die inneren Schichten, doch ist ein derartiger Einfluss schwer zu bestimmen.

Schliesslich sind hier noch jene Niederschläge zu erwähnen, welche wir aus alkoholischen Lösungen von Harzen bei Zusatz von Wasser erhalten. Verwendet wurden die alkoholischen Lösungen von Fichtenharz und Colophonium, von Sandarak (Harz von *Callitris quadrivalvis*), der lösliche Theil von Mastix (Harz von *Pistacia lentiscus*) und Gummi Kino (von *Pterocarpus marsupium*). Verdünnte Lösungen geben kleine Tröpfchen, die in der etwas concentrirteren Lösung grösser ausfallen. Ist die Lösung zähflüssig oder legt man ein Harzstückchen zuerst kurze Zeit in Alkohol und fügt dann Wasser hinzu, so bilden sich durch Zusammenballung der kleinen Tröpfchen zusammenhängende Fibrillennetze aus.

Ich glaube, diese Angaben genügen, um zu beweisen, dass bei zähflüssiger Consistenz des fällbaren Stoffes Fibrillen und Körnchen entstehen können, die entweder in einer strukturlosen bis feinpunktirten Grundsubstanz liegen (Eiweiss, Pepton, Gelatine) oder doch ein ähnliches Fibrillennetz geben mit weniger deutlich ausgeprägter Grundsubstanz (Harze).

Ist der zu fällende Stoff etwas flüssiger, so entstehen körnige Niederschläge mit ebenso verschieden ausgeprägten Niederschlagstheilchen, wie bei dem leichtflüssigeren Cytoplasma.

Die Form des Niederschlags gestattet demnach einen gewissen Rückschluss auf die Consistenz des Cytoplasma.

Eine Complication bei dieser künstlichen Strukturbildung entsteht, wenn wir ein Gemisch von Stoffen mit Fällungsmitteln behandeln, welche nur einen Theil der Stoffe fällen, andere jedoch lösen. Etwas derartiges beobachtet man beim Weihrauch (von *Boswellia papyrifera*). Derselbe besteht aus einem in Wasser quellbaren Gummi und aus einem ätherischen Oel. Bei Behandlung mit Alkohol lösen sich die Oeltröpfchen auf, der Gummi wird gefällt, es entsteht so ein Netz mit sehr verschieden grossen Löchern, die an Stelle des weggelösten Oeles auftreten. Auch im Cytoplasma finden sich Stoffe, welche in den angewendeten Fixirungsflüssigkeiten löslich sind, wodurch natürlich die Form des Niederschlages ebenfalls modificirt werden muss. Es gilt dies speciell von Pflanzenzellen, die Oel enthalten und mit

Alkohol fixirt werden. Wir erhalten in diesem Falle wesentlich von der ursprünglichen Anordnung der Cytoplasmatheile abweichende Bilder.

Die zweite Art, wie künstliche Strukturen entstehen können, ist durch die Bildung von Niederschlagsmembranen gegeben, deren Entstehung und Wachstum ich an den von Traube angegebenen Substanzen verfolgte. Ich untersuchte die Niederschläge von  $\beta$ -Leim und Gerbstoff, essigsauerm Blei und Gerbstoff, essigsauerm Kupfer und Ferrocyankalium, essigsauerm Kupfer und Gerbsäure, essigsauerm Kupfer und kieselsauerm Kali, und Ferrocyankalium und Eisenchlorid.

Diese Niederschlagsmembranbildung ist für unsere Zwecke besonders deshalb von Wichtigkeit, weil es uns auf diese Weise möglich ist, sehr dünne Niederschlagsschichten zu beobachten, denn auch bei Zellen mit dünnerem Wandbelag handelt es sich bei der Fixirung um die Fällung sehr dünner Cytoplasmasschichten.

Ausserdem werden auch an Pflanzenzellen ähnliche Niederschlagsmembranen gebildet, was wir daraus ersehen, dass z. B. bei der Fällung mit Flemming'scher Mischung der Farbstoff des Zellsaftes lange Zeit nicht in die Umgebung diffundirt, obwohl die Zelle getödtet ist. Bei Anwendung von verdünnter Osmiumsäure oder von Salzsäure bildeten sich Niederschlagsmembranen, welche Plasmolyse todter Zellen in 20proc. Zuckerlösung zulassen, und auch beim Hinzufügen von Wasser konnten sich diese fixirten Gebilde wieder ausdehnen. Gesättigte Lösung von schwefelsaurer Magnesia fixirt das Protoplasma (oft ohne Plasmolyse), der Farbstoff des Zellsaftes diffundirt jedoch nicht heraus.

Es ist hier nicht meine Aufgabe die Bedingungen zu eruiren, unter welchen sich eine Niederschlagsmembran bildet, es kommt mir nur darauf an zu zeigen, welches Aussehen uns die verschiedenen Membranen unter dem Mikroskop bieten.

Sind die Lösungen beider Membranbildner oder auch nur von dem einen Membranbildner zu verdünnt, so entstehen körnige Niederschläge, die sich zu körnigen, lose zusammenhängenden Membranen vereinigen. Da solche Niederschläge für die Membranbildner leicht durchlässig sind, erstarrt ein Tropfen, den man in ein mit dem anderen Stoffe gefülltes Schälchen fallen lässt, binnen kurzer Zeit, indem sich an der Innenseite des gebildeten Niederschlags solange neue Niederschlagskörnchen abscheiden, bis der eine Stoff verbraucht ist.

Erst bei höherer Concentration beider Membranbildner entstehen Häute, welche die beiden Flüssigkeiten vollkommener von einander trennen und so das Wachstum sogenannter künstlicher Zellen ermöglichen. Diese Niederschlagsmembranen sind bei ihrer Bildung immer homogen durchsichtig, sie zeigen grössere Cohäsion, sind auch elastisch dehnbar, was bei den vorigen Gebilden nicht zutrifft. Zwischen beiden Membranformen giebt es natürlich Uebergänge, die entstehen, wenn der eine Membranbildner die genügende Concentration nur annähernd erreicht.

Das Dickenwachsthum der Membranen geht nun in verschiedener Weise vor sich. Es bilden sich Strukturen aus, welche ganz ähnlich dem Cytoplasma aus Körnchen und Fibrillen bestehen, die in einer Grundmasse liegen (z. B. 8% essigsäures Kupfer in 10% Ferrocyankalium), oder die Membran verdickt sich homogen (20% Gerbstoff in 15% essigsäurem Blei) oder nur die zuerst gebildete äusserste Membranschicht ist homogen, während die inneren Schichten körniges Gefüge aufweisen (2% Gerbstoff in 8% essigsäurem Kupfer). Das Dickenwachsthum der Membran unterbleibt nur dann, wenn der Niederschlag in höherem Grade von dem äusseren Membranbildner gelöst wird (15% essigsäures Blei in 20% Gerbstoff).

Es ist überflüssig, alle die zahlreichen Versuche hier anzuführen, welche ich, die verschiedensten Concentrationen der Lösungen combinirend, angestellt habe, es seien hier nur einige Beispiele angeführt. Bei meinen Versuchen liess ich die Blasen, d. h. die künstlichen Zellen entstehen, indem ich den äusseren Membranbildner auf den Objectträger auftrug, von dem inneren Membranbildner einen kleineren Tropfen vor dem Auflegen auf das Deckglas setzte. Damit die Blase ungestört wachsen konnte, ruhte das Deckglas auf 2 Korklamellen. Zur Controlle wurden, wenn es nothwendig war, auch die Versuche in der Weise angestellt, dass ich die eine Flüssigkeit durch ein sehr enges Glasrohr in die andere sich in einem Schälchen befindliche Flüssigkeit laufen liess. Bei allen Versuchen wurden beide Lösungen als Innen- resp. als Aussenflüssigkeit verwendet. Zur Beobachtung sind wegen der Feinheit der Strukturen sehr starke Objective zu verwenden.

Betrachten wir zunächst die Niederschlagsmembranen zwischen essigsäurem Kupfer (0,5, 1,6, 8%) und Ferrocyankalium (0,4, 2, 10, 20%).

Combinationsen, die 0,5 essigsäures Kupfer oder 0,4% Ferrocyankalium enthalten, geben keine vollständigen Blasen. Die entstehenden Häute sind von Anfang an feinkörnig, nur stellenweise homogen oder sehr fein punktiert. Die letzteren werden jedoch auch bald körnig. 1,6% essigsäures Kupfer gibt mit 2% und 10% Ferrocyankalium anfangs homogene Membranen, die jedoch bald körnig werden, besonders wenn die Menge und Concentration des Ferrocyankaliums überwiegt. Bei 20% Ferrocyankali wird, da dasselbe den Niederschlag zugleich löst, überhaupt keine homogene, coherente Membran gebildet.

Eine Lösung von 8% essigsäurem Kupfer liefert, mit allen Concentrationen des anderen Membranbildners (0,4% und weniger ausgenommen) homogene Membranen, die starkes Dickenwachsthum zeigen.

Als Beispiel für die Ausbildung einer Niederschlagsmembran, welche eine dem Cytoplasma ähnliche Struktur erst allmählig erhält, will ich die Bildung sog. künstlicher Zellen näher besprechen, die beim Einbringen einer 8procentigen Lösung von essigsäurem Kupfer in 10procentige Ferrocyankaliumlösung zu beobachten ist.

Es wird hier zunächst eine gut haltbare, vollständig homogene durchsichtige Membran gebildet, deren rothe Farbe jedoch erst nach der Verdickung

deutlich hervortritt. An der Aussenseite der Blase werden Körnchen ausgeschieden, welche entweder der Membran anhaften (vgl. Taf. VI, Fig. 164) oder sich von der Membran loslösend in die umgebende Flüssigkeit (Ferrocyankalium) hineinragen (Taf. VI, Fig. 166). Diese zuerst ausgeschiedenen Körnchen, die auch Krystallform annehmen können, bilden in den späteren Stadien die etwas dunkler gefärbten, rundlichen Körper, wie wir sie in den Figuren 167 und 168 wahrnehmen. Unabhängig von diesen Ausscheidungen wird nun die Membran selbst verändert. Zuerst treten nur ganz kleine, undeutlich contourirte Körnchen in derselben auf, die gleichmässig über die ganze Membran vertheilt sind. Diese Körnchen nehmen nach und nach an Deutlichkeit zu, wachsen etwas und durch Zwischen-schiebung neuer Körnchen werden sie zu kleinen Stäbchen oder Fibrillen-ähnlichen Gebilden vereinigt. Bald sehen wir nur gewundene und gebogene Körnchenreihen ausgeschieden (Fig. 166), bald sehen wir keine Körnchen, sondern nur Stäbchen (Fig. 165). Diese Stäbchen und Körnchenfibrillen verleihen der Membran ganz das Aussehen einer fixirten Cytoplasmaschicht. Speciell gleicht Fig. 166, welche die Ansicht des Randes einer Blase wiedergibt, dem auf Taf. V, Fig. 160 wiedergegebenen Bilde von *Pisum sativum* und ebenso ist Fig. 165 dem gefällten Cytoplasma der Hyacinthenblüthenzelle Taf. V, Fig. 161 ähnlich. Ein geringer Unterschied besteht vielleicht nur darin, dass bei dem fixirten Cytoplasma die Fibrillen und Körnchen etwas unregelmässiger sind und die Stäbchen (Fig. 165) mehr zur Krystallform hinneigen. In der That werden im weiteren Verlaufe des Dickenwachsthums der Membran diese Stäbchen vergrössert und man erkennt deutlich ihre krystallinische Natur. Es wachsen diese Krystalle aber nicht für sich allein, sondern die ganze Membran wächst in die Dicke. Die Kryställchen ragen also gar nicht oder nur ganz wenig über die Grundsubstanz hervor, beide wachsen gleichmässig. In der Fig. 167, Taf. VI, sehen wir die Kryställchen ziemlich scharf von der übrigen Membran abgehoben. Wenn sie sich nun noch weiter vergrössern, so stossen sie theilweise mit ihren Kanten aneinander, die übrige Membran ist auch dicker geworden, es scheint weniger Licht hindurch und die Folge davon ist, dass wir ihre Contouren in den letzten Stadien nicht mehr oder nur sehr undeutlich sehen (Fig. 168). Am besten kann man das Dickenwachsthum der Membran beurtheilen an den Falten der Niederschlagsmembran (Fig. 168), wie sich solche immer an den, auf dem Objectträger entstehenden Blasen bilden. Die Membran wächst an ihrer Aussenseite in die Dicke, daher werden wir den bedeutenden Dickenzuwachs zu beiden Seiten der Falte gut wahrnehmen können. Allerdings ist es nothwendig, die Membran 12 bis 16 Stunden wachsen zu lassen, bis wir zu einem Endstadium wie Fig. 168 gelangen.

Wir sehen demnach, dass dünnere Niederschlagsschichten ein anderes Aussehen darbieten, als dickere Schichten. Im einen Falle sind dieselben homogen mit einzelnen eingelagerten Körnchen (wie Fig. 159, Taf. V)

im anderen Falle, d. h. bei dickeren Niederschlagsschichten erhalten dieselben ein fibrilläres, gertstförmiges Aussehen (wie Fig. 160 und 161, Taf. V).

Ist der eine Membranbildner ein Colloid, so werden selbstverständlich schliesslich keine Krystalle entstehen. Der Niederschlag bleibt körnig fibrillär.

Bei Anwendung weniger concentrirter Lösungen entsteht unter dem Mikroskop keine so dicke Membran, da die Membranbildner vorher aufgebraucht werden. Es kommt wohl zum Körnigwerden, auch Stäbchen werden ausgeschieden, doch die eigentliche Krystallbildung unterbleibt. Die Membran bleibt auch bei längerem Liegen durchsichtiger und dünner.

Die hier beschriebenen Membranstrukturen verdanken selbstverständlich ihre Entstehung nicht Auflösungsprocessen, obgleich 10% Ferrocyankalium das ausgeschiedene Ferrocyankupfer etwas löst, wir ersehen dies schon aus dem Umstande, dass unsere Membran viel dicker wird. Ebenso haben wir diese Strukturen von jenen bei unvollkommener Blasenbildung zu unterscheiden. Im letzteren Falle haben wir es mit einem dichten Niederschlag zu thun, der gleich von Anfang an körnig punktirt ist, während die Membran bei der Bildung einer sog. künstlichen Zelle zuerst homogen ist und erst nach einiger Zeit eine bestimmte Struktur erhält. Diese Strukturbildung in der Niederschlagsmembran ist als ein spezifischer Wachstumsprocess aufzufassen.

Die homogene Verdickung der Niederschlagsmembran tritt bei vollständiger Blasenbildung relativ am häufigsten ein u. z. besonders dann, wenn der innere Membranbildner den entstandenen Niederschlag ziemlich stark auflöst. Sind z. B. essigsäures Blei und Gerbstoff die Membranogene, so löst der Gerbstoff in höherer Concentration das entstandene gerbsäure Blei auf. Bringen wir daher einen Tropfen Gerbsäure von 20% in eine Lösung, welche 15 oder 7½% essigsäures Blei enthält, so bildet sich sofort eine klare homogene Membran. Da die Lösung von essigs. Blei osmotisch stärker wirksam ist, dehnt sich die Blase nicht aus, die Membran ist nicht prall gespannt, sondern faltig. Bei längerem Verweilen der Zelle in der Bleilösung entsteht kein Niederschlag weder im Innern der Blase noch ausserhalb derselben, aber die Membran verdickt sich ganz bedeutend. Sie wird allmählich fest, spröde, steif und starr. Nach 16 Stunden kann man die am Glasrohr entstandene Zelle aus der Flüssigkeit herausnehmen, das Glasrohr horizontal stellen, ohne dass die Zelle sich nach abwärts neigt. Zerbricht man die Blase in essigsäurem Blei, so bildet sich aus deren Inhalt kein Niederschlag oder nur ein ganz unbedeutender. Es beweist dies, dass die ganze Gerbsäuremenge zur Membranbildung verbraucht wurde.

Bringen wir umgekehrt einen Tropfen essigsäures Blei von 15% in eine Gerbsäurelösung von 20%, so bildet sich eine vollkommene Blase mit homogener, dehnbarer Membran. Nach längerem Verweilen wird diese Membran jedoch körnig. Zu gleicher Zeit sah man in der Gerbsäurelösung eine dichtere Flüssigkeit (die Lösung des gerbsäuren Bleis) von der Blase nach

abwärts fließen. Diese Art von Körnigwerden der Membran beruht auf einem Lösungsprocess, indem schliesslich durch wiederholte Membranbildung und Lösung die Menge des Bleis derartig abnimmt, dass keine homogene Membran mehr entstehen kann. Schon bei 3% essigsäurem Blei entsteht in 20% Gerbsäure nur mehr eine leicht zerreissliche und punktirte Membran, bei 1% unterbleibt die eigentliche Membranbildung, es entsteht in der Form des Tropfens ein körniger Niederschlag.

Die Niederschlagsmembranbildung zwischen 8procentiger Lösung von essigsäurem Kupfer und concentrirter Wasserglaslösung schliesst sich dem Vorherigen nahe an. Auch hier wird eine Blase mit homogener Membran gebildet, die sich stark verdickt. Anfangs enthält die Blase noch Kupferlösung in ihrem Innern, nach 20 Minuten trübt sich der Blaseninhalt, indem innerhalb der festeren homogenen Membran ein Niederschlag entsteht. Man hat sich dies dadurch zu erklären, dass ebenso wie bei der Membranverdickung Wasserglas durch die Niederschlagsmembran dringt, dort aber nach dem Ausfällen eines Theils des essigsäuren Kupfers nur noch mit einer wenig concentrirten Kupferlösung zusammenkommt, die einen einfachen Niederschlag bildet. Wesentlich ist hierbei, dass wir auf diese Weise einen Niederschlag erhalten, der aussen homogen, innen körnig ist; durch längeres Verweilen in der Wasserglaslösung wird die homogene Membran an ihrer Aussenseite etwas fein punktirt.

Ein ähnliches Resultat erhält man bei der Membranbildung von 2% Gerbstofflösung in 8% essigsäurem Kupfer. Die im ersten Moment entstehende Membran ist homogen durchsichtig, beim Dickenwachsthum derselben werden die innern Schichten jedoch körnig. Der Unterschied besteht darin, dass die homogene Schicht hier sehr dünn ist, während sie bei der vorigen Combination wesentlich dicker wird. Es entsteht hier also auch eine hyaline und eine Körnenschicht wie beim Cytoplasma.

Ich lege auf derartige Bildungen besonderen Werth, da sie zeigen, dass auch bei Niederschlägen wie sie zwei Flüssigkeiten ergeben, Körper entstehen können, deren Schichten verschiedene Strukturen aufweisen, was bei der einfachen Fällung ohne Niederschlagsmembranbildung nicht eintritt.

Die körnigen Membranen, die bei nicht vollständig genügender Concentration der Membranbildner entstehen, sind entweder nur aus Körnchen gebildet oder es werden in einer Grundmasse liegende Körnchen ausgeschieden. Die letzteren können sich zu Stäbchen und Fibrillen vereinigen, so dass wir ähnliche Bilder erhalten wie bei der Niederschlagsbildung von Ferrocyankalium und essigsäurem Kupfer, nur dass die Körnchen niemals krystallinisch werden. Auf Taf. VI, Fig. 169 sehen wir eine derartige Membran, die durch die Berührung von 2% essigsäurem Kupfer und 12% Gerbsäure entstanden ist. Dagegen gibt 2% essigsäures Kupfer und 2% Gerbsäure nur einen körnigen Niederschlag.

Es bleibt nun noch übrig die künstlichen Strukturen zu besprechen, die durch Ausfällungen aus dem Zellsaft entstehen.

Der Zellsaft vieler Pflanzen enthält unter anderen Stoffen auch gummiartige Körper, die in vielen Fällen vielleicht auch mit eiweissähnlichen Stoffen vermenget sind. Man kann dieselben durch sehr mannigfaltige Mittel zur Ausfällung bringen, doch wird es schwer sein, bevor man die im Zellsaft vorhandenen Stoffe kennt, allgemein gültige Fällungsmethoden anzugeben, wie denn überhaupt inhaltsarme Zellen auch im Zellsaft nur wenig Stoffe enthalten werden. Ziemlich allgemein finden Ausfällungen statt durch Alkohol und Flemming'sche Mischung, woraus man jedoch noch nicht auf Protein-substanzen schliessen darf, indem z. B. in sehr vielen Fällen weder durch Sublimat, noch durch Picrinsäure oder Salpetersäure oder salpetersaures Silber ein Niederschlag entsteht, was doch sonst eintreten müsste.

Ferner entstehen Niederschläge durch wasserentziehende Substanzen, aber auch nicht durch alle gleich gut; gesättigte Lösung von schwefelsaurer Magnesia fällt vollständig, während Glycerin oder hochconcentrirte Zuckerlösung weit weniger wirksam sind. Durch den electricischen Strom entstehen sehr leicht Niederschläge. Ausserdem sind hierher wohl auch jene Ausfällungen zu rechnen, welche durch Eintritt von Anilinfarben in den Zellsaft oder durch Ammoniaksalze<sup>1)</sup> hervorgerufen werden. Bei genügend concentrirtem Zellsaft entstehen auch schon Ausfällungen, wenn man die Zellen in mit Chloroform geschütteltes Wasser einlegt, bei jungen Epidermiszellen von Braunkohlenblättern konnte ich dies sogar schon beim Einlegen in destillirtes Wasser beobachten, in welchem Falle man wohl an irgend eine Reizwirkung zu denken hat.

Charakteristisch für solche Ausfällungen ist, dass sie je nach der Methode der Niederschlagsbildung und auch nach der Geschwindigkeit der Einwirkung eines Reagenz wesentlich andere Formen annehmen. Hierdurch ist die an und für sich sehr unwahrscheinliche Annahme bestimmt ausgeschlossen, dass der Zellsaft eine eigenthümliche Struktur, ähnlich den protoplasmatischen Substanzen, besitze, was noch Flemming für möglich hielt.

Bei unmittelbarer und schneller Einwirkung einer fällenden Substanz, also wenn man dünne Schnitte direkt in absoluten Alkohol oder in Flemming'sche Mischung einlegt, entsteht ein Niederschlag, der aus feinen Körnchen oder kleinen Tröpfchen besteht und welcher den ganzen Zellsaft gleichmässig ausfüllt. Es wird bei einem Bilde, wie es sich z. B. beim Einlegen von Epidermisstücken einer Hyacinthenblüthe, Taf. VII, Fig. 180, in absoluten Alkohol ergibt, Niemand im Zweifel sein, dass es sich um einen einfachen Niederschlag im Zellsaft handelt. Die Körnchen können bei genügender Kleinheit Brown'sche Bewegung zeigen. Dass die Fixirung durch den absoluten Alkohol hier sehr schnell erfolgt, sieht man schon daraus, dass der Plasmasack nicht contrahirt wird, während er sich bei langsamen Tode ziemlich stark zusammenzieht.

1) Vgl. W. Pfeffer, Ueber Aufnahme von Anilinfarben in lebende Zellen. Untersuchungen aus dem botanischen Institut zu Tübingen. Bd. II, 1886.

Bei langsamer Fällung scheiden sich im Zellsaft grössere Tropfen aus, die jedoch in ihrer Grösse wesentlich differiren, oder es werden kleinere Tropfen an der Innenseite des Cytoplasmaschlauches niedergeschlagen, die sich dann zu Fibrillen und mehr oder weniger weitmaschigen Netzen vereinigen können.

Die erstere Form kommt bei weitem am häufigsten vor, weil auch weniger inhaltsreiche Zellen bei vollständiger Ausfällung derartige Bilder liefern können, während netzförmige Niederschläge nur bei sehr inhaltsreichen Zellen zu finden sind. Am besten kann man das Gesagte an Zellen mit gefärbtem Zellsaft beobachten, indem die niedergeschlagenen Kugeln und Tröpfchen den Farbstoff sehr energisch anziehen. Ich nehme daher auf solche Zellen hier besonders Rücksicht.

Einige Beispiele werden die mannigfaltigen Erscheinungen am besten erläutern.

Dünnere Oberflächenschnitte von blauen Hyacinthenblüthen wurden in eine gesättigte Lösung von schwefelsaurer Magnesia gelegt. In unverletzten Zellen entstehen (Taf. VIII, Fig. 183) dichtere zusammenhängende, wenig scharf contourirte Massen, die durch Absorption des Farbstoffes dunkler erscheinen (Zelle a). Sie absorbiren nach und nach allen Farbstoff, so dass der Zellsaft farblos wird, zugleich zerfallen sie in kleinere Kugeln, die sich scharf gegen den übrigen Zellsaft abheben (Zelle b und c). In dieser Form wird Niemand die Niederschlagsnatur dieser Körper leugnen, eine Verwechslung mit Plasmastrukturen wird jedoch möglich, sobald in den ausgefällten Klumpen Vacuolen auftreten, die bei ihrer Vergrösserung die ungelöste Substanz zu Fäden und Fibrillen, zu einem Netze zusammendrängen. Es geschieht diese Sonderung bei längerem Liegen in einer nicht vollständig gesättigten Lösung. War der Zellsaft sehr inhaltsreich, so wird auch jetzt noch der vacuolige Niederschlag den ganzen Saft Raum einnehmen, sich eng an das Cytoplasma anschliessen. Eine derartige Bildung habe ich auf Taf. VIII, Fig. 184 gezeichnet. Die Zellen der Hyacinthenblüthe hatten zuerst 24 Stunden in 10% schwefelsaurer Magnesia gelegen, das Protoplasma war verquollen, konnte also bei der Strukturbildung keinen Antheil haben; fügte man dann gesättigte Lösung von schwefelsaurer Magnesia hinzu, so entstand dieser in Fig. 184 abgebildete Niederschlag in Form des Zellsaftes.

Aehnlicher den von Frommann beschriebenen Netzstrukturen bildet sich der Niederschlag aus, wenn die ausgefällten Körper nicht den ganzen Zellsaft Raum einnehmen; wir erhalten dann an dem Cytoplasma anliegend ein Netz, wie es uns Taf. VII, Fig. 182 aufweist. Zellen aus dem Blattstiel von *Rumex hamatus* wurden in 0,5procentige Kalilauge gelegt, es erfolgte im Zellsaft sehr bald Ausscheidung von dichten, anfangs homogenen Kugeln. Nach einiger Zeit traten Vacuolen in diesem Niederschlag auf, die den Niederschlag in ein Netz verwandelten. Bei der innigen Verbindung mit dem Cytoplasmasack ist in diesem Stadium nicht mehr zu unterscheiden, ob dieses Netz zum Cytoplasma oder zum Zellsaft gehört. Nach längerem

Verweilen können derartige Ausfällungen erstarren, und so zur Annahme einer Struktur Veranlassung geben.

Interessant ist dieses locale Auftreten des Netzes aus dem Grunde, weil Frommann angibt, diese Netze fänden sich nicht an der ganzen Fläche des Cytoplasmas, sondern nur stellenweise. Diese localen Netzstrukturen sind aber nichts anderes, als die an bestimmten Stellen ausgeschiedenen Niederschläge, die später vacuolig wurden.

Das auf künstlichem Wege entstandene Netz kann jedoch auch über grössere Flächen ausgebreitet sein. So sehen wir z. B. an Epidermiszellen der Blumenblätter einer Tulpe (Taf. VII, Fig. 181), wo die Ausfällung durch den electrischen Strom bewerkstelligt wurde, an dem grössten Theile des Cytoplasmas ein Netz, das allmählig übergeht in einzelne Ringe, die dadurch entstanden sind, dass in Niederschlagskugeln Vacuolen aufgetreten sind, welche die ungelöste Substanz an die Peripherie gedrängt haben. Stossen solche Ringe in grösserer Anzahl aufeinander, so bildet sich das Netz. Da die ausgefällte unlösliche Substanz längere Zeit halbflüssige Consistenz behält und erst später gerinnt, ist ein derartiges Verschmelzen der einzelnen Ringe leicht möglich.

Ausser diesen allmählig entstehenden, mit Vacuolenbildung verbundenen Netzwerken können auch, wie ich schon oben angedeutet habe, durch bestimmte Aneinanderreihung der Niederschlagstheilchen sogleich Fibrillennetze entstehen.

Als Beispiel hierfür möchte ich die Ausfällungen in den Epidermiszellen der Blattunterseite junger Laubblätter von *Cypripedium venustum* anführen. Bringt man unverletzte Zellen in mit Chloroform geschütteltes Wasser, so entsteht im Zellsaft und wohl auch im Cytoplasma ein Niederschlag von grösseren oder kleineren Tropfen, welche den Farbstoff des Zellsaftes stark anziehen. In Fig. 185, Taf. VIII, sehen wir eine derartige Zelle, wo sich stellenweise grössere Tropfen angesammelt haben und zugleich auch kleinere Tröpfchen auf dem Cytoplasma niedergeschlagen wurden, die sich zu Fibrillen vereinigten. Man kann an den letzteren jedoch nicht immer diese Zusammensetzung aus Tröpfchen erkennen, häufig erscheinen die Fibrillen einfach fadenförmig. Es sind übrigens nicht immer beiderlei Niederschlagsformen an ein und derselben Zelle zugleich zu beobachten, ich habe hier nur eine solche Zelle abgebildet, um die Gleichartigkeit des kugeligen und fibrillären Niederschlags zu demonstrieren.

Man kann nicht immer die Zusammensetzung des netzförmigen Niederschlags aus Körnchen verfolgen, sogar häufiger wird sogleich ein aus Fäden zusammengesetztes Netz ausgeschieden. Ich erwähnte schon oben, dass bei schnell verlaufender Ausfällung kleine Körnchen ohne Zusammenhang entstehen, so auch bei der Hyacinthenepidermis nach Einlegen in absoluten Alkohol. Wenden wir jedoch verdünnten Alkohol an, so entstehen nicht einzelne Körnchen, wie in Fig. 180, Taf. VII, sondern weit- und engmaschige Netzwerke, wie in Fig. 179, die zumeist nicht gleichmässig über das ganze

Cytoplasma vertheilt sind. Da das Cytoplastin in dem zur Hälfte mit Wasser verdünnten Alkohol langsamer coagulirt, schrumpft der Plasmasack hier ziemlich beträchtlich, während es im absoluten Alkohol annähernd in der ursprünglichen Lage fixirt wird. Analoge Bilder müssen wir auch im Alkohol absolutus erhalten, wenn derselbe nur langsam in die Zelle eindringt, also gewissermaassen erst verdünnt zur Wirkung gelangt.

Einen Fall analoger, netzförmiger Gerinnung hat übrigens schon Flemming<sup>1)</sup> abgebildet, wo an *Spirogyra* durch Zusatz von Osmiumsäure ebenfalls Netze entstanden waren.

Complicirter werden diese künstlichen Strukturen noch dadurch, dass im Cytoplasma durch die Einwirkung der fällenden Substanz, welche zugleich das Cytoplasma fixirt, andere Strukturen auftreten. Hierher gehören wohl jene Fälle, bei denen angegeben ist, dass die Maschen des Netzwerkes noch von feineren Fibrillengerüsten erfüllt sind.

Aus dem in diesem § Gesagten geht wohl zur Genüge hervor, wie mannigfaltig die Veränderungen sind, welche durch die sogenannten fixirenden Flüssigkeiten hervorgerufen werden. Wir haben gezeigt, wie die bei der Fällung entstehenden Strukturen vollständig den am Cytoplasma auftretenden Strukturen gleichen. Es ist uns gelungen, alle jene am Anfang dieses § angeführten Gerüst-, Fibrillen- und Netzformen des Cytoplasmas aus nicht organisirten Flüssigkeiten und Substanzen zu erzeugen, wodurch zu gleicher Zeit bewiesen wurde, dass man nicht berechtigt ist, aus den an fixirten Zellen auftretenden Bildern auf eine bestimmte Struktur zu schliessen. Einen anderen Beweis für die Existenz von Gerüsten etc. im Cytoplasma besitzt man jedoch nicht und auch die sonstigen Bewegungserscheinungen und Formveränderungen desselben weisen darauf hin, dass kein festes Gerüst besteht.

### § 29. Vacuolenbildung und Entmischung.

Ich habe schon bei der Quellung der Chlorophyllkörper in Wasser die Ansicht ausgesprochen, die Vacuolenbildung sei ein Beweis dafür, dass die Chlorophyllkörper aus einer zwar quellbaren aber unlöslichen und einer löslichen Substanz zusammengesetzt seien. Allgemeiner ausgedrückt würde der Satz lauten: Vacuolenbildung tritt nur dann ein, wenn lösliche Substanz mit einer unlöslichen von besonderen Eigenschaften vereint vorkommt. Es fragt sich nun, ist es richtig, aus dem Eintritt der Vacuolenbildung auf eine bestimmte Zusammensetzung zu schliessen, oder können Vacuolen auch ohne eine derartige Mischung entstehen?

Es wäre denkbar, dass ein begrenzt quellbarer Körper mehr Flüssigkeit von aussen aufnehmen könnte, als er in seinen Molecular- resp. Micellarinterstitien festzuhalten vermag. Diese Flüssigkeit würde sodann an den

<sup>1)</sup> Zellsubstanz, Kern etc. p. 51, Fig. A.

Stellen der geringsten Cohäsion in Tropfenform ausgeschieden werden müssen, ohne dass irgend welche lösliche Stoffe dazu notwendig wären.

Die Darstellung der Vacuolenbildung in Pfeffers Physiologie (Bd. I. p. 35), die sich mit Hofmeisters<sup>1)</sup> Auffassung deckt, scheint mir eine derartige Möglichkeit nicht auszuschliessen; das Vorhandensein löslicher Stoffe wäre dann nur zur Ausdehnung, nicht aber zur Bildung der Vacuolen notwendig.

Pfeffer sagt: „Die Bildung von Vacuolen, welche vielfach an Protoplastkörpern stattfindet, wenn sie aus verletzten Zellen in Wasser übertreten (z. B. bei *Vaucheria*, *Nitella*, Wurzelhaaren von *Hydrocharis*), ist übrigens selbst ein Beispiel begrenzter Imbibitionsfähigkeit des Protoplasmas, denn die Vacuolen entstehen, indem wässrige Flüssigkeit innerhalb des Protoplasmas sich absondert, und solches ist nur möglich, weil das Protoplasma sich nicht wie ein löslicher Körper mit beliebig viel Wasser mengt. Sind in der ausgeschiedenen Vacuolenflüssigkeit Stoffe gelöst, so bringt deren osmotische Wirkung einen hydrostatischen Druck zu wege, welcher, wenn genügend, eine Ausdehnung der umhüllenden Plasmanschicht und eventuell deren Zerreißung und Desorganisation herbeiführt.“

Dass zur Vacuolenbildung nur begrenzt quellungsfähige Körper geeignet sind, so wie dass die Ausdehnung der Vacuolen durch osmotisch wirkende Stoffe geschieht, gebe ich ohne Weiteres zu, ich meine nur, dass Vacuolenbildung an das Vorhandensein der löslichen Stoffe gebunden sei.

Die Vacuolenbildung ist nach meiner Ansicht ein Entmischungsvorgang, bei welchem sich vorher homogen gemengte Substanzen derartig scheiden, dass die löslicheren sich in Tropfenform in dem unlöslichen ansammeln. In derselben Weise hat sich jüngst Berthold<sup>2)</sup> geäußert.

Zur Erklärung und Begründung dieser Auffassung verweise ich auf zwei Thatsachen. Erstens sind keine begrenzt quellbaren Körper bekannt, welche Vacuolen bilden, ohne dass sie lösliche Stoffe enthielten, zweitens kann man an Gemischen von löslichen und begrenzt quellbaren Substanzen bestimmter Qualität leicht Vacuolenbildung beobachten.

Würden begrenzt quellbare Körper ohne Mitwirkung löslicher Substanzen Vacuolenbildung zeigen können, so ist nicht einzusehen, warum die Vacuolenbildung überhaupt eine Grenze hat. Es müssten sich z. B. nach dem Platzen der Vacuolen in der zurückbleibenden Substanz sofort wieder neue Vacuolen bilden, was aber nicht geschieht.

Von quellbaren Körpern, die keine löslichen Stoffe enthielten, habe ich die Wasseraufnahme bei Gelatine, Leim und Agar-Agar in kaltem Wasser untersucht und niemals Vacuolenbildung beobachtet, obgleich diese Stoffe in kaltem Wasser entschieden nur begrenzt quellbar sind. Dasselbe Verhalten zeigt Fibrin in verdünnter Salzsäure, oder eingetrocknete Acidalbumine beim

1) Hofmeister, Die Lehre von der Pflanzenzelle 1867. p. 5.

2) Berthold, Studien über Protoplastamechanik 1886. p. 64 u. 65.

Aufweichen. Ebenso tritt beim Erwärmen keine Vacuolenbildung ein. Bei der Quellung von Gummi arabicum, Weihrauch, sog. löslichem Leim in Wasser fehlt natürlich die Vacuolenbildung, da hier unbegrenzt quellbare Körper vorliegen.

Mischen wir in erwärmter Lösung Gelatine mit einer reichlichen Menge von Zucker, und lassen wir sodann durch Abkühlung die Lösungen gallertig werden, so entstehen beim Eintrocknen und wieder Anfeuchten der Gallerte keine Vacuolen. Mischt man ferner Kochsalzkrystalle unter Leim, der in der Wärme gelöst wurde aber noch zähflüssig geblieben war, so nimmt der Leim eine bestimmte Menge von Kochsalz auf, während der Ueberschuss in fester Form erhalten bleibt. Fügt man zu dem auf dem Objectträger eingetrockneten Leimtropfen, der Kochsalzkrystalle enthielt, Wasser hinzu, so quillt wohl der Leimtropfen, die Kochsalzkrystalle lösen sich umgeben von Leimsubstanz und vertheilen sich darin, Vacuolenbildung tritt jedoch nicht ein.

Diese Thatsachen beweisen uns, dass noch andere Factoren bei der Vacuolenbildung betheiligte sind, u. z. gehört dazu die Undurchlässigkeit der quellenden, aber unlöslichen Substanz für die gelöste Substanz. Beim Cytoplasma ist es das Plastin, welchem in hervorragender Weise die Fähigkeit zukommt, eine derartige undurchlässige Scheidewand zu bilden (vgl. § 30).

Diese Bedingungen zur Vacuolenbildung fand ich an nicht organisirten Materien vereinigt bei der Quellung von Mastix in Alkohol und bei der Wasseraufnahme eines Gemisches von löslichem und unlöslichem gerbsaurem Leim.

Der Mastix (das Harz von *Pistacia lentiscus*) besteht aus einem in Alkohol löslichen und einem unlöslichen Theil. Zieht man gepulverten Mastix mit heissem oder kaltem Alkohol aus, so löst sich die Hauptmasse desselben, es bleibt jedoch eine unlösliche Substanz zurück, die, so lange sie noch etwas Alkohol enthält, zähflüssig und fadenziehend ist, erst nach dem Trocknen wird sie hart. Die in Alkohol unlösliche Substanz ist in Alkohol beschränkt quellbar, in welchem Zustand sie dehnbar und bis zu einem gewissen Grade elastisch ist.

Bringt man Splitter des trockenen Harzes auf den Objectträger und fügt Alkohol absolutus hinzu, so tritt zunächst freiwillige Emulsionirung ein. Grössere und kleinere Tropfen lösen sich ab und vertheilen sich im Alkohol. Die abgelösten Tropfen sind anfangs vollständig homogen, bald zeigen sich jedoch in jedem Tropfen zahlreiche Vacuolen verschiedener Grösse. Die Emulsionirung ist unvollständiger oder unterbleibt gänzlich, wenn wir statt Alkohol abs. nur verdünnten Alkohol anwenden. Es trennen sich dann keine Tröpfchen los, wohl aber wird in den Mastixstückchen Substanz gelöst, welche sich in Tröpfchen, d. h. in Vacuolen innerhalb des Mastixstückes ansammeln. Grössere Vacuolen können ihren Inhalt an die äussere Flüssigkeit abgeben, namentlich wenn man noch etwas stärkeren Alkohol zusetzt, wodurch noch mehr Substanz gelöst wird. Die Vacuolenbildung erweist sich hier also eclatant als Entmischungsvorgang.

Es ist bekannt, dass löslicher Leim (Traube's  $\beta$ -Leim) mit Gerbstoff Niederschlagsmembranen bildet. Diese Niederschläge bestehen, wie dies schon Traube angibt, aus einer löslichen und einer unlöslichen Modification von gerbsaurem Leim. Dieselben entstehen nicht nur an der Grenze beider Flüssigkeiten, sondern bei der Bildung von sog. künstlichen Zellen auch innerhalb der Blasen.

Bei Herstellung dieser Niederschläge verfuhr ich folgendermaassen: Ich liess einen Tropfen gelösten Leims auf dem Objectträger austrocknen, legte sodann ein Deckglas auf, meist mit Unterlegung von zwei dünnen Korklamellen, damit der Druck des Deckglases nicht hinderlich sei und der sich bildenden Blase hinreichender Spielraum zur Vergrösserung gewährt würde. Hierauf brachte ich die genügende Menge einer 6 proc. Gerbstofflösung unter das Deckglas. Sogleich bildete sich eine Niederschlagsmembran, die durch den quellenden Leim die erste Zeit ziemlich gleichmässig ausgedehnt wurde.

Bei der Bildung der Niederschlagsmembran war dieselbe homogen durchsichtig, ausserordentlich dünn. Dieses gleichmässige Wachstum dauerte jedoch nicht lange. Blasenförmige Auftreibungen bilden sich an der ganzen Peripherie, welche gleichzeitig, die einen etwas langsamer, die anderen etwas schneller, sich ausdehnen. Es entstehen bei grösseren Leimtropfen auch Risse in der Membran, aus denen sich Leimlösung ergiesst, die jedoch sogleich mit einer dünnen, feinen Niederschlagsmembran umgeben wird. Die Membran bleibt nur kurze Zeit so homogen. Durch ungleichmässiges Wachstum an einzelnen Stellen der Peripherie bilden sich Ausstülpungen, welche bei ihrer Vergrösserung seitwärts aufeinander stossen (vgl. Taf. VI, Fig. 172), ihre Membranen legen sich aneinander und verschmelzen zu radial verlaufenden Falten. Ausserdem werden noch durch ungleichmässige Verdickung der Membran zahlreiche Leisten gebildet, die oft netzförmig mit einander anastomosiren. Das Dickenwachstum der Membran tritt besonders dann zu Tage, wenn die Vergrösserung der Blase, also das Flächenwachstum der Membran, sistirt oder doch sehr herabgesetzt ist. Das Dickenwachstum der Membran kann man auch an den soeben erwähnten radialen Falten verfolgen, die durch das Aneinanderlegen zweier Vorstülpungen entstanden sind und die deshalb von der direkten Berührung mit der Gerbstofflösung abgeschlossen sind. Ausser dem Dickenwachstum der Membran beobachten wir innerhalb der Blase nach einiger Zeit Ausscheidung kleiner Kügelchen, u. z. ohne dass die Membran irgendwie verletzt wäre (Fig. 172). Dieser Niederschlag hat dieselbe stoffliche Beschaffenheit, wie die Niederschlagsmembran. Die Kugeln bilden sich nur an der Peripherie der Blase, vergrössern sich hier am stärksten, so dass wir an den äusseren Theilen die grössten Kugeln haben, die nach innen zu allmählig kleiner werden. Durch Aneinanderlegen und Verwachsung können aus den einzelnen Niederschlagskugeln auch umfangreichere Körper entstehen (Taf. VI, Fig. 170).

Durch die Ausfällungen und die Membranverdickung werden naturgemäss die beiden membranbildenden Flüssigkeiten allmählig sehr verdünnt, ist dies

eingetreten, so findet sowohl in der Membran als in den kugeligen Körpern die Entmischung statt, welche zur Vacuolenbildung führt. Waren die Membran und die kugeligen Körper vorher gleichmässig dicht (Taf. VI, Fig. 170 und oberer Theil der Fig. 173), so sieht man dann zunächst kleine Pünktchen resp. Tröpfchen auftreten, die sich allmählig vergrössern und durch ihre hellere Farbe von der übrigen Substanz abheben. Dabei kann man namentlich an den kugeligen Körpern eine Volumvergrösserung der ganzen Niederschlagsmasse constatiren. Anfangs besitzen die kleinen Vacuolen Kugelform, beim Wachstum platten sie sich gegenseitig ab, wodurch ein mehr unregelmässig gestaltetes Netz entsteht (Fig. 173, unterer Theil). Die Niederschlagsmembranen sind gespannt, daher wölben sich die Vacuolen hier nur wenig oder gar nicht hervor, wie sie es ohne Spannung thatsächlich thun. Wir erhalten daher eine Membran, die aus dichteren Balken und weniger dichten, aber durch eine dünne Haut begrenzten Vacuolen besteht.

Ist noch Gerbstoff und Leim in genügender Menge vorhanden, so wachsen die Membranen noch weiter u. z. hauptsächlich an den Vacuolen. Bei Wiederholung des Entmischungsvorganges können nun hier in den Zwischenräumen des primären Netzwerkes wiederum Vacuolen entstehen, wodurch hier ein secundäres Netzwerk entsteht.

Wir müssen annehmen, dass sowohl in der Niederschlagsmembran, als in den kugeligen Körpern die beiden Modificationen des gerbsauren Leims, die lösliche und die unlösliche, gleichmässig vertheilt sind, und erst durch den später eintretenden Entmischungsvorgang werden beide Substanzen derartig gesondert, dass der unlösliche Theil, welcher immerhin eine gewisse Verschiebbarkeit seiner kleinsten Theilehen behält, die Vacuolenwandung, die lösliche Substanz, den Vacuoleninhalt bildet.

Ausserdem interessirt uns noch diese Netzbildung an der Membran, da sie an manche Strukturbilder erinnert, die an dem Cytoplasma auftreten und auch fixirt werden können. Bei langsamem Zutritt der Fixirungsflüssigkeit kann im Cytoplasma ebenfalls Entmischung eintreten, bevor noch die Proteinstoffe unlöslich gemacht worden sind. Allmählich erstarren derartige Bilder und verleiten dann zu der Annahme netzförmiger Strukturen, besonders da die dickeren Vacuolenwandungen Farbstoffe stärker imbibiren, als die dazwischenliegenden dünneren Stellen.

Vacuolenbildung kann man ferner noch bei Fichtenharz beobachten, welches in zur Hälfte mit Wasser verdünnten Alkohol gelegt wird. Das Fichtenharz wird zunächst in dieser Mischung leicht flüssig, jedes Harzstückchen rundet sich zu einem Tropfen ab, sodann tritt Vacuolenbildung im Innern des Tropfens auf, die um so schneller vor sich geht, je mehr Alkohol und je weniger Wasser vorhanden ist. Wenn sich auch das Fichtenharz in Alkohol absol. vollständig löst, so bleibt doch in verdünntem Alkohol ein Rückstand, der zähflüssig bis zu einem gewissen Grade beweglich ist, also haben wir auch bei dieser Vacuolenbildung die Mischung eines löslichen und unlöslichen Körpers vor uns.

In dieselbe Kategorie gehören auch die Tropfenausscheidungen von flüssiger Seife, die entstehen, wenn man fettsäurehaltiges Oel<sup>1)</sup> in eine wässrige Lösung von kohlensaurem Kali oder Dinatriumphosphat oder in verdünntes Ammoniak bringt. Allerdings tritt hier sehr leicht Emulsionirung ein, d. h. die ganze Oelmenge wird in einzelne Tröpfchen vertheilt. Diese Emulsionirung unterbleibt und es treten blos Vacuolen auf bei bestimmtem Fettsäuregehalt und bestimmter Löslichkeit der gebildeten Seifen.

Halten wir uns direct an diese Beobachtungen an nichtorganisirten Körpern, so sehen wir einerseits, dass an homogenen Körpern bei der Quellung niemals Vacuolenbildung zu beobachten ist, andererseits tritt dieselbe ein, sobald Mischungen mindestens zweier Stoffe vorliegen, von denen der eine in der umgebenden Flüssigkeit löslich, der andere unlöslich ist und undurchlässig für die gelöste Substanz. Diese letztere Beobachtung dürfen wir auch auf das Protoplasma übertragen und hier ebenfalls eine analoge Zusammensetzung annehmen. Es ist daher erlaubt, aus dem Eintritt der Vacuolenbildung auf eine Zusammensetzung aus löslichen und unlöslichen Substanzen von bestimmten Eigenschaften zu schliessen.

Zum Verständniss dieses Entmischungsvorganges, welcher bei der Vacuolenbildung eintritt, fehlt uns noch die Kenntniss jener Kräfte, durch welche die Trennung vorher gleichmässig gemischter Substanzen bewirkt wird.

Bei der Erörterung dieser Frage gibt uns die Thatsache einen Anhaltspunkt, dass Vacuolenbildung in verschiedenen Fällen, bei Harzen, fettsäurehaltigen Oelen in Emulsionsbildung übergehen kann.

Nach G. Quincke<sup>2)</sup> breitet sich Seifenlösung an der Grenzfläche von fetten Oelen mit Wasser oder wässrigen Salzlösungen aus. Durch die Ausbreitung der Seifenlösung entstehen Wirbelbewegungen im Innern des Oels und der umgebenden Flüssigkeit, einzelne Oeltröpfchen werden in die umgebende Flüssigkeit hereingerissen und bilden hier die kleinen Oelkugeln einer Emulsion. Eine derartige Emulsionirung kann bei einem Tropfen fetten Oeles, den man auf eine sehr verdünnte Sodalösung gebracht hat, eintreten, da schon ausserordentlich geringe Mengen von Seife, die mikroskopisch oder auf andere Weise nicht mehr nachzuweisen sind, genügen, um die Ausbreitungserscheinungen und die dadurch hervorgerufenen Bewegungen der ganzen Oelmasse herbeizuführen. Die in einem Tropfen fetten Oeles vorhandene Fettsäure genügt in den meisten Fällen zur Erzeugung der nothwendigen Seifenmenge.

Die Emulsionsbildung hängt ferner ab von der Zähigkeit des zu emulsionirenden Körpers, von der Menge des vorhandenen löslichen Stoffes und dessen grösserer oder geringerer Löslichkeit. Diese Factoren werden es sein, welche bestimmen, ob Emulsionsbildung überhaupt eintritt, oder ob die in der Flüssigkeit vorhandenen Strömungen und Bewegungen nur zur Ent-

1) An fast allen Oelen (mit Ausnahme des Ricinusöles) zu constatiren.

2) G. Quincke, Pflüger's Archiv für die gesammte Physiologie. Bd. 19, 1879, p. 129—144.

mischung, zur Vacuolenbildung führen. Unter Umständen kann man auch an dem Cytoplasma ein Losreissen einzelner Tropfen und Vacuolen beobachten, was entschieden dafür spricht, dass ebenso wie bei den Oelen (und Harzen), auch bei dem Cytoplasma Emulsion und Vacuolenbildung einen inneren Zusammenhang aufweisen.

Nach meiner Ansicht können demnach Bewegungen, welche an der Grenzfläche zweier Körper entstehen, den Anstoss zur Trennung der löslichen und unlöslichen Körper im Cytoplasma geben.

Es ist jedoch nicht gesagt, dass bei organisirten Körpern die Vacuolenbildung immer hierdurch veranlasst wird. Es können wie z. B. bei den Chlorophyllkörpern zwei schon vorher ungleichmässig vertheilte ungelöste Stoffe durch den Hinzutritt eines Lösungsmittels derartig geschieden werden, dass sich die eine Substanz in Tropfenform innerhalb der anderen ansammelt. Da in diesem Falle die beiden Stoffe schon vor der Vacuolenbildung local getrennt waren, werden jene inneren Strömungen und Bewegungen, welche die locale Trennung der Stoffe bewirken sollen, überflüssig, diese Art von Vacuolenbildung kann demnach auch ohne dieselben eintreten.

### § 30. Einwirkung von Wasser auf das Cytoplasma.

Reagentien, welche das Cytoplasma sogleich tödten, machen es auch durchlässig für die hinzugefügten Stoffe, welche auf diese Art vollständig zur Wirkung gelangen können. Anders verhält es sich jedoch bei indifferenten Stoffen, speciell bei der Einwirkung von Wasser. Destillirtes Wasser kann unter Umständen ebenfalls die Zellen tödten, so z. B. gehen Wurzelhaare, die vorher in sehr trockener Erde wuchsen, oder manche Spermatozoiden bald zu Grunde, wenn sie in destillirtes Wasser kommen; die Regel ist jedoch, dass an unverletzten Zellen Wasser keine Veränderungen hervorruft. Die Einwirkung des Wassers tritt demnach erst zu Tage beim Tödten und Verletzen der Zellen. Ich werde am Schluss dieses § auf diese Thatsachen noch näher eingehen, vorläufig seien hier jene Veränderungen besprochen, welche beim Verletzen der in Wasser liegenden Zellen eintreten.

Bei den durch Druck oder Anschneiden verletzten Zellen haben wir ausser der durch den freien Wasserzutritt hervorgerufenen Entmischung nur noch die Stoffe des Zellsaftes zu berücksichtigen, welche jedoch hier relativ weniger intensiv wirken, als bei den Kernen, aber ungefähr in derselben Weise wie bei den Chlorophyllkörpern. Abgesehen von der Einwirkung des Zellsaftes, zeigt das Cytoplasma verschiedener Zellen folgende Veränderungen.

In sehr jungen Zellen in der Nähe der Vegetationspunkte von Stengeln und Wurzeln oder an jungen Blättern tritt an verletzten Zellen in Folge der Wasserwirkung eine sehr starke gleichmässige Volumvergrösserung ein, das ganze Cytoplasma bildet einen sehr zarten, durchsichtigen, jedoch meist feinpunktirten Niederschlag. Die einzelnen Körnchen des Niederschlags treten wenig scharf hervor, so dass bei schwächeren Vergrösserungen das

aufgequollene Cytoplasma homogen erscheint. Das Aufquellen kann so weit gehen, dass man in Zweifel geräth, ob nicht wirklich Lösung eingetreten ist, indem die feine Punktirung auch mit den stärksten Linsen nicht mehr wahrzunehmen ist. Diese durchsichtige Gallerte kann jedoch durch Zusatz von Fällungsmitteln noch als Niederschlag sichtbar gemacht werden, was bei vollständiger Lösung nicht mehr möglich wäre, da hier die gelöste Substanz einfach gewaschen würde. Theilweise erkennt man auch Grenzcontouren an der gequollenen Plasmamasse, besonders wenn die Quellung noch nicht zu weit gegangen ist. Charakteristisch für diese Quellungsart ist noch, dass Vacuolenbildung nicht auftritt.

Die stärkste Quellung bis zum Homogenwerden konnte ich in der Nähe des Vegetationspunktes an jungen Keimlingen von *Vicia faba*, *Vicia sativa* und *Pisum sativum* beobachten, ferner an den Knospen von *Betula alba* und *Ulmus corylifolia*, sowie an der Wurzelspitze junger Keimlinge von *Pisum sativum*.

Feinpunktirt, aber auf das mehrfache Volumen ausgedehnt, zeigte sich das Cytoplasma an den Vegetationspunkten des Stengels und der Wurzel von *Phaseolus multiflorus*, an jungen, in der Zwiebel eingeschlossenen Trieben von *Allium sativum*, an jungen Blättern von *Beta rubra* und an der Vegetationsspitze junger, dicker, oberirdischer Wintertriebe von *Solanum tuberosum*.

Ich habe die eben besprochenen Erscheinungen noch oft beobachtet, ohne mir jedoch die Pflanzen zu notiren. Die hier angeführten Fälle sind daher nur als Beispiele anzusehen. Namentlich treten diese Quellungen ohne Vacuolen an den jüngsten Theilen der Pflanzen auf.

An etwas älteren, jedoch nicht an ganz alten, plasmaarmen Zellen beobachten wir die zweite Art der Quellung.

Das Volumen des Cytoplasmas wird vergrößert, es tritt jedoch bald Vacuolenbildung auf, d. h. eine Trennung der gelösten Substanz von der beschränkt quellbaren aber unlöslichen Substanz. Die letztere ist meist homogen, kann jedoch auch feinpunktirt aussehen. Da die Vacuolenflüssigkeit sich häufig von der übrigen sehr durchsichtigen Substanz nur wenig abhebt, ist es von Vortheil, die gequollene Masse durch Flemming'sche Mischung oder durch Jod zu fixiren, wodurch die Vacuolen resp. die Vacuolenwand deutlicher hervortreten. Die Form der Vacuolen hängt wesentlich von der Consistenz des Cytoplasmas ab. Ist dasselbe flüssiger, d. h. weniger zäh, so nehmen die Vacuolen Kugelgestalt an. Die ursprünglich ungefähr überall gleich mächtige Cytoplasmaschicht wird an den Stellen der Vacuolen hervorgewölbt. Wir erhalten unter Umständen, besonders wenn die Dicke der wandständigen Plasmachicht nicht zu gering ist, ein Bild, welches der vacuolenbildenden Niederschlagsmembran von gerbsaurem Leim (Taf. VI, Fig. 173) nicht unähnlich ist. So z. B. bei jüngeren Zellen der Wurzel von *Pisum sativum*, wenige Millimeter von der Spitze entfernt, deren Oberflächenansicht (Taf. VII, Fig. 174) uns die annähernd kugeligen Vacuolen über die ganze Wandfläche vertheilt zeigt. Diese Quellung tritt ein bei ziemlich jungen Zellen, die

nur wenig verletzt sind, vielleicht nur durch Druck, ohne angeschnitten zu sein. Dies Stadium bleibt längere Zeit erhalten, bis die Vacuolen undeutlicher werden, indem die Vacuolenwand selbst noch quillt. Bei weitergehender Quellung, ebenso bei stärker verletzten Zellen vergrössern sich die Vacuolen noch ziemlich bedeutend, die Zwischensubstanz wird weniger scharf begrenzt und wir erhalten ein Bild wie Fig. 175, Taf. VII. Von den in der unverletzten Zelle ursprünglich vorhandenen Fäden (Taf. V, Fig. 157) sind noch Reste zu sehen. Dieselben verschwinden jedoch nach und nach vollständig, theils werden sie vom Cytoplasma eingezo-gen, theils werden sie selbst vacuolig.

Wegen der starken Quellung der Vacuolenwand und weil die Vacuolen selbst häufig platzen, ist es nothwendig, um ein gutes Vacuolenbild zu erhalten, die angeschnittenen Zellen sehr bald nach der Verletzung zu fixiren, da sonst die Desorganisation zu weit vorgeschritten ist. In den Endstadien der Quellung finden wir häufig auch isolirte Kugeln, welche durch Freiwerden mit plastischer Substanz umgebener Vacuolen entstanden sind.

Unter Vermeidung von fällenden Substanzen erhält man sehr gute Vacuolenbilder, wenn man verletzte Zellen unmittelbar in Hühnereiweiss legt. Wie wir an der Zelle eines Rothkrautblattes (Taf. VII, Fig. 176) sehen, bleibt der Cytoplasmakörper und die Vacuolen in dem Eiweiss erhalten, ohne weiter zu verquellen. Das Cytoplasma ist geschrumpft und nimmt einen kleineren Raum ein als in der unverletzten Zelle, ohne jedoch eigentlich gefällt zu sein.

Erweist sich das Cytoplasma als consistenter, so wird dadurch auch die Form der Vacuolen etwas modificirt. Die Vacuolen streben ebenfalls zur Kugelform hin, da aber die Zwischensubstanz diesem Bestreben einen grösseren Widerstand entgegensetzt, so nehmen sie mehr eine unregelmässige Gestalt an. Auf Taf. VII, Fig. 177 sind zwei Zellen von Staubfadenhaaren der *Tradescantia virginica* abgebildet. Die abgeschnittenen Haare hatten 24 Stunden in Hühnereiweiss gelegen, waren am Absterben und in Folge dessen vacuolig geworden. Anfangs ist der Zellsaft (Zelle a) noch vollständig gegen das gequollene Plasma abgegrenzt, die dem Zellsaft angrenzende innere Plasmaschicht blieb im Zusammenhang und hemmte so die Ausdehnung der Zellen in radialer Richtung, dieselben erscheinen daher etwas flach gedrückt und da sich ausserdem die Vacuolenwandung nicht vollständig der Tropfenform der Vacuolenflüssigkeit anschmiegt, so erhalten wir ein Balkensystem, dessen Zwischenräume von dem Vacuoleninhalt erfüllt sind. Platzt bei weiterer Wasseraufnahme die Grenzschicht zwischen Zellsaft und Cytoplasma, so gerathen die Vacuolen durch einander, die ganze Zelle wird schaumig (Zelle b in Fig. 177).

Ist der plasmatische Wandbelag ziemlich dünn und nur an einzelnen Stellen etwas mächtiger, so bilden sich Vacuolen nur an den dickeren Stellen aus. So konnte ich z. B. an der Flächenansicht von Zellen aus Rothkrautblättern beobachten, dass nur stellenweise Vacuolen gebildet waren, während die übrige Cytoplasmamasse homogen blieb. Die Vacuolen sind hier von

etwas dichteren Kreisen begrenzt, welche wahrscheinlich dadurch entstanden sind, dass die Vacuolenflüssigkeit bei ihrer Ausdehnung die plasmatische Substanz ringsherum etwas zusammengedrängt hat. Stossen solche Vacuolen auf einander, so können sie sich gegenseitig abplatten, wodurch ein derartig local ausgebildetes Netzwerk entsteht, wie es Frommann als Struktur des Cytoplasmas beschreibt.

Im fertigen Zustande ist dies Netzwerk nicht immer leicht von jenen Gebilden zu unterscheiden, welche durch das Vacuoligwerden im Zellsaft ausgefüllter Kugeln (vgl. Taf. VII, Fig. 182) entstanden sind. Stellt man auf den Querschnitt einer solchen vacuolig gewordenen Zelle ein (Taf. VII, Fig. 178), so erkennt man mit Leichtigkeit den Zusammenhang der Vacuolen mit dem Cytoplasma.

Erwähnt mag noch werden, dass unter Umständen, speciell wenn das Cytoplasma etwas leichtflüssiger ist, statt der Vacuolenbildung auch homogene Quellung eintreten kann, es fehlt die Entmischung, die Grenzschichten des Cytoplasmas nach aussen und innen bleiben jedoch immer etwas dichter, so dass die grössere Menge des Wassers sich in den dazwischen befindlichen Schichten ansammelt, ohne sich jedoch in Tropfenform auszuschcheiden.

Die eben besprochenen Erscheinungen treten bei der grossen Mehrzahl der Zellen auf, deren Zellsafräum sich abgesondert hat, deren Cytoplasma-  
belag jedoch noch nicht zu dünn geworden ist. Als Beispiele möchte ich nennen die Keimlingswurzel von *Phaseolus multiflorus*, die jungen Stengeltheile von *Helianthus*- und *Lupinus*-keimlingen, sowie die Stengel von *Humulus lupulus*, ferner die Blattzellen von *Cypripedium venustum* und *Oncidium suave* und *Allium porrum*.

Die dritte und letzte Kategorie der Wasserwirkung liefern jene Zellen, bei denen nach dem Verletzen gar keine oder nur eine sehr geringe Quellung des Cytoplasmas eintritt. Die Volumvergrösserung ist gleich Null oder doch sehr gering, die Vacuolenbildung unterbleibt vollständig.

Das Cytoplasma zieht sich zusammen und bildet einen geschrumpften Sack mit mehr oder weniger deutlichen Fällungsstrukturen. Diese Art der Wasserwirkung beobachten wir einerseits an sehr plasmaarmen, alten Zellen, andererseits an plasmareichen und jungen Pflanzentheilen, wenn dieselben eine grössere Menge von Gerbstoff enthalten. In dem letzteren Falle liegt eine direkte Fixirung vor, ganz in derselben Weise wie bei Chlorophyllkörpern und Zellkernen. Das Cytoplasma ist jedoch relativ weniger empfindlich gegen fällende Substanzen als der Zellkern, weshalb in manchen Pflanzentheilen, wo der Zellkern unlöslich ist beim Verletzen der Zellen, das Cytoplasma noch etwas aufquillt. Es ist dies leicht begreiflich, da beim Cytoplasma die grössere Menge der Wasseraufnahme resp. die Vacuolenbildung nicht durch die bei der Fällung unlöslich werdenden Eiweissstoffe, sondern durch andere lösliche Substanzen erfolgt, während im Kern die Proteinstoffe bedeutend überwiegen und die eigentliche Ausdehnung und Vacuolenbildung von denselben herrührt.

In alten plasmaarmen Zellen mögen wohl auch derartige Fixirungen durch den Zellsaft vorkommen, ausserdem kommt jedoch noch der geringere Gehalt des Cytoplasmas an löslichen Substanzen in Betracht, wodurch ebenfalls die Vacuolenbildung erschwert oder gar hintangehalten wird.

Ausser an alten Zellen konnte ich Fixirung des Cytoplasmas beobachten bei Knospen von *Alnus glutinosa*, *Corylus avellana*, *Aesculus hippocastanum*, an Blättern von *Quercus*, *Oncidium altissimum*. Sehr geringe Quellung trat ein (ohne Vacuolenbildung) bei Keimlingen von Rothklee, älteren Blättern von *Blechnum occidentale*, älteren Stengeln von *Mentha piperita* und *Geranium Robertianum*, in den äusseren Zwiebelschalen von *Allium cepa*.

Unter Berücksichtigung der im vorigen § über die Vacuolenbildung festgestellten Thatsachen geben uns die eben beschriebenen Erscheinungen in mancher Beziehung Aufschluss über die Beschaffenheit des Cytoplasmas. An sehr jungen Pflanzenzellen geht die Quellung am weitesten, es kommt zu keiner Vacuolenbildung, da sich die löslichen Substanzen des Cytoplasmas mit den übrigen mischen, während in älteren Pflanzenzellen die Quellung der plastischen Substanz eine beschränkte ist, also im Vergleich zu den Jugendstadien abnimmt, und in Folge dessen kommt es zur Vacuolenbildung. Die Vacuolenbildung selbst wird im weiteren Verlauf schwächer und dies lässt wiederum auf eine Abnahme der im Cytoplasma gelösten Stoffmenge schliessen.

Man könnte nun vielleicht der Ansicht sein, dass in den jüngsten Zellen überhaupt keine Mischung von löslichen und quellbaren Körpern vorliegen würde, dies ist jedoch nicht richtig, indem man bei sehr geringen Verletzungen der Zellen, speciell auch wenn man den Wasserzutritt hemmt, indem man die Schnitte in Hühnereiweiss legt, auch dann Vacuolenbildung erzielt, wenn bei unbeschränktem Wasserzutritt homogene Quellung erfolgt. Durch geringfügige Verletzungen, Druck etc. wird das Cytoplasma wohl imbibitionsfähiger für Wasser gemacht, aber so lange die Zellwand dasselbe umgibt, ist der Volumvergrösserung und somit auch dem Wasserzutritt eine Schranke gesetzt. Geschieht das letztere nicht, so quillt die sonst nur beschränkt gequollene Masse weiter, ja bei längerem Liegen des vacuoligen Cytoplasmas kann die beschränkt gequollene Masse aus den Vacuolen noch Flüssigkeit aufnehmen.

Die grössere Quellbarkeit des Cytoplasmas an den Vegetationspunkten steht höchst wahrscheinlich mit dem grösseren Gehalt junger Pflanzentheile an Kalisalzen in Verbindung. Kalisalze erhöhen (vgl. § 32) die Quellbarkeit des Cytoplasmas, sobald dieselben der lebenden Zelle von aussen zugeführt werden. Denselben Effect muss eine grössere, schon im Protoplasma vorhandene Kalimenge erzielen.

Die Vacuolenbildung an sich zeigt uns ferner, dass die Substanz, welche die Wandung liefert — wie wir später sehen werden, ist es das Cytoplastin — undurchlässig ist für die gelösten Stoffe, sonst könnte ja eine Ausdehnung der Vacuolen überhaupt nicht erfolgen. Diese Undurchlässigkeit kann sich auch auf Farbstoffe erstrecken. So fand ich bei Epidermiszellen vom

Braunkohl mit violettem Zellsaft, dass beim Vacuoligwerden der Zellen Farbstoff aus dem Zellsaft in die Vacuolen übertrat, aber das Plastin tingirte sich nicht, ähnlich wie in Fig 188, Taf. VIII. In minimaler Menge wird ja Farbstoff durchgehen, es kann dieser Farbstoff jedoch in den Vacuolen gespeichert werden, ohne dass die Vacuolenwandung sich färbte. Das Plastin ist es also, welches die relative Undurchlässigkeit für gewisse organische Stoffe bedingt.

Ein besonderes Interesse beansprucht noch die Frage, was für Substanzen bilden die Vacuolenwand und den Vacuoleninhalt?

Wir haben gesehen, dass bei den Chlorophyllkörpern Vacuolen dadurch entstehen, dass eine stark quellbare Proteinsubstanz schliesslich in Lösung übergeht, während die Vacuolenwandung von einer anderen nur beschränkt quellbaren Proteinsubstanz gebildet wird. Beim Cytoplasma ist der Sachverhalt ein anderer. Die Vacuolen enthalten keinen Proteinstoff, sondern nur andere Substanzen, der Vacuoleninhalt ist gleich von Anfang an eine Lösung und nicht wie bei den Chlorophyllkörpern zunächst eine stark gequollene, später gelöste Substanz. Die Abwesenheit von Proteinstoffen im Vacuoleninhalt lässt sich durch den Zusatz von Substanzen erweisen, welche Proteinkörper leicht fällen. Fügt man zu den kurze Zeit in Wasser gelegenen verletzten Zellen Jod, Flemming'sche Mischung, Picrinsäure, Alkohol abs., verdünnte Lösung von Ferrocyankalium und Essigsäure oder von Sublimat hinzu, so schrumpft die gequollene Masse, auch die Vacuolen werden kleiner, sie enthalten aber keinen Niederschlag, also auch keine Proteinkörper. Der fällbare Stoff des Cytoplasmas bildet demnach die Vacuolenwandung, die letztere ist nach der Fixirung homogen oder feinpunktirt und bei weiterer Behandlung mit den verschiedenen Reagentien erweist sie sich als identisch mit dem Plastin. Eine Zusammensetzung der Vacuolenwandungen aus verschiedenen Proteinstoffen ist jedoch durch keine einzige Reaction wahrscheinlich gemacht.

Leider kann man am Vegetationspunkt selbst die Vorgänge bei der Fällung nur unvollständig verfolgen, es entsteht dort ein gleichförmig körniger Niederschlag, es ist daher sehr wohl möglich, dass in diesen Zellen auch Eiweissstoffe neben dem Plastin vorkommen, so namentlich die durch die Biuretreaction angezeigte Substanz, welche ich als metaplastischen Stoff bezeichnet habe (pag. 128). Bemerkenswerth ist noch, dass der gefällte Rückstand verletzter Zellen an Masse relativ gering ist im Vergleich zu dem Cytoplasmaniederschlag unverletzter Zellen. Theilweise beruht dies wohl auf Täuschung, indem der in seiner ursprünglichen Lage fixirte Cytoplasmabelag einen grösseren Raum ausfüllt, als der in der Mitte der Zellen zusammengeschrumpfte Sack verletzter Zellen. Ausserdem sind beim Verletzen der Zellen Stoffe hinweggelöst, welche im normalen Zustande noch vorhanden waren und den Cytoplasmanniederschlag voluminöser werden liessen. Ich hebe diese Thatfachen besonders hervor, weil z. B. Zacharias aus dem Zurückbleiben eines kleineren Plastinschlauches nach der Einwirkung von

Pepsin auf eine partielle Verdauung schliessen zu müssen glaubte. Es sind aber keine Stoffe verdaut und dadurch erst löslich gemacht worden, sondern nach dem Absterben in der Verdauungsflüssigkeit wurden dieselben Stoffe herausgelöst, wie bei der Wasserwirkung, es konnte also hier auch, ohne dass Stoffe verdaut worden wären, nur ein Rest übrig bleiben, der dem Volumen nach kleiner war als das Cytoplasma der lebenden Zelle. Membranartig differenzirte Grenzschichten sind in keinem Falle sichtbar zu machen gewesen.

Der Plastingehalt des Cytoplasmas ist aber noch in einer anderen Hinsicht von grosser Bedeutung, und zwar glaube ich, dass dieser Stoff in hervorragender Weise bei der Bildung der sog. Plasmamembran betheiligt ist. Pfeffer<sup>1)</sup> hat es sehr wahrscheinlich gemacht, dass an der Oberfläche von Protoplasmakörpern durch die Berührung mit reinem Wasser eine Niederschlagsmembran entsteht, welche unter der Mitwirkung mancher anderer Faktoren jene Eigenschaften erlangt, die wir an der lebenden Zelle wahrnehmen. Nach meiner Ansicht handelt es sich hier um eine Fällung, oder richtiger gesagt um die Bildung einer sehr dünnen Coagulationsschicht, welche durch die Berührung des Plastins mit Wasser entsteht. Lassen wir nämlich den gequollenen Zellinhalt längere Zeit in Wasser liegen, so tritt vollständige Coagulation ein, d. h. das vorher leicht dehnbare und zähe Plasin wird starr und unbeweglich und erhält ein Aussehen, als ob es mit fixirenden Substanzen behandelt worden wäre. Wir können Pflanzentheile tödten ohne das Cytoplasma direct zu fällen, z. B. durch Frost, oder durch Druck oder durch Fäulniss; untersuchen wir dann das Cytoplasma nach längerem Verweilen in Wasser, so stellt sich heraus, dass in der Zelle nur noch ein kleiner geschrumpfter, coagulirter Rückstand zurückgeblieben ist, welcher dem Plastingehalte entspricht. Diese Coagulation, welche schliesslich das ganze Cytoplasma verletzter Zellen verändert, wird bei der lebenden Zelle auf die Grenzschichten beschränkt bleiben, indem in der lebenden Zelle durch den Gehalt an Alkalien oder vielleicht auch durch andere Faktoren die Coagulation des ganzen Cytoplasmakörpers hintangehalten wird. Sehr verdünntes freies Alkali, sowie Dinatriumphosphat verhindern die Coagulation und so bleibt die Niederschlagsbildung auf die äussersten Schichten beschränkt; erst wenn die Alkalien aus dem Plasin herausdiffundiren, kann das vollständige Erstarren des Plastins stattfinden. Die Entfernung des Alkalis dauert jedoch längere Zeit und deshalb erfolgt die Coagulation nicht sogleich. Wir haben im § 6 die Thatsache wahrscheinlich gemacht, dass im lebenden Protoplasma das Alkali chemisch gebunden ist, dies würde uns erklären, wieso hier das Alkali nicht herausdiffundirt, während dies im getödteten Zustande geschieht, wo das Alkali nur durch Oberflächenanziehung ähnlich wie ein Farbstoff festgehalten wird.

Die oberflächliche Coagulationsschicht ist ausserordentlich dünn, so dass

1) W. Pfeffer, Osmotische Untersuchungen 1877. p. 134.

wir sie unter dem Mikroskop nicht direkt als Haut wahrnehmen können. Dies hat nichts Ueberraschendes, indem ja auch dünne Niederschlagsmembranen an den Traub'schen Zellen vollständig unsichtbar sind und erst nach beträchtlichem Dickenwachsthum mikroskopisch nachweisbar werden. Das Dickenwachsthum der Oberflächenmembran unterbleibt aus den soeben angeführten Gründen an der lebenden Zelle und somit gelangt die sog. Plasmamembran niemals zur direkten Beobachtung.

Bei Plasmolyse der Zellen wird, wie bekant, die Hautschicht vom übrigen Cytoplasma wieder aufgenommen, ich glaube, dass es sich hier um eine Lösung durch Alkalien handelt und nicht etwa um eine Verdauung durch Fermente, welche im Cytoplasma vorhanden wären. Nach meinen Erfahrungen beanspruchen derartige Verdauungen immer längere Zeit, weshalb sich in diesem Falle die Anwesenheit einer festeren Membran durch die Gestaltung der Oberfläche des Cytoplasmas verrathen musste. Zu einer Lösung genügt jedoch die Zeit, innerhalb welcher die Contraction erfolgt. Bei der Wiederausdehnung plasmolysirter Zellen wird die Plasmamembran, indem sie wächst, der eintretenden Oberflächenvergrößerung leicht folgen können, so lange die Ausdehnung nicht zu schnell erfolgt. Bei rascher Ausdehnung dagegen tritt leicht ein Platzen der Plasmamembran ein und da zur Neubildung an entstandenen Rissen eine gewisse Zeit gehört, indem die Coagulation an der Oberfläche des Cytoplasmas sich nicht momentan bildet, wird Wasser in das Innere aufgenommen werden und so das Cytoplasma desorganisirt. Ein Platzen der Plasmamembran tritt besonders dann leicht ein, wenn dieselbe durch längeres Verweilen im plasmolysirten Zustande starrer und weniger dehnbar geworden ist.

Für die Entstehung der Membran aus Plastinsubstanz spricht auch die Thatsache, dass alle jene Substanzen, welche das Plastin fixiren, die Bildung und das Wachsthum der Membran zu unterdrücken vermögen. Es ist wohl möglich, z. B. durch Osmiumsäure, oder, wie Pfeffer <sup>1)</sup> angibt, durch sehr verdünnte Salzsäure die bestehende Plasmamembran zu fixiren und mit ihren osmotischen Eigenschaften zu erhalten, aber Wachsthum einer derartigen Membran findet nicht mehr statt, da das ganze Plastin unlöslich gemacht wurde.

Für uns hat diese Art der Plasmamembranbildung noch specielles Interesse, indem uns hierdurch klar wird, warum wir bei der Behandlung mit den verschiedenen Reagentien keine chemisch differente Membran finden konnten. In der Wirkung der hinzugesetzten Substanzen machte sich zwischen Plasmamembran und dem übrigen Plastin höchstens hier und da ein quantitativer Unterschied geltend, indem die Quellung oder Lösung etwas früher oder später eintrat, weiter waren jedoch keine Differenzen zu beobachten. Dies Verhalten ist also wesentlich anders, als bei der Kernmembran, wo die chemische Verschiedenheit des Kerninhaltes leicht nachzuweisen war.

<sup>1)</sup> l. c. p. 135.

Nicht vollständig identisch mit der äusseren Plasmamembran ist die jüngst von De Vries<sup>1)</sup> beschriebene Vacuolenwand. Sterben Zellen langsam ab, so kann die Begrenzung des Zellsaftes noch erhalten bleiben, wenn das Cytoplasma schon getödtet ist. Ich habe derartige Bilder wie De Vries sie gibt, selbst gesehen und bin zur Ueberzeugung gekommen, dass es sich um eine Niederschlagsmembran handelt, welche entsteht, wenn der Zellsaft mit gewissen Substanzen in Berührung kommt. An verschiedenen Figuren von De Vries (l. c. Taf. XXI, Fig. 7a und 7b, Fig. 9, Taf. XXII, Fig. 2) erkennt man deutlich, wie jeder isolirte Tropfen des Zellsaftes sich mit einer ringsum geschlossenen Niederschlagsmembran umgeben hat, die nicht in der ursprünglichen Zelle vorhanden gewesen sein kann. Die Vacuolenwand ist daher sehr wahrscheinlich überhaupt nur ein Kunstproduct, welches erst bei dem Absterben der Zellen entstanden ist.

Ich will hier nicht die Frage untersuchen, auf welche Weise eine derartige Niederschlagsmembran um den Zellsaft entstanden sein kann, ich möchte jedoch darauf hinweisen, dass in den meisten nicht zu inhaltsarmen Zellen im Zellsafte Stoffe gelöst sind, die leicht ausfällbar sind. Pfeffer hat zahlreiche Angaben hierüber gemacht, wie durch Farbstoffe oder durch Eindringen von alkalischen Lösungen Niederschläge entstehen, ohne dass er jedoch die Substanzen erschöpft hätte, welche solche Ausfällungen hervorrufen können. Ich selbst möchte noch darauf hinweisen, dass beim Zerzupfen von Zellen in Hühnereiweiss sich einzelne Tropfen des Zellsaftes isoliren lassen, welche sich dann mit einer sehr dünnen Membran umgeben, wodurch die Mischung von Zellsaft und Eiweiss verhindert wird, oder wenn der Zellsaft ursprünglich Farbstoff gelöst enthielt, ein Herausdiffundiren des Farbstoffs aus dem Zellsafttropfen hintangehalten wird. Es ist sehr leicht möglich, dass beim langsamen Absterben der Zellen aus dem Cytoplasma, bei welchem Alkalien herausdiffundiren, so dass rother Zellsaft blau gefärbt wird (vgl. pag. 14, 20 und 36), die Niederschlagsmembran erst entsteht. So lange wir jedoch über die Natur der im Zellsaft gelösten und leicht ausfällbaren Stoffe nicht näher unterrichtet sind, wird sich die Frage, wie solche Niederschlagsmembranen um den Zellsaft entstehen, nicht lösen lassen, die Thatsache, dass jeder einzelne Zellsafttropfen mit einer Membran umgeben wird, genügt, um die Vacuolenwand als Niederschlagsmembranen zu kennzeichnen.

Für die lebende Zelle genügt die Membranbildung durch das Plastin, welche Erklärung mit den gegebenen Thatsachen der Plasmabewegung etc. besser übereinstimmt, als wenn wir eine eigene Vacuolenwand annehmen, wie sie De Vries angibt. Nach meiner Ansicht wird also die Begrenzung des Cytoplasmas auf dieselbe Weise nach Innen, d. h. an der dem Zellsaft zugewendeten Seite bewirkt, als nach aussen. Die Differenzen, welche De Vries zwischen äusserer und innerer Grenzschicht gefunden (die

<sup>1)</sup> H. De Vries, Plasmolytische Studien über die Wand der Vacuolen in Pringsheims Jahrb. f. wiss. Botanik. Bd. XVI, 1885. p. 465 ff.

grössere Widerstandsfähigkeit beim Absterben), beziehen sich also auf den Unterschied zwischen einer schon im lebenden Zustande gegebenen Plasmamembran und einer künstlichen Niederschlagsmembran um den Zellsaft.

Insofern sich meine Untersuchungen vielfach auf das Verhalten des Cytoplasmas verletzter Zellen beziehen, kommt noch die Frage in Betracht, ob wir berechtigt sind, die hier gefundenen Eigenschaften des Plastins auf das Plastin der lebenden Zelle zu übertragen. Ich glaube diese Frage mit ja beantworten zu sollen, indem es sich hier um Entmischungsvorgänge und um die Untersuchung der hierdurch getrennten Stoffe handelt. Es liegt schon im Begriffe der Entmischung, dass sich nur die Art und Weise der Zusammenlagerung ändert, die Beschaffenheit der die ursprüngliche Mischung zusammensetzenden Stoffe jedoch nicht ändert.

Wodurch nun die Entmischung veranlasst wird, ist wieder eine andere Frage, die wir jedoch vorläufig nicht zu beantworten vermögen. Sie findet statt bei stärkerem Druck, beim Anschneiden der Zellen, beim Tod durch Erfrieren, aber auch bei der Einwirkung von Giften, wie z. B. Anilinfarben in starker Verdünnung und verschiedenen Alkaloiden und trotz dieser Mannigfaltigkeit der einwirkenden Agentien bleibt die Erscheinung dieselbe. Man könnte wohl glauben, dass nur die Grenzschichten des Plasmas eine Veränderung erfahren würden, dass sie permeabler für Wasser würden, dagegen spricht jedoch, dass Entmischung schon eingetreten sein kann, ohne dass die Plasmamembran ihre osmotischen Eigenschaften verloren hätte. So bleibt eine Zelle, die man in einer sehr verdünnten Lösung von Methylviolett (0,0002 %) einige Minuten liegen liess, noch vollständig plasmolysirbar und ausdehnungsfähig, ja auch Plasmabewegung ist noch zu beobachten und trotzdem war das Cytoplasma vacuolig geworden, war die Entmischung schon eingetreten. Diese Annahme genügt also nicht.

Die Entmischung tritt auch ein in Zucker und Kochsalzlösungen, welche wesentlich höher concentrirt sind als zur Plasmolyse der Zellen erforderlich ist, es kann sich demnach auch nicht um eine einfache osmotische Wirkung der im Protoplasma gelösten Stoffe handeln. So wären noch verschiedene Möglichkeiten namhaft zu machen, von denen uns jedoch keine befriedigt. Wir müssen daher die aufgeworfene Frage noch unentschieden lassen und uns mit dem Wahrscheinlichkeitsschlusse zufrieden stellen, dass bei dieser Entmischung keine chemische Umwandlung der Componenten dieser Mischung eintritt.

In siedendem Wasser coagulirt das Cytoplasma sofort, es schrumpft dabei sehr beträchtlich und erhält eine mehr oder weniger deutliche Fällungsstruktur. Selbst nach längerem Verweilen in kochendem Wasser treten keine weiteren Umwandlungen ein, das Cytoplastin bleibt unlöslich und ebenso sind an den einmal coagulirten Cytoplasmamassen keine weiteren Aenderungen, wie Vacuolenbildung etc. zu beobachten. Ob ein Austritt von löslichen Substanzen stattfand, war nicht zu entscheiden, da Coagulation allein die Ursache der Volumverminderung sein konnte.

Die in diesem Paragraphen niedergelegten Resultate sind folgende:

Das Cytoplastin quillt in sehr jungen Pflanzentheilen am stärksten, es wird zu einer gleichmässig homogenen oder feinpunktirten Masse.

In älteren Zellen tritt Vacuolenbildung ein, indem sich das Cytoplastin von den löslichen Substanzen sondert.

In sehr alten Pflanzentheilen und bei stärkerem Gerbstoffgehalt der Zellen kann die Quellung und Vacuolenbildung vollständig unterbleiben.

Ausser dem Cytoplastin ist kein Eiweisskörper nachzuweisen (mit Ausnahme der jüngsten Zellen).

Das Cytoplastin liefert das Material zur Bildung der Plasmamembran, d. h. zur Begrenzung des Cytoplasmas nach Aussen und Innen.

Eine chemisch differente Grenzmembran ist nicht nachzuweisen. Das Cytoplastin wird durch heisses Wasser coagulirt, ist demnach unlöslich.

### § 31. Einwirkung von Neutralsalzen verschiedener Concentration auf das Cytoplastin.

Wir haben bei der Einwirkung von Kochsalz, wie bei den übrigen Reactionen zwischen dem Verhalten des Cytoplasmas in unverletzten und verletzten Zellen zu unterscheiden.

Die Contraction lebender Zellen in concentrirteren Lösungen von Kochsalz und anderen Neutralsalzen ist zu allbekannt, als dass ich hierauf noch eingehen müsste. Wir können daraus den Schluss ziehen, dass die Plasmamembran in Neutralsalzen unlöslich ist; dasselbe gilt nun auch von dem übrigen Cytoplastin.

Sobald wir angeschnittene Zellen in 10procentige Kochsalzlösung legen, entsteht ein Niederschlag, der je nach dem, ob das Cytoplastin schon viel oder wenig Wasser aufgenommen hat, feinkörniger oder mehr fibrillär erscheint, entsprechend der Niederschlagsbildung in verdünnteren oder mehr zähflüssigen Substanzen (vgl. § 28).

Die Unlöslichkeit des Plastins macht sich ferner noch in langsam absterbenden Zellen geltend. Lassen wir unverletzte Zellen längere Zeit in einer 10procentigen Kochsalzlösung liegen, so sterben sie ab, es treten dieselben Entmischungsvorgänge ein, wie bei der Wasserwirkung, die Vacuolenbildung wird oft sehr deutlich. Nach längerem Liegen diffundirt etwas Kochsalz in das Cytoplastin, auch wenn die Plasmamembran nicht verletzt ist; durch dieses Kochsalz tritt an dem vacuolig gewordenen Cytoplastin Schrumpfung der Plastintheilchen ein, wodurch unter gleichzeitigem Zusammenfliessen der Vacuolen ein Bild entsteht, das in uns die Vorstellung erweckt, das Cytoplastin bestünde aus einem Gerüst, das von einer Flüssigkeit um-

spielt wäre. Einen derartigen speciellen Fall habe ich auf Taf. VIII, Fig. 187 abgebildet. Die abgezogene Epidermis junger Blätter vom Braunkohl liess ich 24 Stunden in 10 % Kochsalz liegen, die Zellen waren contrahirt und allmählig trat Vacuolenbildung in der hier dargestellten Art und Weise ein. Bemerkenswerth ist dabei, dass die innere Grenzschicht des Plasmas zerstört war und so der gefärbte Zellsaft sich mit der Vacuolenflüssigkeit mischte. Ferner sehen wir, dass das Cytoplastin sich nicht gefärbt hat, es war also noch nicht die Veränderung in demselben vorgegangen, welche das todte Protoplasma tingirbar macht. Die äusserste Schicht des Cytoplasmas war noch unverletzt, wodurch das Auftreten des Farbstoffes hintangehalten wurde. Es handelt sich hier um einen seltener eintretenden Fall, indem für gewöhnlich die innere Grenzschicht des Cytoplasmas ebenfalls erhalten bleibt, und so der Uebertritt des Farbstoffes unterbleibt. Es war mir interessant zu sehen, dass der Farbstoff auch bei dem schon entmischten Cytoplasma nur von der Vacuolenflüssigkeit, nicht aber von dem Plastin aufgenommen wird. Wir sind deshalb wohl zur Annahme berechtigt, dass sich an der ganzen Oberfläche des Plastins ein Coagulationshäutchen gebildet hat.

Blieben derartige Zellen länger in der Kochsalzlösung liegen, so tritt schliesslich Coagulation des ganzen Cytoplastins ein, zugleich wird die äusserste Grenzschicht gesprengt, der Farbstoff tritt aus oder tingirt die unlöslich gewordene Plastinmasse.

Die Entmischung des Cytoplasmas geht in der Kochsalzlösung bedeutend langsamer vor sich, als in Wasser. Wir finden daher bei begimnender Entmischung nur kleine Vacuolen im Cytoplasma, die sich erst allmählich ausdehnen. Ein derartiges Bild gibt uns Taf. VIII, Fig. 188 wieder. Es sind ebenfalls Epidermiszellen von Braunkohlblättern, welche circa 15 bis 20 Stunden in einer 10procentigen Kochsalzlösung gelegen hatten. Im Zellsaft sind grosse Kugeln ausgefällt, die Farbstoff angezogen haben. Ausserdem haben sich im Cytoplasma kleine Vacuolen gebildet, die ebenfalls Farbstoff aufnehmen. Da zu gleicher Zeit alkalische Stoffe aus dem Cytoplasma in diese kleinen Vacuolen übergetreten sind, wird der Farbstoff blau, während er in mehr saurem Zellsaft rothviolett erscheint. Derartige Zellen können bei längerem Verweilen in der Kochsalzlösung in das Fig. 187 dargestellte Stadium übergehen.

Die 10procentige Kochsalzlösung wirkt langsam desorganisirend. Das macht sich nicht nur bei isolirten Zellschichten geltend, sondern auch bei ganzen Pflanzen. Etwas Derartiges hat auf der 59. Naturforscherversammlung in Berlin G. Klebs mitgetheilt, welcher constatirte, dass Algenzellen wohl in concentrirten Zuckerlösungen, aber nicht in Kochsalzlösungen weiter zu leben vermögen. Ebenso konnte ich an *Elodea canadensis* constatiren, dass die Pflanzen zu Grunde gingen, wenn sie längere Zeit in 10% Kochsalz, oder in Kochsalz geringerer Concentration verweilten, was auch eintrat, wenn man die Pflanzen langsam an das concentrirtere Medium gewöhnte.

Man kann die schädliche Wirkung des Kochsalzes höherer Concentrationen aber auch sogleich nach der Einwirkung beobachten. In *Spirogyrazellen* mit jenen feinfädigen Strukturen, wie ich sie auf Taf. V, Fig. 152 abgebildet habe, werden bei der Behandlung mit 10procentiger Kochsalzlösung die Fibrillen sehr bald eingezogen, sie ballen sich zusammen (Taf. V, Fig. 154), bilden kleine Klümpchen, die sich meistens an die Chromatophoren anlehnen und nach einiger Zeit vacuolig werden.

Die analogen Erscheinungen, wie in Kochsalz, treten bei der Behandlung der Zellen mit 10procentiger Lösung von schwefelsaurer Magnesia auf. Ich brauche daher nicht noch besonders hierauf einzugehen. Ich will jedoch als Ergänzung des oben Gesagten auf Fig. 186, Taf. VIII hinweisen, welche uns eine Zelle aus der Blüthe von *Hyacinthus orientalis* vorführt, bei welcher nach der Entmischung im Cytoplasma, sowohl inneren als äusseren Plasmamembran erhalten bleiben, wobei also der Farbstoff des Zellsaftes nicht in die Vacuolen des Cytoplasmas übertritt.

Das Resultat längerer Einwirkung der schwefelsauren Magnesia ist ebenso wie bei 10% Kochsalz, dass vom Cytoplasma das Cytoplastin als coagulirte Masse zurückbleibt.

Das Verhalten des Cytoplasmas gegen 20proc. Kochsalzlösung oder gesättigte Lösung von schwefelsaurer Magnesia und schwefelsaurem Ammoniak bietet keine wesentlichen Unterschiede. Unverletzte Zellen werden sofort plasmolysirt, während in verletzten Zellen das Cytoplastin feinkörnig niedergeschlagen wird. In den unverletzten Zellen erfolgt, wenn auch ungleich schnell, nach einiger Zeit vollständige Coagulation des ganzen Cytoplasmas. In 20proc. Kochsalzlösung und in gesättigtem schwefelsauren Ammoniak erfolgt die Erstarrung etwas langsamer, circa in 20 bis 40 Minuten, während in der bei 40° C. gesättigten Lösung von schwefelsaurer Magnesia die Fällung so schnell vor sich gehen kann, dass die Zellen nicht einmal contrahiren oder doch nur in sehr geringem Grade. Das Cytoplasma zeigt wie in anderen Fixirungsflüssigkeiten ein feinkörniges bis fibrilläres Aussehen. Da die vollständige Coagulation meistens erst nach einiger Zeit eintritt, kann sich nach kurzer Einwirkung der genannten Reagentien bei Zusatz von Wasser das Cytoplasma wieder ausdehnen, bei längerer Berührung ist dies nicht mehr der Fall. Die Vacuolenbildung ist fast vollständig unterdrückt, nur an gefärbten Zellen kann man auch ähnliche Bilder sehen, wie sie uns Fig. 188, Taf. VIII wiedergibt, es handelt sich dann um kleine Vacuolen, die in dem langsam erstarrenden Cytoplasma auftreten.

Bemerkenswerth ist noch, dass in der gesättigten Lösung von schwefelsaurer Magnesia auch dann, wenn das Cytoplasma nicht mehr ausdehnungsfähig war, die osmotischen Eigenschaften der Plasmamembran erhalten blieben, und in Folge dessen der Farbstoff nicht aus dem Zellsaft herausdiffundirte.

Die hier mitgetheilten Reactionen beziehen sich auf folgende Objecte, die auch im Folgenden zur Untersuchung verwendet wurden: Die Epicotyle

von *Vicia faba*, *Vicia sativa* und *Pisum sativum*, das Hypocotyl von *Lupinus luteus*, die Blumenblätter von *Hyacinthus orientalis* und die Blätter von *Brassica oleracea* var. *crispa*.

Die in Bezug auf das Cytoplastin festgestellten Thatsachen sind folgende:

Das Cytoplastin ist unlöslich in 10 % Kochsalz und 10 % schwefelsaurer Magnesia, in welchen Lösungen es jedoch nur sehr langsam coagulirt, wenn die Zellen unverletzt sind. Schnell erfolgt die Fällung bei verletzten Zellen.

In 20% Kochsalz, sowie in den gesättigten Lösungen von schwefelsaurer Magnesia und schwefelsaurem Ammoniak erfolgt die Fällung und Coagulation binnen kurzer Zeit.

### § 32. Einwirkung von phosphorsauren Alkalien, Kalkwasser und freiem Alkali auf das Cytoplasma.

#### Verhalten gegen $\text{KH}_2\text{PO}_4$ .

Wir haben im zweiten Kapitel gesehen, dass sich die Substanz der Chlorophyllkörper ziemlich indifferent gegen Monokaliumphosphat verhält. Dasselbe gilt von dem Cytoplasma. Unverletzte Zellen bleiben in einer 1 procentigen Lösung so lange unverändert erhalten, als dies bei Zellen, die aus ihrem Gewebeverbande gerissen sind, überhaupt möglich ist. Erst nach 2—3 Tagen wurden sie desorganisirt, das hätte aber auch in jeder anderen indifferenten Flüssigkeit stattgefunden. In verletzten Zellen fand Quellung des Cytoplasmas statt, das sich jedoch nicht löst, sondern in einen feinkörnigen Niederschlag verwandelt wurde.

Auch in höher concentrirten Lösungen, 5 % und 20 %, werden die unverletzten Zellen in normaler Weise plasmolysirt, ohne dass die Protoplaste ihre Ausdehnungsfähigkeit sobald verlieren würden. In verletzten Zellen wird das Cytoplastin niedergeschlagen, die Form dieses Niederschlags richtet sich nach der Concentration und Quellungsfähigkeit des Cytoplasmas. Die Fällung geschieht nicht momentan, das Cytoplastin quillt vielmehr noch etwas auf, wird dann jedoch niedergeschlagen. Die Bildung von Vacuolen habe ich nicht beobachtet. Wir können also sagen, das Cytoplastin ist in  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  unlöslich, aber etwas quellbar, nach einiger Zeit wird es gefällt.

#### Verhalten gegen $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ .

Dinatriumphosphat erhöht die Quellbarkeit des Cytoplasmas sehr bedeutend. Diese Wirkung macht sich jedoch erst bei höheren Concentrationen geltend. Bringt man unverletzte Zellen in eine 1 procentige Lösung, so bleiben dieselben unverändert. Die Plasmamembran ist also, wenn wenig  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  einwirkt, unlöslich. Dies ist besonders aus dem Grunde bemerkenswerth, weil hierdurch bewiesen ist, dass auch bei dem Vorhandensein alkalischer Stoffe die Existenz und die Bildung der Plasmamembran möglich ist.

Bei längerem Liegen (circa 20 Stunden) wird etwas Dinatriumphosphat in die unverletzten Zellen aufgenommen, was man an der Blaufärbung des rothen oder rothvioletten Zellsaftes erkennt (Hyacinthe, rothe Zellen von *Vicia sativa*, Epidermis der Blattunterseite von *Calathea sp.*), ohne dass hierdurch die Plasmolysirbarkeit der Zellen aufgehoben würde. Bei längerem Verweilen (48 Stunden) nimmt jedoch die Quellung des Cytoplasmas zu, es wird in eine sehr feinkörnige durchsichtige Gallerte verwandelt und nur die Grenzschicht um den Zellsaft erhält sich noch länger.

Aus dem Erhaltenbleiben einer solchen Grenzschicht darf man jedoch noch nicht auf das Vorhandensein in der lebenden Zelle schliessen, indem erst durch die Berührung des Zellsaftes mit dem Dinatriumphosphat eine analoge Niederschlagsmembran gebildet sein konnte (vgl. pag. 168).

In den verletzten Zellen ist die Quellbarkeit des Cytoplasmas etwas gesteigert und ich halte es nicht für unmöglich, dass theilweise sogar Lösung erfolgt, so bei *Vicia faba*, *Lupinus luteus* und *Vicia sativa*, in den übrigen Fällen wurde das Cytoplasma in eine sehr durchsichtige, feinpunktirte Gallerte umgewandelt.

In 5%  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  tritt bei unverletzten Zellen für kurze Zeit Plasmolyse ein, die jedoch nicht lange anhält, indem das Cytoplasma stark aufquillt. Anfangs ist es noch feinkörnig, bald darauf wird es homogen, so dass man wohl auf Lösung des Cytoplastins schliessen darf. Sind wie z. B. bei der Hyacinthe in Cytoplasma kleine Körnchen vorhanden, so zeigen dieselben Brown'sche Körnchenbewegung, was ebenfalls auf Lösung hinweist. Die Niederschlagsmembran um den Zellsaft bleibt häufig erhalten, der Zellsaft selbst zerfällt meist in einzelne Kugeln, die sich dann wiederum mit einer Niederschlagsmembran umgeben.

Da die Zellen in kurzer Zeit getödtet werden, macht sich zwischen verletzten und unverletzten Zellen kein Unterschied geltend.

Die 20 procentige Lösung von Dinatriumphosphat wirkt wie die 5 procentige, nur tritt hier keine Lösung ein, das Cytoplasma wird vielmehr in einen sehr durchsichtigen und feinkörnigen, voluminösen Niederschlag verwandelt. Es ist dies nichts auffallendes, indem sehr viele Proteinkörper von verdünnteren Salzlösungen und freien Alkalien aufgenommen werden, während hochconcentrirte Lösungen sie fällen.

### Verhalten gegen Kalkwasser.

Kalkwasser tödtet die Zellen sogleich und verwandelt das Cytoplasma in einen feinkörnigen, voluminösen Niederschlag, ohne dass sich Vacuolen oder fibrilläre Fällungen bilden würden. Die Plasmamembran wird ebenfalls sofort zerstört, so dass also kein Unterschied zwischen verletzten und unverletzten Zellen besteht. Da das Cytoplastin sich niemals löst, jedoch sein Volumen unter dem Einfluss des Kalkwassers stark vergrößert, müssen wir dasselbe als quellbar in Kalkwasser bezeichnen.

Verwenden wir eine Auflösung von Zucker in Kalkwasser, so erfolgt,

gemäss der schädlichen Einwirkung dieses Reagenz, keine Plasmolyse. Eine Niederschlagsmembran aus dem Zellsaft entstand nicht, ebenso trat keine Ausfällung von Kugeln etc. in dem Zellsaft ein.

### Verhalten gegen Kalilauge.

Kalilauge tötet die Zellen auch schon bei grösserer Verdünnung. Ein Theil concentrirte Kalilauge auf 1000 Theile Wasser, der Kürze halber bezeichne ich dies als die 0,1 procentige Kalilauge, genügt, um das Cytoplasma zum Aufquellen zu bringen, ohne dass sich hierbei jedoch Vacuolen bilden. Theilweise löst sich das Cytoplastin schon bei dieser Concentration (*Vicia faba* und *Vicia sativa*), wo dies nicht geschieht, quillt es zu einer ganz durchsichtigen Gallerte auf. (*Lupinus*, *Pisum*, *Hyacinthus*, *Brassica*.) Die Plasmamembran bleibt also auch in so verdünnter Lösung nicht erhalten, was die Anwesenheit von freiem Alkali in dem lebenden Cytoplasma ausschliesst.

Bei geringer Steigerung des Kaligehaltes, in 1 procentiger Lösung, erfolgt in sehr vielen Fällen vollständige Lösung des Cytoplastins mit vorangehendem Aufquellen. Man kann jedoch auch häufig beobachten, dass das Cytoplastin nur sehr stark aufquillt, es wird in eine vollständig durchsichtige Gallerte verwandelt, die auf Zusatz von Essigsäure gefällt wird und stark schrumpft. Die Lösung des Cytoplastins unterbleibt namentlich in alten Zellen, z. B. in Holzgefässen mit dünnem Plasmabelag, alten Markparenchymzellen, ferner aber noch bei bedeutendem Gerbstoffgehalt der Zellen (Knospen von *Aesculus hippocastanum*, Blättern von *Quercus*. Geringerer Gerbstoffgehalt z. B. bei *Lupinus* verhindert die Lösung nicht.

Concentrirte Kalilauge löst das Cytoplastin nicht auf, wenn es auch die Organisation des Cytoplasmas zerstört. Ich beobachtete sogar Zellen, welche in normaler Weise plasmolysirt waren (*Pisum*, *Lupinus*). Lange hält dieser plasmolysirte Zustand jedoch nicht an, das Cytoplasma quillt, wenn auch bedeutend weniger, als in verdünnter Kalilauge. Es kann hier auch Vacuolenbildung eintreten, so dass wir Bilder wie Fig. 174, Taf. VII erhalten. Nach einiger Zeit wird die Vacuolenwandung aber auch in diesem Falle undeutlicher, so dass wir schliesslich eine feinpunktirte Gallerte erhalten. Lösung tritt selten ein und auch nur in unverletzten Zellen.

Ich glaube, dass durch die concentrirte Kalilauge eine Zersetzung des Cytoplastins eintritt, bei welcher entweder wie bei der concentrirten Lauge eine Gallerte von Kalialbuminat oder wie bei wenig concentrirter Lauge lösliches Kalialbuminat gebildet wird. Derlei Modificationen sind bei der Umwandlung der Proteinstoffe durch Kalilauge längst bekannt. Für die Zersetzung des Plastins spricht auch die Angabe von Löw, dass nach Behandlung mit Kalilauge das Cytoplasma die Biuretreaction zeigt, während dies vorher nicht der Fall ist. Auch andere Reactionen, wie Fällbarkeit durch Säuren, die Nichteoagulierbarkeit beim Erwärmen stimmen mit der Auffassung überein, dass das Plastin in eine dem Alkaliaalbuminat ähnliche Verbindung umgewandelt wird.

Wir können also resumiren:

In  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  wird das Cytoplastin gefällt, doch bleibt es noch längere Zeit quellungsfähig.

In  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  höherer Concentration wird es gelöst, eine sehr geringe Menge dieses Salzes wirkt wie Wasser. In gesättigter Lösung quillt das Cytoplastin auf.

Kalkwasser bringt Cytoplastin zum Quellen, löst es aber nicht.

Verdünnte Kalilauge löst das Cytoplastin oder bringt sehr starkes Aufquellen hervor.

Concentrirte Lauge verwandelt es zumeist in eine Gallerte, sehr wahrscheinlich unter Umwandlung in eine dem Alkalialbuminat ähnliche Verbindung.

### § 33. Einwirkung von freien Säuren auf das Cytoplasma.

Wenn ich im Folgenden auch nur das Verhalten des Cytoplasmas gegen Essigsäure und Salzsäure näher besprochen habe, so möchte ich doch nicht unerwähnt lassen, dass das Cytoplastin in fast allen Säuren, namentlich den Mineralsäuren unlöslich ist und sich zu gleicher Zeit durch grosse Widerstandsfähigkeit gegen dieselben auszeichnet. Durch einigermassen concentrirte organische Säuren, wie Ameisensäure, Citronensäure und Picrinsäure wird es leicht fixirt. Seine Unlöslichkeit erstreckt sich aber auch auf concentrirte Mineralsäuren, wie Salpetersäure, Chromsäure, Osmiumsäure und Schwefelsäure. Die letztere wird bekanntlich benutzt, um den Zusammenhang der einzelnen Protoplaste verschiedener Zellen nachzuweisen, und dies ist nur möglich, indem sich das Cytoplastin als unlöslich in dieser Säure erweist. Mir sind aber auch Fälle vorgekommen, in welchen das Cytoplasma selbst in Schulze'scher Macerationsflüssigkeit erhalten blieb. Es gilt dies besonders von coagulirtem Cytoplasma und dem in älteren Bast- und Parenchymzellen vorhandenen Resten. Da es mir hier nur um die Charakterisirung und den Vergleich der einzelnen im Zellinhalt vorkommenden Proteinstoffe zu thun ist, will ich auf diese Verhältnisse nicht näher eingehen. Ich wende mich daher zu den schon früher angewendeten Säuren.

#### Verhalten gegen Essigsäure.

Im Wesentlichen verhält sich das Cytoplasma gegen Essigsäure wie die fibrilläre Substanz der Chlorophyllkörper. Schon sehr verdünnte Essigsäure (0,2%) wirkt fixirend, das Cytoplastin wird jedoch nicht sofort unlöslich in Wasser, wodurch bedingt ist, dass feinere Struktureigenthümlichkeiten sehr häufig verwischt werden. Legt man z. B. Blätter von *Mnium undulatum*, welche die auf Taf. V, Fig. 153 wiedergegebenen Cytoplasmafäden zeigen, in eine derartig verdünnte Essigsäure, so laufen nach circa 20 Minuten die Körnchen der Fäden zu grösseren Kugeln zusammen, dann werden die Fäden selbst zerstört und ballen sich in der Mitte der Zellen haufenförmig

zusammen. Dieselben Umwandlungen finden in 1 procentiger Essigsäure statt. In kompakteren Cytoplasmakörpern treten jene Fällungsformen, Körnchen oder Fibrillen auf, welche der Consistenz des Cytoplasmas entsprechen. Die Niederschläge sind jedoch nicht so deutlich, erscheinen weniger undurchsichtig und compact als bei der Fixirung mit Alkohol oder Flemming'scher Mischung. Ist Farbstoff im Zellsaft vorhanden, so diffundirt derselbe nach  $\frac{1}{4}$  —  $\frac{1}{2}$  stündigem Liegen heraus, zu gleicher Zeit wird das Cytoplasma tinktionsfähig.

Diesem schädigenden Einfluss selbst so verdünnter Säure entspricht die Erfahrung, dass Pflanzen in Wasserculturen, welche auch nur eine sehr geringe Menge freier Säure enthalten, nicht gedeihen. Ausnahmen hiervon kommen vor und zwar scheinen nicht alle Säuren gleich schädlich zu wirken, manche Pflanzen besonders wenig empfindlich zu sein. So gedeiht z. B. *Penicillium* noch sehr gut in einer Nährlösung, welche selbst  $\frac{1}{2}$  % Phosphorsäure enthält.

In angeschnittenen Zellen erzeugt die 0,2 procentige Essigsäure einen feinkörnigen Niederschlag, aber keine Fibrillen, was dadurch zu erklären ist, dass während des Uebertragens das Cytoplasma durch die Aufnahme von Zellsaft etwas quillt, also verdünnter wird; in derartig verdünnten Lösungen erzeugen Fällungsmittel immer nur feine Niederschläge.

Vacuolenbildung konnte ich weder an verletzten noch an unverletzten Zellen beobachten. Es ist dies wesentlich, da wir bei den Chlorophyllkörpern vermöge ihrer Zusammensetzung aus zwei verschiedenen Proteinstoffen häufig die Trennung von Fibrillen und Zwischensubstanz beobachten konnten, welche schliesslich zur Vacuolenbildung führte. Das Cytoplasma dagegen lässt eine derartige Zusammensetzung nicht erkennen. Vacuolen zeigen sich nur dann im Cytoplasma, wenn wir zuerst einige Minuten die Schnitte in Wasser und dann erst in verdünnte Essigsäure legen, in welchem Falle das Cytoplastin unlöslich wird.

Die 1 procentige Essigsäure wirkt wie die von 0,2 %, nur dass die Fixirung etwas schneller vor sich geht. Dasselbe gilt auch noch von der 3 procentigen Lösung, nur ist die Fixirung hier etwas unvollständiger, indem das Cytoplastin schon etwas quellbar ist.

Concentrirte Essigsäure, Eisessig und 50 %, verwandeln das Cytoplasma in eine sehr feinkörnige, durchsichtige Gallerte unter gleichzeitiger Volumvergrößerung. Das Aufquellen erfolgt bald nach dem Zutritt der Essigsäure, Vacuolenbildung findet niemals statt. Das Cytoplastin quillt selbst so stark, dass keine Entmischung stattfindet. Die Quellung ist jedoch immer eine beschränkte, bei der niemals Lösung erfolgt. Ein Unterschied zwischen verletzten und unverletzten Zellen ist nicht zu beobachten.

### Verhalten gegen Salzsäure.

Eine Lösung, die 0,01 % concentrirte Salzsäure enthält, wirkt ganz wie Wasser.

Die 0,1 procentige Salzsäure tödtet die Zellen, ohne das Cytoplasma jedoch immer gut zu fixiren. Das Letztere geschieht, wenn im Zellsaft Gerbstoff vorhanden ist, der zur Wirkung auf das Plastin gelangt, sobald das Cytoplasma durch die Tödtung mit Salzsäure durchlässiger gemacht worden ist. Fehlt Gerbstoff, so quillt das Cytoplasma unverletzter Zellen etwas auf, ohne sich jedoch zu lösen. In verletzten Zellen entsteht ein sehr feinkörniger, voluminöser Niederschlag.

In 1% Salzsäure findet meist nur geringe Quellung statt, das Cytoplasma kann sogar schrumpfen (*Lupinus, Vicia faba*), ohne dass jedoch hier eine fibrillär-körnige Fällung stattfinden würde. Eine bemerkenswerthe Erscheinung konnte ich bei *Vicia sativa* beobachten. Das Cytoplasma zeigte hier geringe Quellung, bei welcher jedoch die äussere Grenzschiebt ein besonderes Verhalten aufwies. Dieselbe wurde wellig gebogen und zum Theil ragte sie in das übrige Cytoplasma hinein. Dieses Zusammenfallen der äusseren Grenzschiebt in unverletzten Zellen muss auf einer besonderen Quellungsfähigkeit derselben beruhen. Das Zusammenfallen kommt nur in unverletzten Zellen zu Stande, indem durch die Zellwand die unbeschränkte Flächenausdehnung des quellenden Cytoplastins verhindert wird. Es wäre möglich, dass diese Erscheinung mit der Zellwandverdickung in Zusammenhang zu bringen wäre, indem die äussersten Schichten des Cytoplastins schon eine chemische Veränderung erlitten hätten. Meine Erfahrungen sind jedoch zu gering, um eine derartige Anschauung positiv zu begründen.

In verletzten Zellen wird das Cytoplastin feinkörnig niedergeschlagen.

Im Gegensatz zu der unvollständigen Fällung durch verdünnte Salzsäure steht das Verhalten gegen 20procentige und hochconcentrirte Säure. In unverletzten Zellen schrumpft der ganze Cytoplastinmasack. Das Cytoplastin quillt nicht, zeigt theilweise auch körnig-fibrilläre Fällungsstrukturen, die jedoch meistens nicht sehr deutlich hervortreten. In den verletzten Zellen wird das Plastin körnig niedergeschlagen, der Niederschlag ist nicht so voluminös als bei verdünnter Salzsäure. Vacuolenbildung fand nicht statt. Das Cytoplastin ist unlöslich in concentrirter Salzsäure.

Das Verhalten des Cytoplastins kurz zusammengefasst: Verdünnte Essigsäure fällt das Plastin, concentrirte bringt es zum Aufquellen, niemals zur Lösung.

In verdünnter Salzsäure ist es unlöslich, theilweise quillt es auf, in concentrirter Salzsäure wird es ohne Aufquellen gefällt.

### § 34. Einwirkung einzelner Metallverbindungen auf das Cytoplasma.

Ferrocyankalium in derselben Mischung mit Essigsäure, wie wir es auf die Zellkerne einwirken liessen, ist für das Cytoplasma direkt als Fixirungsflüssigkeit zu gebrauchen. Es entstehen an der unverletzten Zelle ganz dieselben Niederschläge, wie z. B. durch Flemming'sche Mischung

oder andere Fixirungsflüssigkeiten. Die übwillenartigen Formen des Niederschlages sind sehr gut zu sehen. Diese künstlichen Fällungsstrukturen treten sogar sehr deutlich hervor (vgl. Taf. V, Fig. 161, Epidermizelle einer Hyacinthenblüthe). Das Cytoplasma verändert sich beim Kindegen in Wasser nicht weiter.

Bis zu einem gewissen Grade bleibt auch die Beschaffenheit der Plasmamembran gewahrt, die Farbstoffe diffundiren nur langsam heraus, erst nach einer Viertelstunde entweichen sie aus der Zelle, unter vorausgehender Rothfärbung durch die Essigsäure.

In der verletzten Zelle entsteht ebenfalls ein Niederschlag, der feinkörnig punktiert ist, oder wenn durch vorhergehende Wasserwirkung Vacuolen gebildet waren, aus einer feinkörnigen Masse besteht, in welcher Flüssigkeit enthaltende Kreise eingebettet sind.

Die analogen Fällungserscheinungen erhalten wir, wenn wir die angegebene Lösung mit dem 3—4fachen Volumen Wasser vermischen.

Ueber die Färbung des mit angesäuerten Ferricyankaliumlösung behandelten Cytoplasmas bei Zusatz von Eisensalzen habe ich mich schon früher (pag. 126) geäußert.

In hinreichend concentrirter Lösung von schwefelsaurem Kupfer werden, wie in concentrirten Neutralsalzlösungen die unverletzten Zellen plasmolysirt. Hat das schwefelsaure Kupfer nur sehr kurz eingewirkt, so sind die Zellen auch wieder in Wasser ausdehnbar. Enthielt der Zellsaft Farbstoff, so entweicht dieser nicht. Nach einigem Verweilen in dem schwefelsauren Kupfer hat das Cytoplasma seine Fähigkeit, sich in Wasser wieder auszudehnen, verloren, es wird bei Zusatz von Wasser einfach gesprengt, in welchem Falle auch der Farbstoff heraus diffundirt. Bei längerer Berührung mit schwefelsaurem Kupfer wird also das Cytoplastin gefällt. Dasselbe geschieht sofort, wenn wir verletzte Zellen untersuchen, es bildet sich hier ein mehr oder weniger feinkörniger Niederschlag.

Ferrum solubile bringt das Cytoplasma zum Quellen, ohne dass es jedoch lösend wirkt. Dabei bleibt die Niederschlagsmembran um den Zellsaft erhalten. Die letztere ist undurchlässig für Gerbstoff, welche Eigenschaft wir dazu benützen können, um uns von der Thatsache zu überzeugen, dass das Cytoplasma keinen Gerbstoff enthält, die Eisenlösung dringt in das Cytoplasma ein, färbt es aber nicht schwarz.

Ich beobachtete in einigen Fällen, dass bei etwas concentrirterer Eisenlösung im ersten Moment der Einwirkung Plasmolyse auftrat, bald jedoch wurde dieser plasmolysirte Zustand dadurch verändert, dass das Cytoplasma aufquoll.

Doppelchromsaures Kali verhält sich ungefähr wie schwefelsaures Kupfer. Auch hier tritt bei der nothwendigen Concentration Plasmolyse ein, nach kurzer Einwirkung sind die Zellen noch ausdehnbar, später wird jedoch das Cytoplastin gefällt. Die Niederschlagskörnerchen und Fibrillen treten nicht immer sehr deutlich hervor. In verletzten Zellen wird das Plastin sogleich niedergeschlagen.

Aus dem Gesagten folgt:

Das Cytoplastin wird durch Ferrocyankalium mit Essigsäure sofort niedergeschlagen, langsamer erfolgt das Unlöslichwerden in schwefelsaurem Kupfer und doppelchromsaurem Kali, in Ferrum solubile ist das Cytoplastin quellbar.

### § 35. Einwirkung von Verdauungsfermenten auf das Cytoplasma.

Sowohl bei der Einwirkung von Pepsin als von Trypsin bleibt vom Cytoplasma ein unverdaubarer Rest zurück, der auch bei sehr langer Dauer der Verdauung sich nicht weiter verändert. Es ist vollständig gleichgültig, ob wir Alkoholmaterial oder frische Objecte der Verdauung unterwerfen. Die zurückbleibende Masse bildet einen kleinen geschrumpften Sack, der beträchtlich weniger Substanz darstellt, als das Cytoplasma der lebenden Zelle. Verursacht ist diese Volumverminderung aber nicht durch die Verdauung des Cytoplastins, sondern einerseits durch das Schrumpfen desselben, andererseits durch die Entfernung aller löslichen Stoffe.

Es bleibt nach der Verdauung ungefähr ein gleich grosser Rest zurück, als bei der Behandlung verletzter Zellen mit Wasser bei nachfolgender Behandlung mit Alkohol. Dasselbe Schrumpfen, das der Alkohol hervorruft, wird bei den Verdauungsversuchen durch den hier stattfindenden Coagulationsprocess bedingt, welcher sich sowohl in so schwach saurer als neutraler Lösung abspielt. Ich glaube also, dass man nicht berechtigt ist, aus der Abnahme des Volumens auf die Anwesenheit eines verdaubaren Proteinstoffes im Cytoplasma zu schliessen.

Der geschrumpfte Rest zeigt keinerlei deutliche Strukturen.

Verfolgt man die Verdauung an vorher in Wasser aufgequollenem Cytoplasma, das mit Alkohol fixirt wurde, so sieht man, dass die Vacuolenwand unverdaubar ist. Bei längerer Einwirkung collabiren die Vacuolen, weshalb man an den schliesslich zurückbleibenden Verdauungsresten dieselben nicht mehr zu finden vermag.

Lässt man eine vollständig neutrale Trypsinlösung auf unverletzte lebende Zellen wirken, so findet nach einiger Zeit Entmischung des Cytoplastins statt, es können unter dem schädlichen Einflusse des Fermentes Vacuolen entstehen, die schliesslich verschwinden und den soeben beschriebenen strukturlosen Plastinsack zurücklassen. Zugleich geht daraus hervor, dass die Plasmamembran in dem Verdauungsferment ebenfalls desorganisirt wird und ihre osmotischen Eigenschaften verliert. Dies muss jedoch nicht durch die Lösung derselben bedingt sein, da auch bei der Desorganisation durch fällende Stoffe, z. B. durch 1 procentige Essigsäure die osmotischen Eigenschaften in gleicher Weise verloren gehen. Folglich beweisen diese Verdauungsversuche nichts gegen unsere Annahme, dass die Plasmamembran aus unverdaubarem Plastin bestünde. Wurzeln höherer Pflanzen gehen in Folge dieser Zerstörung zu Grunde, wenn man sie in einer sonst indifferenten Flüssigkeit, die jedoch Trypsin enthält, cultiviren will.

Anders verhalten sich Bacterien, die ungestört in Verdauungsflüssigkeiten fortkommen. Dieselben sind vielleicht durch eine undurchlässige Membran vor der Einwirkung der Fermente geschützt. Es ist dies eine leicht begreifliche Erscheinung, da ja bei der Fäulniss direkt peptische Fermente ausgeschieden werden.

In Uebereinstimmung mit der Einwirkung der Fermente steht die Thatsache, dass auch bei der Fäulniss höherer Pflanzentheile in den Zellen ein unverdaubarer Plastrerest zurückbleibt, der eben von jenen Stoffen nicht angegriffen wird, welche Bacterien zur Lösung der Proteinstoffe ausscheiden.

Für die grosse Widerstandsfähigkeit des zurückbleibenden Cytoplastins sprechen auch die von E. Zacharias<sup>1)</sup> angegebenen Wirkungen einzelner Reagentien. Concentrirte Salzsäure oder Salpetersäure lassen es unverändert, in verdünnter Sodalösung und phosphorsaurem Natron tritt Quellung ein, aber keine Lösung, ebenso ist die Quellung in etwas concentrirterer Kochsalzlösung gering, in destillirtem Wasser bleiben die Verdauungsreste unverändert und nur verdünnte Kalilauge wirkt lösend. Wir sehen, es sind im Wesentlichen dieselben Reactionen, wie am unverdauten Plastrin, nur dadurch modificirt, dass wir es hier mit einem Coagulationsproduct zu thun haben.

Kurz resumirt, das Cytoplastin widersteht sowohl der Pepsin-, als der Trypsinverdauung.

---

<sup>1)</sup> Botanische Zeitung 1881 p. 172 ff. Man findet hier auch genaue Angaben über die Pepsinverdauung.

## Kapitel V.

### Die Reactionen und Eigenschaften der Proteinstoffe.

Ich beabsichtige in diesem Kapitel die Eigenschaften der in den Pflanzen gefundenen Proteinkörper kurz zusammen zu fassen und einen Vergleich zwischen den einzelnen Stoffen anzustellen. Andererseits wollte ich die Frage erledigen, in wie weit sich die in der Pflanze gefundenen Stoffe in ihren Eigenschaften mit den von den Chemikern dargestellten Körpern decken. Zu diesem Zwecke habe ich, die von Hoppe-Seyler gegebene Classification der Proteinkörper im Wesentlichen acceptirend, die Reaction dieser Stoffe ausführlich wiedergegeben. Die meisten Reactionen habe ich selbst geprüft, ausserdem jedoch eingehend die in der Litteratur vorliegenden Angaben verworther. Ich glaubte mit dieser Zusammenstellung zur Klärung der Ansichten auf diesem Gebiete beitragen zu können, da wir speciell in der botanischen Litteratur keine derartige Zusammenfassung besitzen. Nach den bisherigen Erfahrungen erscheint es gerechtfertigt, die sich bei der Untersuchung der thierischen Proteinstoffe ergebende Classification direkt auf die pflanzlichen Proteinstoffe zu übertragen, da es sich hier um Gruppen verwandter, wenn auch nicht identischer Substanzen handelt.

#### § 36. Eigenschaften und Vergleich der in den Pflanzen gefundenen Proteinstoffe <sup>1)</sup>.

Zur leichteren Orientirung stelle ich in den folgenden Tabellen die Reactionen der Proteinkörper zusammen. Als „quellbar“ sind die Stoffe bezeichnet, wenn sie ihr Volumen vergrössern, ohne sich zu lösen, als „unlöslich“, wenn eine derartige Volumvergrösserung nicht eintritt, die Substanzen durch das Reagenz die Fähigkeit, bei Zutritt von Wasser aufzuquellen, erst nach längerer Zeit verlieren. In diese Kategorie sind also vorzüglich jene Stoffe zu stellen, welche die Proteinkörper in demselben Zustande lassen wie sie in der Pflanze vorkommen, ohne dass jedoch hierher nur indifferente Stoffe gehören. Der Ausdruck „gefällt“ bezeichnet, dass die Stoffe sogleich oder doch binnen kurzer Zeit durch das Reagenz so verändert werden, dass ein Aufquellen in Wasser nicht mehr eintritt. Wir haben also in dem Verhalten der Proteinkörper gewissermaassen gradweise Differenzen zu registriren: löslich — quellend — unlöslich — gefällt. War das Verhalten eines Stoffes nicht genau zu präcisiren, so sind die Grenzen der Reaction durch zwei Ausdrücke wiedergegeben. Steht ein Ausdruck in Klammern neben einem anderen, so bedeutet dies, dass manchmal die in der Klammer angegebene Reaction, zumeist jedoch die andere, eintritt.

1) Ausser den angeführten Stoffen kommen in der Pflanze noch andere vor, die ich bisher jedoch nicht näher untersucht und daher an dieser Stelle nicht weiter berücksichtigt habe.

	Cytoplasma		Chlorophyllkörper	
	Cytoplastin		Chloroplastin (Fibrillensubstanz)	Metaxin (Zwischensubstanz)
Wasser .....	unlöslich—quellend später coagulirend		unlöslich—quellend später coagulirend	quellend — löslich
Kochsalz..... 10 %	unlöslich		unlöslich	quellend
— ..... 20 %	unlöslich (später gefällt)		unlöslich (später gefällt)	unlöslich
Schwefelsaure Magnesia ..... gesättigt	unlöslich		unlöslich	unlöslich
Schwefelsaures Ammon ... gesättigt	unlöslich		unlöslich	unlöslich
Monokaliumphosphat ..... 1 %	unlöslich (wie Was- ser)		unlöslich (quellend, wie Wasser)	quellend — löslich (wie Wasser)
— ..... 5 %	unlöslich		unlöslich	wenig quellbar
— ..... 20 %	unlöslich		unlöslich	unlöslich
Dinatriumphosphat 1 %	unlöslich (quellend)		quellend	stark quellend
— ..... 5 %	stark quellend — löslich		unlöslich (wenig quellend)	quellend
— ..... 20 %	quellend		unlöslich	unlöslich
Kalkwasser .....	quellend		quellend	quellend — löslich?
Kalilauge ..... 0,1 %	löslich — stark quellend		stark quellend	stark quellend — löslich?
— ..... 1 %	löslich — stark quellend		stark quellend	stark quellend — löslich?
— ..... concentrirt	unlöslich (wenig quellend)		unlöslich — wenig quellend	unlöslich — wenig quellend
Essigsäure .... 0,2 %	gefällt		gefällt	quellend
— ..... 1 %	gefällt		gefällt	quellend
— ..... 3 %	unlöslich — wenig quellend		quellend	stark quellend
— ..... 50 %	quellend	Umwand- lung in eine Gallerte.	quellend	quellend
— ..... concentrirt	quellend		quellend	quellend
Salzsäure ..... 0,1 %	unlöslich (theils quellend)		quellend	quellend oder löslich
— ..... 1 %	unlöslich gefällt		stark quellend	stark quellend
— ... 20 % u. conc.	unlöslich (gefällt)		unlöslich gefällt	unlöslich (?)
Ferrocyankalium + Es- sigsäure .....	gefällt		gefällt	gefällt
Schwefelsaures Kupfer	unlöslich, dann ge- fällt		unlöslich gefällt	unlöslich gefällt
Doppelchromsaures Kali..... concentrirt	quellend		quellend	quellend
Ferrum solubile.....	quellend		quellend	quellend
Pepsinwirkung .....	nicht verdaubar		nicht verdaubar	verdaubar
Trypsinwirkung .....	nicht verdaubar		nicht verdaubar	verdaubar
Tingirbarkeit .....	gering		gering	gering

	<b>K e r n</b>		
	<b>Chromatin</b>	<b>Linin</b> (Gerüstsubstanz)	<b>Paralinin</b> (Zwischensubstanz)
Wasser 1) .....		—	—
Kochsalz 2) .....	löslich	löslich	löslich
..... 20 %	löslich	quellend	quellend
Schwefelsäure Magnesia .....	löslich	unlöslich — wenig quellend	quellend (unlöslich?)
..... gesättigt			
Schwefelsaures Ammon .....	schwer löslich	unlöslich	unlöslich
..... gesättigt			
Monokaliumphosphat .....	löslich	unlöslich	löslich (?)
..... 1 %			
— .....	löslich	unlöslich	quellend (löslich?)
..... 5 %			
..... 20 %	schwer löslich	unlöslich (quellend)	quellend (?)
Dinatriumphosphat 1 %	löslich	quellend, dann löslich	quellend, dann löslich
..... 5 %	löslich	löslich	löslich
..... 20 %	löslich	quellend, dann löslich	quellend, dann löslich
Kalkwasser .....	löslich	langsam löslich	löslich
Kalilauge .....	löslich	löslich 3)	löslich
..... 1 %	löslich	löslich	löslich
— .....	löslich	löslich (quellend)	löslich
concentrirt			
Essigsäure .....	gefällt	gefällt	gefällt
..... 0,2 %			
— .....	gefällt	gefällt	gefällt
..... 1 %			
— .....	gefällt	gefällt	gefällt
..... 3 %			
..... 4) .....	unlöslich	quellend	quellend
..... 50 %			
— 4) .....	quellend, partiell unlöslich	quellend	quellend
concentrirt			
Salzsäure .....	unlöslich	unlöslich	unlöslich
..... 0,1 %			
— 5) .....	unlöslich	unlöslich — quellend	unlöslich — quellend
..... 1 %			
— 6) .....	unlöslich	unlöslich	unlöslich
..... 20 % u. conc.			
Ferrocyankalium + Essigsäure .....	löslich	unlöslich	unlöslich
Schwefelsaures Kupfer .....	langsam löslich	unlöslich (gefällt)	unlöslich (gefällt)
..... concentrirt			
Doppelchromsaurer Kali .....	unlöslich	stark quellend	stark quellend
..... concentrirt			
Ferrum solubile .....	langsam löslich	quellend	quellend
Pepsinwirkung .....	nicht verdaubar	nicht verdaubar	verdaubar
Trypsinwirkung .....	sehr leicht verdaubar	verdaubar	verdaubar
Tingirbarkeit .....	intensiv	wenig	wenig.

	K e r n		Anmerkung.
	Pyrenin (Nucleolus)	Amphipyrenin (Membran)	
Wasser <sup>1)</sup> .....			<sup>1)</sup> Verhalten der verschieden. Kerne ungleich.
Kochsalz .....	löslich	schwer löslich	<sup>2)</sup> Durch Wasser veränderte Kerne nicht vollständig löslich.
— .....	unlöslich (durchsichtig werdend)	unlöslich gefällt	
Schwefelsaure Magnesia..... gesättigt	unlöslich	unlöslich	
Schwefelsaures Ammon .....	unlöslich	unlöslich	
Monokaliumphosphat .....	unlöslich	unlöslich	
— .....	unlöslich	unlöslich	
— .....	unlöslich	unlöslich	
Dinatriumphosphat 1 0/0	schwer löslich (löslich)	schwer löslich (löslich)	
— .....	löslich	löslich	
— .....	schwer löslich	schwer löslich	
Kalkwasser .....	quellend (partiell gelöst)	quellend — unlöslich	
Kalilauge .....	schwer löslich	löslich	<sup>3)</sup> Manchmal schwer löslich.
— .....	löslich	löslich	
— .....	löslich	löslich	
Essigsäure..... 0,2 0/0	gefällt	gefällt	<sup>4)</sup> Die Substanzen werden zersetzt.
— .....	gefällt	gefällt	
— .....	quellend	quellend	
— .....	quellend	quellend	
Salzsäure..... 0,1 0/0	unlöslich oder sehr wenig quellend	unlöslich	
— .....	quellend — löslich	quellend — löslich	<sup>5)</sup> Es tritt langsam Zersetzung ein.
— ... 20 0/0 u. conc.	unlöslich	unlöslich	
Ferrocyankalium + Essigsäure .....	gefällt	gefällt	<sup>6)</sup> Bildung einer Gallerte wohl unter Zersetzung.
Schwefelsaures Kupfer .....	unlöslich (gefällt)	unlöslich (gefällt)	
Doppelchromsaures Kali..... concentrirt	partiell löslich	unlöslich	
Ferrum solubile .....	quellend	unlöslich	
Pepsinwirkung .....	nicht verdaubar (partiell gelöst)	nicht verdaubar	
Trypsinwirkung .....	theilw. schwer verdaubar	verdaubar	
Tingirbarkeit.....	intensiv	sehr wenig	

Die Proteinstoffe der Zelle unterscheiden sich nicht alle in demselben Maasse von einander. Wir haben vielmehr näherstehende und im höheren Grade verschiedene zu unterscheiden. Durch die Analogie der Namen habe ich den bestehenden Verwandtschaften Rechnung zu tragen gesucht und nur durch die Verbindung mit einem zweiten Namen die Verschiedenheiten ausgedrückt. So entspricht das Cytoplastin dem Chloroplastin, das Linin dem Paralinin, das Pyrenin dem Amphipyrenin. Chromatin und Metaxin stehen vereinzelt da.

Bei der weitgehenden Uebereinstimmung der gleichartigen Stoffe, wovon die Tabellen Zeugniß ablegen, wird es genügen die Unterschiede zwischen denselben hervorzuheben. Die Unterschiede sind zumeist nur quantitativ, indem bei dem einen Körper Lösung eintritt, wenn bei dem anderen Quellung stattfindet, oder indem ein Stoff statt aufzuquellen, unlöslich ist. Sehr selten erweist sich aber der eine Stoff als fällbar oder unlöslich, wenn der andere löslich ist.

Abgesehen davon, dass das Chloroplastin durch Chlorophyll grün gefärbt ist, unterscheidet sich dasselbe vom Cytoplastin zunächst durch seine geringere Löslichkeit in 5% und 20% Dinatriumphosphat. Das Chloroplastin ist unlöslich, zeigt auch nur ausnahmsweise geringe Quellung, während das Cytoplastin in der 5procentigen Lösung stark aufquillt oder sich darin auflöst, während 20%  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  wenigstens Quellung hervorrufft.

Verdünnte Kalilauge löst das Cytoplastin leichter, wenn das Chloroplastin auch sehr weitgehende Quellung zeigt.

Etwas prägnanter ist der Unterschied bei gewissen Concentrationen der Säuren, aber auch nur bei diesen Concentrationen, während sich sonst beide Stoffe gleich verhalten. In 3procentiger Essigsäure ist das Cytoplastin weniger quellbar als das Chloroplastin. Deutlicher ist die Differenz in verdünnter Salzsäure, namentlich bei 1%, wodurch das Cytoplastin gefällt wird, während das Chloroplastin stark aufquillt. Es ist dies vielleicht das beste Unterscheidungsmittel überhaupt.

Meinen Bedenken in Bezug auf die Unterscheidung von Linin und Paralinin habe ich schon im dritten Kapitel Ausdruck gegeben. Dieselben werden wesentlich durch die weitgehende Uebereinstimmung der Reactionen gestützt.

Ein Unterschied macht sich bestimmt geltend an einzelnen Kernen, z. B. von *Phajus* bei der Behandlung mit gesättigter schwefelsaurer Magnesia, worin das Paralinin stark aufquillt, während das Linin unlöslich ist. Derselbe Unterschied ist bei den übrigen Kernen, deren Bau nicht so leicht zu übersehen war, nicht mit derselben Sicherheit nachzuweisen.

In Monokaliumphosphat ist das Paralinin quellbarer resp. löslicher. Der wesentlichste Unterschied besteht jedoch in der Verdaubarkeit des Paralinins in Pepsinlösung, während das Linin nicht verdaut wird. Immerhin ist es nicht vollständig ausgeschlossen, dass es sich hier nur um eine Spaltung und partielle Verdaubarkeit des einen Spaltungsproductes des Linins handelt, in welchem Falle auch eine Abnahme der ganzen Masse eintreten

würde, ohne dass wir zwischen einem nicht verdaubaren Linin und einem verdaubaren Paralinin zu unterscheiden hätten. Ich lasse also diese Unterscheidung noch dahingestellt.

Auffallend und bisher vollständig übersehen ist die nahe stoffliche Verwandtschaft des Nucleolus und der Kernmembran, d. h. von Pyrenin und Amphipyrenin. Das Verhalten in Kochsalz und sehr verdünntem Kali ist fast gleich, dass die Lösung der einen Substanz etwas früher erfolgt, ist kein maassgebender Unterschied. Die Thatsache, dass der Nucleolus in Kalkwasser, in doppelchromsaurem Kali vacuolig wird, dass er bei der Pepsinverdauung sich theilweise löst, könnte als eine weitere stoffliche Zusammensetzung gedeutet werden, wie dies von Zacharias auch geschehen ist. Ich habe dagegen die Ansicht geltend gemacht, dass wir nur 2 Modificationen desselben Stoffes im Nucleolus vor uns haben, wobei in der Jugend die löslichere, später die unlösliche vorwiegt (vgl. § 18). Wie diese Frage auch zu entscheiden sein mag, jedenfalls besteht die Hauptmasse des Nucleolus aus einem Stoffe, der auch in den eben angeführten Reactionen mit der Membran übereinstimmt.

Der wesentlichste Unterschied zwischen Pyrenin und Amphipyrenin besteht in der Tingirbarkeit. Ich hatte noch kurz vor Abschluss des Manuscripts Gelegenheit, mich mit den neuesten von Zeiss verfertigten vorzüglichen Oelimmersionen von der Richtigkeit der bisherigen Angabe zu überzeugen, dass die Membran aus sog. achromatischer Substanz besteht. Ich beobachtete namentlich nach Gram'scher Methode gefärbte Kerne, die sehr reine Chromatin- und Pyrenintinctionen zeigten. Hier und da wäre bei weniger vorzüglichen Objectiven eine Täuschung dadurch möglich gewesen, dass an der Peripherie des Kernes sehr kleine Chromatinkörnchen lagen; mit Hilfe dieser neuen Linsen kann man sich jedoch mit Leichtigkeit überzeugen, dass das Amphipyrenin nicht tingirbar ist.

Wenn nun alle anderen Reactionen bis auf die Tinctionsfähigkeit übereinstimmen, so sind wir jedenfalls berechtigt, die sehr nahe Verwandtschaft, wenn nicht Identität beider Stoffe zu behaupten. Die Tinctionsfähigkeit kann durch nebensächliche Umstände wesentlich modificirt werden, da jedoch auch sonst noch, wenn auch ganz geringe Unterschiede bestehen, habe ich vorläufig die Stoffe des Nucleolus und der Kernmembran nicht mit ein und demselben Namen belegt.

Was nun die Zusammensetzung der einzelnen Formbestandtheile der Zelle aus verschiedenen Proteinstoffen anbelangt, so haben wir gesehen, dass im Cytoplasma nur ein Proteinstoff nachzuweisen war, während in den Chlorophyllkörpern zwei verschiedene Stoffe zu unterscheiden sind, das Chloroplastin und das Metaxin. Im Kern haben wir fünf differente Stoffe unterschieden, da sich jedoch je zwei derselben sehr nahe stehen, sind hier eigentlich nur drei Substanzen vorhanden, welche tiefer gehende Unterschiede bieten. Es sei mir gestattet die charakteristischen Differenzen innerhalb der einzelnen Zellorgane noch speciell hervorzuheben.

Das Metaxin zeichnet sich durch seine bedeutend grössere Löslichkeit vor dem Chloroplastin aus. In Wasser, 10 % Kochsalz, 1 % und 5 % Monokaliumphosphat, 5 % Dinatriumphosphat, 0,2 % und 1 % Essigsäure ist das Plastin unlöslich oder doch nur sehr wenig quellbar, während sich das Metaxin als stark quellbar oder löslich erweist. Ebenso zeigt das Metaxin in 1 % Dinatriumphosphat, (Kalkwasser?) und 3 % Essigsäure eine im Vergleich zum Cytoplastin gesteigerte Quellbarkeit.

Ein wesentlicher Unterschied der Beschaffenheit spricht sich auch darin aus, dass das Metaxin sowohl bei Pepsin- als bei Trypsinwirkung verdaut wird, während das Cytoplastin unverdaubar ist. Soweit meine diesbezüglichen Erfahrungen reichen, möchte ich die Vermuthung aussprechen, dass die in den Chlorophyllkörpern vorkommenden Proteinkristalle dem Metaxin sehr nahe stehen, es bedarf dies jedoch noch weiterer Untersuchungen, die ich später nachzutragen gedenke.

Im Kern ist das Chromatin durch seine grosse Löslichkeit in Neutralsalzen, phosphorsauren Salzen jeder Concentration, Kalkwasser und Alkalien ausgezeichnet, während es Säuren gegenüber sich als besonders resistent erweist. Sehr gut aber ist es charakterisirt durch seine Löslichkeit in mit Essigsäure versetzter Ferrocyankaliumlösung und in concentrirtem schwefelsaurem Kupfer, welche Substanzen die übrigen Kernstoffe vollständig unlöslich machen. Weniger prägnant ist die Differenz im löslichen Eisen, welches das Chromatin aufnimmt, während es die übrigen Kernstoffe zum Quellen bringt.

Das Pyrenin erweist sich gegen hochconcentrirte Neutralsalzlösungen widerstandsfähiger, ist unlöslich in Monokaliumphosphat und schwerer löslich in Dinatriumphosphat oder Kalkwasser. Dagegen zeichnet es sich durch seine stärkere Quellbarkeit in Säuren bestimmter Concentration aus (3 % und 50 % Essigsäure, 1 % Salzsäure).

Das Linin steht in seinen Eigenschaften zwischen dem Chromatin und Pyrenin, bald sich dem einen oder anderen gleich verhaltend.

Abgesehen von dieser allgemeinen Charakteristik erscheint es mir noch nothwendig, die unterscheidenden Reactionen der Kernsubstanzen specieller anzugeben. Es sind jedoch unter dem Mikroskop nicht alle Reactionen gleich gut zu verfolgen, weshalb ich nur die unzweifelhaften hier anführen werde.

Gehen wir aus von der Tingirbarkeit der einzelnen Kernstoffe, so ergibt sich zunächst eine bedeutende Differenz zwischen Chromatin und Pyrenin einerseits, Linin, Paralinin, Amphipyrenin andererseits, indem die letzteren Stoffe den Farbstoff bedeutend weniger festzuhalten vermögen als die beiden zuerst genannten Substanzen.

Die beiden intensiv tingirbaren Körper sind so leicht von einander zu trennen, dass es auffallend ist, wieso man überhaupt deren Identität annehmen konnte. Es zeigt sich hier recht deutlich, wie fehlerhaft es ist auf eine so einseitige Reaction, wie die Tingirbarkeit zu grossen Werth zu legen.

Das Chromatin ist löslich, das Pyrenin unlöslich in folgenden Stoffen: 20 % Kochsalz, gesättigter Lösung von schwefelsaurer Magnesia, 1 % und 5 % Monokaliumphosphat, Ferrocyankalium plus Essigsäure, schwefelsaurem Kupfer und in den meisten Fällen auch bei Wasserwirkung und bei 1 % Dinatriumphosphat.

Umgekehrt ist das Chromatin unlöslich, das Pyrenin quellend bis löslich in 3 % Essigsäure, 1 % Salzsäure.

Wesentlich ist auch der Unterschied in der Verdaubarkeit. Das Chromatin wird durch Trypsin sehr schnell, das Pyrenin sehr schwer verdaut. Gegen Pepsin ist das Chromatin sehr widerstandsfähig, das Pyrenin weniger.

Bei der Unterscheidung der weniger tingirbaren Substanzen haben wir zunächst zu trennen Linin und Paralinin einerseits und Amphipyrenin andererseits.

Das Amphipyrenin erweist sich als unlöslich, Linin und Paralinin als quellbar in folgenden Reagentien: 20 % Kochsalz, Kalkwasser, concentrirtem doppelchromsauren Kali, Ferrum solubile und meistens auch in Wasser und 1 % Dinatriumphosphat.

Die weitere Unterscheidung zwischen Linin und Paralinin habe ich schon oben behandelt.

Abgesehen von der Tingirbarkeit unterscheidet sich das Chromatin vom Linin (resp. Paralinin) noch durch seine grössere Löslichkeit in 20 % Kochsalz, 5 % Monokaliumphosphat, Ferrocyankalium plus Essigsäure und schwefelsaurem Kupfer.

In doppelchromsaurem Kali dagegen ist das Chromatin unlöslich, das Linin stark quellbar.

Bei Trypsinverdauung geht in Alkohol gefälltes Chromatin viel schneller in Lösung als Linin und Paralinin.

Von dem Amphipyrenin unterscheidet sich das Chromatin durch dieselben Reactionen wie von dem Pyrenin, ausserdem noch durch die Tingirbarkeit.

Die Unterschiede zwischen Pyrenin und Amphipyrenin habe ich schon im Vorhergehenden besprochen.

Schliesslich bleibt uns noch übrig, die Stoffe der verschiedenen Bestandtheile der Zelle mit einander zu vergleichen.

Die Hauptmasse der Chlorophyllkörper besteht aus Chloroplastin, welcher Stoff dem Cytoplastin sehr nahe steht; wenn wir also bei unserem Vergleich zunächst das Metaxin ausser Acht lassen, so haben wir unser Augenmerk einerseits auf das Plastin, andererseits auf die Kernstoffe zu richten. Bei diesem Vergleich werden besonders jene Reagentien zu berücksichtigen sein, gegen welche sich alle Kernstoffe gleich verhalten.

Die beiden Plastine sind unlöslich in 10 % Kochsalz und in concentrirter Kalilauge, während die Kernstoffe sich hierin als löslich erweisen. Die Kernstoffe sind alle verdaubar in Trypsin, die Plastine werden von diesem Fermente dagegen nicht verändert.

Schon diese Reactionen beweisen, dass die von Zacharias<sup>1)</sup> ausge-

1) Bot. Zeitung 1882. p. 656.

sprochene Ansicht, Plastin komme auch im Kerne vor, speciell in der Zwischen-substanz und den Nucleolen, unrichtig ist. Es wird dies ferner noch bestätigt durch das differente Verhalten des Plastins gegenüber dem Linin und dem Pyrenin. Von dem Linin weicht das Plastin noch ziemlich bedeutend ab durch das Verhalten gegen 20% Kochsalz, gegen Dinatriumphosphat, Kalkwasser und 3% Essigsäure; von dem Pyrenin noch durch sein Verhalten gegen 1% und 20% Dinatriumphosphat, doppelchromsaures Kali und sein bedeutend geringeres Tinctionsvermögen.

Ebenso lässt sich nachweisen, dass das Metaxin mit keinem der Kernstoffe identisch oder näher verwandt ist.

Aus dem Gesagten geht hervor, dass nur die mit den analogen Namen benannten Stoffe eine nähere Verwandtschaft zeigen, dass die Substanzen untereinander jedoch wesentlich von einander abweichen.

Der Kern ist nicht blos durch seine grössere Dichte von der übrigen protoplasmatischen Substanz verschieden, sondern enthält nur Proteinstoffe, welche im übrigen Protoplasma nicht vorkommen.

Chlorophyllkörper und Cytoplasma stehen einander in ihren chemischen Eigenschaften sehr nahe.

Im Kern ist das Chromatin wesentlich verschieden von der ebenfalls färbaren Substanz des Nucleolus, dagegen zeigt der Nucleolus und die Kernmembran eine weitgehende chemische Verwandtschaft, was man aus der Identität der Reactionen zu schliessen wohl berechtigt ist.

Legte ich im Bisherigen besonderes Gewicht auf die Unterscheidung der verschiedenen Proteinstoffe im Protoplasma, so möchte ich doch noch hinzufügen, dass es auch eine ganze Reihe von Reactionen gibt, welche allen Theilen des Protoplasmas gemeinsam sind, es sind dies jene Reactionen, welche die Proteinkörper als solche charakterisiren. Im Folgenden ist eine grosse Anzahl derselben aufgezählt, dieselben haben auch für das Protoplasma Gültigkeit und unterscheiden dasselbe von den übrigen in der Pflanze vorkommenden Stoffen. Um Wiederholungen zu vermeiden, verweise ich an dieser Stelle auf § 37.

### § 37. Die den Proteinstoffen gemeinsamen Reactionen <sup>1)</sup>.

Unter dem Namen „Proteinstoff“ fasse ich alle Eiweisskörper und den Eiweissstoffen nahestehende Substanzen zusammen, welche die Hauptmasse

<sup>1)</sup> Ich verwendete bei der hier folgenden Zusammenstellung:

K. B. Hofmann, Lehrbuch der Zoochemie 1883.

Hoppe-Seyler, Handbuch der physiologisch, pathologisch, chemischen Analyse. V. Aufl. 1883.

des Protoplasmas bilden und sich durch gewisse gemeinsame Reactionen auszeichnen. Ich dehne diesen Namen auch auf die nicht verdaubaren Stoffe, wie Nucleine und Plastine aus. Ich thue dies mit Rücksicht auf das analoge Verhalten in chemischer und physikalischer Beziehung, auf die relativ geringen Unterschiede in Bezug auf die Löslichkeitsverhältnisse und weil ich glaube, dass sowohl Plastine als Nucleine in Bezug auf ihre Bildung in der Pflanze sehr nahe mit den eigentlichen Albuminen zusammenhängen.

Der Ausdruck „Protein“ stammt bekanntlich von Mulder her, welcher sich vorstellte, die verschiedenen Eiweisskörper seien Schwefel- und Phosphorverbindungen eines sauerstoffhaltigen organischen Radicals. Die Ansicht Mulders hat sich als unrichtig herausgestellt, aber trotzdem wird es erlaubt sein diesen gewissermassen vacant gewordenen Ausdruck in anderer Weise zu gebrauchen, um einer weiteren Vermehrung und Neubildung von Namen entgegenzuwirken. Ich bezeichne mit dem Namen Proteine auch etwas anderes, als K. B. Hofmann in seiner Zoochemie, der unter Protein ein Umwandlungsproduct aus den Eiweisskörpern (Albumin und Globulin) versteht, das je nach seiner Bindung an Alkali oder an Säure als Alkalalbuminat oder Acidalbumin auftritt.

Es mögen diese Andeutungen genügen, um Verwechslungen vorzubeugen.

Die Zahl der allen Proteinkörpern gemeinsamen Reactionen wäre eine grössere, wenn wir nicht auf einzelne Stoffe, welche ein exceptionelles Verhalten aufweisen, Rücksicht zu nehmen hätten. Hierher gehören vor Allem die bei der Verdauung der Eiweissstoffe entstehenden Peptone, welche bedeutend schwieriger fällbar sind, als die übrigen Stoffe. Ausserdem schliesst sich noch das Chromatin in mancher Beziehung den Peptonen an, Ausnahmen von den allgemeinen Fällungsreactionen bietend, ohne dass ich deshalb beide Stoffe für identisch halte.

Diese Ausnahmen berücksichtigend, werde ich in diesem Paragraphen unter A zunächst solche Reactionen aufzählen, welche allgemeine Gültigkeit haben, und in zweiter Reihe unter B jene Reagentien angeben, welche den meisten Proteinkörpern gemeinsam sind, aber einzelne Ausnahmen zulassen. Ich thue dies, da auch die letzteren Reagentien zur Charakterisirung der Proteinkörper im Allgemeinen wesentlich beitragen.

Hoppe-Seyler, Physiologische Chemie 1881.

H. Huppert, Analyse des Harns 1881.

Maly's Jahresbericht über die Fortschritte der Thierchemie.

Beilstein, Handbuch der organischen Chemie 1883.

Ritthausen, Die Eiweisskörper der Getreidearten, Hülsenfrüchte u. Oelsamen 1872.

Gorup-Besanez, Lehrbuch der physiologischen Chemie. 4. Aufl. 1878.

Originalarbeiten aus der von Hoppe-Seyler herausgegebenen Zeitschrift für physiologische Chemie und der jetzt von W. Kühne und C. Voit herausgegebenen Zeitschrift für Biologie und andere Originalarbeiten.

Zur Orientirung auf diesem Gebiete kann ich besonders das sehr handliche und inhaltsreiche Handbuch der Zoochemie von K. B. Hofmann empfehlen, sowie Hoppe-Seylers Handbuch der physiologisch, pathologisch, chemischen Analyse.

### A. Allen Proteinstoffen gemeinsame Reactionen.

- 1) Quecksilberchlorid (und andere Quecksilberoxydsalze) fällen die Proteinstoffe aus saurer und auch aus schwach alkalischer Lösung.
- 2) Das Gemisch von salpetersaurem Quecksilberoxydul und salpetersaurem Quecksilberchlorid (Millon's Reagenz) erzeugt in allen concentrirteren Lösungen einen weissen Niederschlag, der nach einiger Zeit, namentlich beim Erwärmen, roth wird. In sehr verdünntem Zustande entsteht eine rothe Lösung. Diese Reaction tritt nicht immer mit der wünschenswerthen Deutlichkeit hervor.  
Man stellt dies Reagens dar, indem man Quecksilber in dem gleichen Gewicht concentrirter Salpetersäure zuerst in der Kälte, dann in der Wärme löst und, sobald alles Metall gelöst ist, mit dem doppelten Volumen Wasser vermischt.
- 3) Jodquecksilber-Jodkalium fällt die Proteinstoffe aus mässig salzsaurer Lösung.
- 4) Jodwismuthkalium erzeugt einen Niederschlag (fraglich ob in allen Fällen, zugleich werden auch die Alkaloide gefällt).
- 5) Salpetersaures Silber bringt einen weissen Niederschlag hervor, der beim Kochen durch Reduction des Silbers schwarz wird.
- 6) Goldchlorid gibt einen weissen Niederschlag.
- 7) Platinchlorid wirkt fällend.
- 8) Phosphorwolframsäure fällt in stark essigsaurer oder stark salzsaurer Lösung die Proteinstoffe sehr vollständig aus.
- 9) Basisch essigsäures Blei fällt aus neutralen oder sauren Lösungen bei Vermeidung eines Ueberschusses oder Zusatz von Ammoniak
- 10) Flemming'sche Mischung (0,1 Th. Osmiumsäure, 0,1 Th. Essigsäure, 0,25 Th. Chromsäure auf 100 Th. Wasser) fällt die Proteinstoffe leicht.
- 11) Gerbsäure fällt vollständig in schwach essigsaurer, aber nur unvollkommen in neutraler oder alkalischer Lösung. Es wäre möglich, dass diese sonst vortreffliche Reaction ausnahmsweise nicht eintreten könnte, indem nach Pfeffer (Untersuchungen aus dem Tübinger botanischen Institut Band II, Heft 1) Eiweissstoffe im Zellsafte mancher Pflanzen gelöst vorkommen sollen, trotzdem dieser schwach sauer reagirt und gerbstoffhaltig ist. Es scheint mir wünschenswerth zu sein, durch weitere Untersuchungen festzustellen, ob hier wirklich Proteinkörper vorlagen, und wenn dies der Fall ist, durch welchen Umstand die Fällung hintangehalten wurde.
- 12) Concentrirte Pierinsäure erzeugt einen Niederschlag, es ist jedoch fraglich, ob in allen Fällen. Besser als Pierinsäure allein wirkt eine Mischung von Pierinsäure und Alkohol.
- 13) In Aether, Chloroform, Schwefelkohlenstoff, Benzol, Petroläther sind die Proteinstoffe unlöslich.

- 14) In Eau de Javelle lösen sich die Proteinstoffe auf, sehr wahrscheinlich unter weitgehenden Zersetzungen.
- 15) Nicht zu concentrirte Aetzkalkalien lösen die Proteinstoffe oder bringen sie zum Aufquellen.
- 16) Concentrirte Salpetersäure gibt einen gelben Niederschlag oder eine gelbe Lösung, welche sich bei Zusatz von Ammoniak schön orange-roth färbt (Xanthoproteinreaction).
- 17) Beim Verbrennen entwickeln die Proteinstoffe den Geruch nach verbrannten Federn oder Haaren.

### B. Den meisten Proteinstoffen gemeinsame Reactionen<sup>1)</sup>.

- 1) Ferrocyankalium oder Ferrieyankalium fällt nach vorausgegangenem Ansäuern mit Essigsäure. Der Niederschlag kann sich im Ueberschuss des Fällungsmittels wieder auflösen. Peptone geben keinen Niederschlag, ähnlich verhält sich das Chromatin (vgl. § 23).
- 2) Frisch bereitetes essigsäures Eisenoxyd wirkt fällend. Soweit meine Erfahrungen an Auszügen von Erbsen-, Bohnen- und Maissamen reichen, bleiben ausser den Peptonen noch andere Stoffe in Lösung. F. Hofmeister<sup>2)</sup> gibt folgendes Verfahren an zur Trennung der Peptone von den übrigen Eiweissstoffen. Zu  $\frac{1}{2}$  Liter der zu untersuchenden Flüssigkeit bringt man ungefähr 10 cem einer concentrirten Lösung von Natriumacetat und tröpfelt dann so lange eine concentrirte Lösung von Eisenchlorid zu, bis die Flüssigkeit bleibend rothe Färbung angenommen hat. Man stumpft nun die stark saure Flüssigkeit mit Alkali bis zur neutralen oder ganz schwach sauren Reaction ab, kocht auf und bringt den Niederschlag nach dem Erkalten auf's Filter. Ist Eisen und Alkalizusatz richtig getroffen, so ist das Filtrat, wie man sich durch Prüfung mit Essigsäure und Ferrocyankalium überzeugen kann, frei von Eisen und Eiweiss. War Pepton vorhanden, bleibt dies in Lösung.
- 3) Osmiumsäure erzeugt Niederschläge.
- 4) Jod in Jodkalium ebenso.
- 5) Brom ebenso.
- 6) Gesättigte Lösung von schwefelsaurem Ammoniak fällt die Proteinkörper mit Ausnahme des Peptons und Chromatins.
- 7) Sättigung der Lösung mit Natriumsulfat wirkt bei Gegenwart von Essigsäure oder Salzsäure stark fällend (ausgenommen Peptone).
- 8) Aceton und Phenol scheinen in vielen Fällen Niederschläge zu erzeugen (allgemeine Verbreitung dieser Reaction mir zweifelhaft).

<sup>1)</sup> Ich erwähne hier auch jene Reactionen, deren allgemeinere Verbreitung noch nicht untersucht ist.

<sup>2)</sup> Zeitschrift für physiologische Chemie, herausgeb. v. Hoppe-Seyler 1880 Bd. IV. p. 263.

- 9) Alkohol absolutus fällt die meisten Proteinkörper vollständig, wenn der Flüssigkeit mindestens das dreifache Volumen Alkohol zugesetzt wurde. Es scheinen jedoch einige Stoffe in geringer Menge sich zu lösen, namentlich bei Gegenwart von Aetzalkalien und Alkalicarbonaten. Heisser Alkohol wirkt in diesem Falle stärker lösend, als kalter. Zu diesen letzteren Substanzen gehören die von Ritthausen unterschiedenen Stoffe des Klebers: Glutenfibrin, Gliadin und Mucedin. Es ist jedoch nicht sicher gestellt, in wie weit hier die Löslichkeit durch die Anwesenheit alkalischer Substanzen bedingt ist und in wie weit dies ursprünglich in der Pflanze vorhandene Stoffe sind.
- 10) Coagulierte Proteinstoffe vermögen Farbstoffe mehr oder weniger stark anzuziehen und festzuhalten.

Die möglicher Weise noch weitere Verbreitung zeigenden Färbungsercheinungen bei der Behandlung der Proteinstoffe mit Schwefelsäure und Essigsäure (Adamkiewicz'sche Reaction) mit Schwefelsäure und Zucker sind bei den Reactionen des Albumins erwähnt (vgl. § 38).

### § 38. Eigenschaften und Unterscheidung der bisher auf macrochemischen Wege isolirten Proteinstoffe.

Indem wir das Verhalten der Proteinstoffe in den Pflanzenzellen gegen verschiedene Lösungs- und Fällungsmittel untersucht haben, war es uns möglich, gewisse Substanzen von einander zu unterscheiden. Will man weiter vordringen, so darf man sich hiermit nicht genügen lassen, man muss, die microchemische Methode als Basis benutzend, zur Darstellung der einzelnen Stoffe übergehen, um ihre Eigenschaften voll und ganz kennen zu lernen, um schliesslich bestimmte Schlüsse über die Entstehung und die physiologische Bedeutung der einzelnen Stoffe ziehen zu können.

Es fragt sich nun, sind wir nicht schon gegenwärtig im Besitze einer hinreichenden Menge von Thatsachen, um auf diesem Gebiete weiter bauen zu können? Für den Fall, dass die bisher macrochemisch aus Thier und Pflanze dargestellten Proteinsubstanzen in ihren Löslichkeitsverhältnissen und Reactionen mit den von uns gefundenen übereinstimmen würden, wären wir bis zu einem gewissen Grade berechtigt, auch auf die Analogie der übrigen Eigenschaften zu schliessen, wir hätten dann zwar nicht die directe Untersuchung unserer Stoffe, aber doch von sehr nahestehenden und verwandten Stoffen. Von diesem Gesichtspunkte aus hat also die Frage eine entschiedene Bedeutung, in wieweit die von uns in der Pflanze nachgewiesenen Proteinstoffe mit den bisher bekannten auf macrochemischen Wege dargestellten Stoffen übereinstimmen?

Aber auch noch von einem anderen Gesichtspunkte aus ist die von uns aufgeworfene Frage interessant, indem wir durch eine derartige Untersuchung beurtheilen können, welchen Werth die bisher dargestellten Proteinstoffe für die Physiologie resp. die Vorgänge im lebenden Organismus besitzen.

Kommen Stoffe mit denselben Eigenschaften in der Pflanze überhaupt nicht vor, so sind selbst die schönsten und detaillirtesten Untersuchungen über solche Derivate und Kunstproducte für uns ohne Bedeutung. Bei allen Darstellungen von Eiweisskörpern geht man stillschweigend von der Voraussetzung aus, dieselben Stoffe finden sich auch im Organismus vor, die Aufgabe der Physiologen und Biologen ist es zu prüfen, ob diese Voraussetzung richtig ist.

Zu weiterem Gebrauche und um Anderen die Untersuchung derartiger Fragen zu erleichtern, andererseits aber auch um die vielfach unklaren Vorstellungen über die Eigenschaften der Proteinstoffe, die in botanischen und zoologischen Kreisen herrschen, zu klären, habe ich mich entschlossen, an dieser Stelle eine Uebersicht über die bisher bekannten Eigenschaften der Proteinstoffe zu geben.

Ich bediene mich bei dieser Zusammenstellung der Eintheilung der Proteinstoffe, welche Hoppe-Seyler in seinem Handbuch der physiologisch-pathologisch-chemischen Analyse (V. Aufl. 1883 pag. 265 und 290) angegeben hat. Derselbe unterscheidet zwischen Albuminstoffen oder Proteinen<sup>1)</sup> und den Proteiden d. h. Körpern, welche durch Spaltung neben anderen Stoffen Eiweissstoffe liefern. Die Albuminstoffe gliedert Hoppe-Seyler in 10 Gruppen, von denen einige Gruppen mehrere nahe verwandte Stoffe umfassen.

- I. Albumine:** 1) Serumalbumin,  
2) Eieralbumin,  
3) Muskelalbumin.

- II. Globuline:** A. Globuline nicht fällbar durch Sättigung der neutralen Salzlösung mit Kochsalz.

- 1) Vitellin.  
2) Globuline der Krystallinse.

- B. Globuline fällbar durch Sättigung der neutralen Salzlösungen mit Kochsalz.

- 1) Myosin.  
2) Serumglobulin.  
3) Fibrinogen.

**III. Fibrine.**

**IV. Mucin.**

**V. Coagulirbare Albuminstoffe.**

**VI. Amyloid.**

- VII. Acidalbumine:** 1) Syntonin.  
2) Acidalbumin.

- VIII. Albuminate:** 1) Casein.  
2) Alkalialbuminat.

**IX. Hemialbumose oder Propepton.**

**X. Peptone.**

<sup>1)</sup> Ich selbst gebrauche den Ausdruck Proteinstoffe in anderer Bedeutung als Hoppe-Seyler, indem ich Albuminstoffe und die Proteide mit dem gemeinsamen Namen Proteinstoffe bezeichne.

Da nicht zu erwarten war, dass die Eiweissstoffe der Pflanzen und Thiere vollständig identisch sind, so kam es mir mehr darauf an, die einzelnen Gruppenunterschiede zu fixiren, als die so nahe verwandten Unterabtheilungen zu unterscheiden. Ich habe daher von den Albuminen nur das Eialbumin, von den Globulinen das Vitellin und Myosin in meiner Darstellung berücksichtigt.

Da ausserdem sowohl Mucin als Amyloid in den Pflanzen bisher nicht gefunden sind, habe ich mich für diese Stoffe mit einer kurzen Charakteristik begnügt. Ebenso scheinen mir die Fibrine und coagulirten Eiweissstoffe für die Pflanze von geringerer Bedeutung zu sein, weshalb ich dieselben weniger ausführlich behandelt habe.

Von den Proteiden Hoppe-Seylers, zu welchen die Blutfarbstoffe, Chondrogen und Chondrin, Metalbumin und Paralbumin und die Nucleine gehören, sind für uns nur die Nucleine von Bedeutung, ich habe diese also bei meiner Zusammenstellung allein berücksichtigt. Dagegen wären den Nucleinen noch die Plastine anzureihen, welche Hoppe-Seyler noch nicht berücksichtigt hat, die Eigenschaften derselben habe ich jedoch schon im § 36 besprochen.

Die den Proteinkörpern gemeinsamen Reactionen wurden an dieser Stelle nicht weiter berücksichtigt, und nur wenn das Ausbleiben der einen oder anderen Reaction für einen Stoff charakteristisch ist, habe ich diese Reaction im Folgenden angeführt.

Von grossem Werthe waren für mich Hoppe-Seylers Handbuch der physiologisch-pathologisch-chemischen Analyse und C. B. Hofmann's Handbuch der Zoochemie, auf welche ich mehrmals verweisen werde, besonders was den rein analytischen Theil anbelangt. Von Hoppe-Seyler's Handbuch citire ich die im Jahre 1883 erschienene 5. Auflage.

### Albumin.

Es soll hier besonders das Eialbumin berücksichtigt werden. Dasselbe ist im Eiweiss der Vogeleiern innerhalb zarter Membranen eingeschlossen. Zur Gewinnung des Albumins zerschneidet man das Eierweiss mit der Scheere oder verletzt die Häute durch Schütteln mit Glasscherben, fügt Wasser hinzu und erhält so eine klar filtrirbare Lösung. Zur Befreiung von dem in dem Eierweiss noch vorkommenden Globulin neutralisirt man mit Salzsäure, dialysirt 2 Tage lang, verdünnt es mit dem 3fachen seines ursprünglichen Volumens, leitet Kohlensäure hindurch und filtrirt durch ein 3faches Filter. Sollte sich nach Stunden noch ein Niederschlag zeigen, so filtrirt man noch einmal. Das Filtrat dunstet man bei 40° in flachen Schalen ab.

Man kann das Albumin auch auf andere Weise durch Sättigung mit Magnesiumsulfat und dann mit Natriumsulfat reinigen. Das Nähere über diese Methode ist bei Hoppe-Seyler pag. 268 nachzusehen.

Trockenes Albumin ist eine durchsichtige gelbliche, spröde, leicht zer-

reibliche Masse. Die wässrige Lösung ist klebrig, nicht fadenziehend, verdünnte Lösungen sind leicht filtrirbar. Sämmtliche Lösungen zeigen bei auffallendem Licht eine schön grüne Fluorescenz, welche bei Essigzusatz im Ueberschuss verschwindet. Die Form der Gerinnung ist je nach Concentration und Salzgehalt der Lösung verschieden. Dialysirtes Albumin verhält sich ebenso wie nicht dialysirtes, wenig Salze enthaltendes Albumin.

Das Albumin geht bei der Dialyse nur in sehr geringer Menge durch die Membranen. Bei Filtration durch Darmstücke ist bei mässigem Druck das Filtrat nur wenig eiweissärmer als die ursprüngliche Lösung. Die Dialyse entfernt die löslichen Salze, doch bleiben immer noch unlösliche zurück: Erdphosphate mit Spuren von Sulfaten und Eisen, im günstigsten Falle 0,4—0,6%. Die neutralen Salze verlassen das Eiweiss früher als die alkalisch reagirenden.

Natives Eialbumin reagirt alkalisch, ob reines salzfreies Albumin neutral oder sauer reagirt, ist unentschieden.

Die spezifische Drehung der 2—6 procentigen Lösung beträgt  $(\alpha)_D = -35,5^\circ$  (Hoppe-Seyler),  $-38,1^\circ$  (Haas),  $-37,79^\circ$  (Starke). Sie ist geringer als bei dem Serumalbumin für welches  $(\alpha)_D = -57,3^\circ$  (bei geringem Salzgehalt) oder  $-62,6^\circ$  bis  $-64,59^\circ$  (bei viel Kochsalzgehalt) ist.

Das Eialbumin enthält nach Hammarsten

C.	52,25 %
H.	6,9 %
N.	15,25 %
S.	1,93 %
O.	25,67 %

Zum Vergleich führe ich noch die von Hammarsten für Pferdeblutserum und Albumin aus dem Pleuraexsudat gefundenen Werthe an.

Pferdeblutserum.	Pleuraexsudat.
C. 53,05	52,25
H. 6,85	6,65
N. 16,04	15,88
S. 1,80	2,27
O. 22,26	22,95

Auf Grund der Befunde an Kupferverbindungen hat Harnack für das Albumin die Formeln  $C_{204} H_{320} N_{52} O_{66} S_2 Cu$  und  $C_{204} H_{318} N_{52} O_{66} S_2 Cu_2$  aufgestellt, die einem Kupfergehalte von 1,35 resp. 2,64% entsprechen. Analysen einer Platinverbindung ausgeführt von Fuchs und von Comaille, die 8,02 — 8,1% Platin nachwiesen, stimmen mit dem Harnack'schen Resultat überein.

Lieberkühn hatte schon früher die Formel  $C_{72} H_{112} N_{18} SO_{22}$  aufgestellt, welche nach den Untersuchungen von O. Loew zu verdoppeln ist. Die einfache Formel soll nach O. Loew das Pepton darstellen.

In Wasser ist Albumin löslich und verliert diese Löslichkeit auch bei längerem Aufbewahren in wässriger Lösung nicht. Wahrscheinlich ist

Albumin schon an sich löslich und wird nicht erst durch die geringe Salzmenge, welche man durch Dialyse nicht mehr entfernen kann, in Lösung gehalten.

In verdünnter und concentrirter Kochsalzlösung ist Albumin löslich. Desgleichen in Magnesiumsulfat, in welchem es auch bei Sättigung bei 30° C. löslich bleibt.

Sättigung mit Kalium- und Ammoniumchlorid gibt nur geringe Trübung.

Von Nitraten gibt nur das Natriumnitrat bei der Sättigung eine etwas beträchtlichere Fällung.

Gesättigte Lösung von Natriumacetat wirkt stark fällend.

Gesättigte Lösung von Kalium- und Natriumsulfat (neutrales) gibt geringen, Ammoniumbisulfat bedeutenden Niederschlag.

Natriumbisulfat und Ammoniumbisulfat (gesättigt) fällen alles Eiweiss aus.

Durch Eintragen von Magnesiumsulfat bis zur Sättigung werden die Globuline gefällt, die Albumine bleiben in Lösung. Aus dieser Lösung werden die Albumine durch Eintragen von Natriumsulfat bis zur Sättigung ausgefällt.

Gesättigte Lösung von Natriumoxalat, Rhodanammonium, Ammoniumacetat fällen unerheblich.

Gesättigtes Calciumchlorid gibt die stärkste Fällung. Der niedergeschlagene Eiweissstoff ist abweichend von den übrigen Salzfällungen nach Entfernung des Salzes durch Dialyse in Wasser unlöslich.

In Mono-, Di- und Trikalium- resp. Natriumphosphaten jeder Concentration sind die Albumine löslich. Das Verhalten gegen Monokaliumphosphat bietet einen Unterschied gegenüber den Globulinen, welche durch  $KH_2PO_4$  ausgefällt werden. (Von mir an den Globulinen des Erbsensamens gefunden).

Freies Kali oder Natron befördern die Lösung von Albuminniederschlägen. Albumin ist leicht löslich, wird aber schon durch geringe Mengen in Alkalialbuminat übergeführt, das beim Neutralisiren durch Säuren ausgefällt wird. Die Alkalialbuminatbildung wird durch Erwärmen durch die Gegenwart von Kochsalz, Natriumphosphat oder Alkohol beschleunigt. Sehr concentrirte Lösungen von Albumin tropfenweise mit concentrirter Kalilauge versetzt, erstarren zu einer völlig durchsichtigen Gallerte.

Durch die Umwandlung in Kalialbuminat wird die Circumpolation gesteigert.

Verdünntes Aetzammoniak wirkt nur allmählig verändernd, bei längerer Einwirkung entsteht ein Eiweisskörper, der durch Neutralisation der Lösung ausfällt.

Unverändertes Eiweiss wird bei der Neutralisation der Lösung nicht gefällt, dies geschieht jedoch, wenn es Acidalbumin oder Alkalialbuminat enthält.

Kalk- und Barytwasser befördern die Lösung von Albumin-niederschlägen.

Tricalciumphosphat wird in frisch gefälltem Zustande von Eiweiss etwas gelöst. 1 Liter 7procentige Albuminlösung löst 3 grm Phosphat.

Kohlensäure fällt das Albumin nicht.

Verdünnte Essigsäure fällt Albumin. Setzt man zur dialysirten Eiweisslösung eine nur so geringe Menge Essigsäure, dass sie durch Lakmuspapier nicht angezeigt wird, so fällt beim Kochen das Eiweiss vollständig aus. Die Gerinnung des Eiweisses wird durch den Essigsäurezusatz befördert. Der Niederschlag ist in Alkalien schwer, in Essigsäure und Kochsalz nicht löslich (das Serumalbumin liefert einen in Kochsalz unvollständig löslichen Niederschlag). Hat man ein Minimum Säure zuviel hinzugefügt, so tritt beim Kochen keine Ausfällung ein. Bei nicht dialysirten Albuminen kann der Essigsäurezusatz etwas grösser sein. Ueberschüssige und concentrirte Essigsäure verwandelt Albumin in eine Gallerte von Acidalbumin. Bei Ueberschuss der Säure löst sich die Gallerte nicht auf, es geschieht dies jedoch beim Erwärmen.

Sehr verdünnte Salzsäure gibt keinen Niederschlag. Concentrirte Salzsäure schlägt Albumin aus der wässerigen Lösung leicht nieder, der Niederschlag löst sich nicht im Ueberschuss der Säuren und auch nicht sogleich beim Einbringen in Wasser. Beim Kochen in starker Salzsäure löst sich der Niederschlag nur langsam auf, von Kalilauge wird er dagegen leicht aufgenommen.

Verdünnte Schwefelsäure gibt keinen Niederschlag, in concentrirter Schwefelsäure ist Eialbumin schwer (Serumalbumin leicht) löslich, durch Wasserzusatz entsteht ein Niederschlag, der sich in reinem Wasser nur schwer löst. Das Albumin wird durch die concentrirte Schwefelsäure zersetzt (vgl. Albumosen).

Verdünnte Salpetersäure gibt keinen Niederschlag, dagegen fällt concentrirte. Der Niederschlag ist bei grossem Säureüberschuss wieder etwas löslich. Der Niederschlag löst sich leicht in Alkalien und zwar mit orangerothter Farbe. Ueber sehr verdünnter Salpetersäure dialysirt, verbindet sich das Eiweiss zu einer festen durchsichtigen in warmem Wasser löslichen Gallerte, die mit Alkali neutralisirt gerinnt. Aehnlich verhalten sich nicht zu verdünnte Albuminlösungen bei der Dialyse über Schwefelsäure, Salzsäure und Phosphorsäure.

Die Umwandlung des Albumins in Acidalbumin geht um so schneller vor sich, je höher die Temperatur, je stärker die Concentration der zugesetzten Säure, und je grösser ihre relative Quantität im Vergleich zum Albumingehalt der Flüssigkeit ist.

Was die Gerinnung der Albuminlösungen beim Erwärmen anbelangt, so schwankt die Coagulationstemperatur innerhalb ziemlich weiter Grenzen, je nach der Menge der beigemengten anorganischen Substanzen. Möglichst reine Eialbuminlösungen beginnen bei 55° C. sich zu trüben, bei 58°

werden sie undurchsichtig und scheiden bei  $59,6^{\circ}$  das Eiweiss vollkommen aus. Zusatz von geringen Mengen Säuren und Alkalien, sowie Beimengung von neutralen Salzen bewirkt, dass die Coagulation bei anderen Temperaturgraden eintritt. Wegen dieser Abhängigkeit vom Salzgehalt glaube ich, dass ein Erkennen von Eiweissstoffen in der Pflanzenzelle durch die Bestimmung der Coagulationstemperatur nicht ausführbar sein wird, da wir nicht feststellen können, wie gross die in einem Strukturelement vorhandene Salzmenge ist.

Im Vacuum wird schon bei  $30-35^{\circ}$  C. ein Theil des Eiweisses zuerst in gallertigen, dann in festen faserigen, dem Blutfibrin ähnlichen Flocken abgeschieden. Die salzärmste Eiweisslösung unterscheidet sich von der nativen nicht wesentlich, sondern nur in der Form der Gerinnung. Die salzarme wird durch Hitze (und durch Alkohol) opalisirend, ist sie concentrirt, so wird sie durchsichtig, milchig, ohne beim Stehen sich zu klären und einen Bodensatz zu bilden. In dem Maasse als sie im Salzgehalte der nativen sich nähert, wird die Coagulation mehr grobflockig und setzt sich das Gerinnsel leichter ab. Die überstehende Flüssigkeit klärt sich. Die durch Kochen opalisirend gewordene Lösung scheidet aber sogleich flockiges Eiweissgerinnsel ab, wenn man Säuren oder Salze zusetzt (Hofmann p. 617).

Möglichst salzfrei dargestelltes Serumalbumin gerinnt in ungefähr 1 proc. Lösung bei circa  $50^{\circ}$ , durch Zusatz von Kochsalz oder anderen Neutralsalzen wird auch hier die Coagulationstemperatur erhöht.

Getrocknetes Albumin kann auf  $160^{\circ}$  erwärmt werden, ohne dass es seine Löslichkeit einbüsst, dies geschieht jedoch bei  $170^{\circ}$ .

Alkohol fällt vollständig. Der Niederschlag ist in Wasser nicht wieder löslich (sehr salzarmes Serumalbumin löst sich in Wasser wieder theilweise auf, wenn der Alkohol nicht zu lange gewirkt hat, bei längerer Alkoholkwirkung wird es ganz unlöslich in Wasser). Salzarme Albuminlösungen, denen zuviel Alkali oder Säure zugesetzt ist, sind durch Alkohol nicht fällbar. Auch dialysirtes Albumin wird durch Alkohol leicht verändert. Sehr verdünnter Alkohol gibt keinen Niederschlag, 50procentiger gibt zuerst nur eine Trübung, die sich langsam vermehrt. Selbst der frische Alkoholniederschlag löst sich nicht in Ammoniak, dagegen geschieht dies in verdünnter Kalilauge. Kalihaltiger Weingeist fällt nicht.

Beim Schütteln der noch ungereinigten Albuminlösungen mit Aether tritt allmählig Coagulation ein. Je mehr Alkalien und Salze vorhanden sind, desto schwerer coagulirt das Albumin. Die durch das Schütteln mit Aether entstehende Gallerte besteht aus lauter Kugeln, die wie Zellen aussehen, und vollständig einem künstlichen Gewebe gleichen.

Das Albumin wird leicht durch Pepsin in saurer Lösung, durch Trypsin in neutraler oder schwach alkalischer Lösung verdaut. Eine Erhöhung der Temperatur auf circa  $40-45^{\circ}$  C. beschleunigt den Vorgang. Es werden zunächst Uebergangsproducte, Hemialbumose oder Propepton (Albumosen), dann Pepton gebildet. Ueber die bei der Verdauung entstehenden Producte findet man Näheres unter Albumosen und Pepton.

Das Albumin wird aus der schwachsauren Lösung durch Ferrocyan-  
kalium, etwas langsamer durch Platincyankalium gefällt. Der Nie-  
derschlag mit Soda neutralisirt gibt eine dem Globulin ähnliche Substanz,  
welche jedoch nach kurzem Stehen in Acidalbumin übergeht (?).

Bei Behandlung mit verschiedenen Salzen schwerer Metalle, z. B. Eisen-  
chlorid, Quecksilbernitrat, Platinchlorid entsteht Acidalbumin.

Mit 4 Vol. Wasser verdünntes filtrirtes Eierweiss wird mit 5procentiger  
Sublimatlösung bis zur vollständigen Bindung gefällt. Durch Natriumcar-  
bonat darf noch keine gelbe Färbung erzeugt werden. Der Niederschlag  
in 20% Kochsalz gelöst und filtrirt bildet Bambergers lösliches Queck-  
silberalbuminat. Diese Reaction dürfte sich vielleicht sehr gut zur Un-  
terscheidung verschiedener Proteinstoffe in der Zelle eignen.

Cyngas in Albuminlösung geleitet, erzeugt einen Niederschlag aus  
Eiweiss + Cyanwasserstoff.

Fällt man Eiweiss mit Silbernitrat, löst den Niederschlag mit einer  
Mischung von gleichen Theilen Essig- und Schwefelsäure, so geht die Farbe  
der Lösung rasch von Violett durch Roth und Orange in Gelb über, sinkt  
der Eiweissgehalt, so geht die Farbenwandlung in derselben Reihenfolge zu  
Violett zurück. Fällt man Eiweiss mit Goldchlorid und löst mit obigem  
Gemisch, so entsteht eine rothe, fällt man mit Kupfersulfat, so entsteht eine  
violettblaue Lösung. Alle diese farbigen Lösungen der Metallniederschläge  
zeigen zwischen E und F einen breiten Absorptionsstreifen. Den gleichen  
zeigt die Lösung von Eiweiss (2%) allein in Essigsäure — Schwefelsäure?

(\*)<sup>1)</sup> Schwemmt man oder löst man Eiweiss in Wasser auf, fügt etwas  
Zuckerlösung und dann vorsichtig concentrirte Schwefelsäure zu,  
so erhält man eine rothe Lösung.

(\*) Versetzt man Eiweisslösung mit sehr wenig Kupfersulfat und fügt  
Kali oder Natronlauge hinzu, so entsteht beim Kochen eine violette bis  
blauviolette Flüssigkeit.

(\*) Durch Schwefelsäure und etwas Molybdänsäure wird festes  
Albumin blau gefärbt.

Concentrirte Schwefelsäure von 1,8095 sp. Gew. gibt mit Eiweiss-  
lösungen je nach der Concentration derselben verschiedene Farben (Adam-  
kiewicz<sup>2)</sup>).

Concentration der Eiweisslösung 1,5 ‰, 7 ‰, 15 ‰, 22 ‰, 32 ‰.

Färbung . . . . . grüngelb orange roth violett Trübung.

Wird Eiweiss zunächst mit reiner Essigsäure versetzt, so bewirkt lang-  
sames Hinzufügen von concentrirter Schwefelsäure das Auftreten eines  
violetten, nach unten zu mit grünem Saum sich absetzenden Ringes an den

<sup>1)</sup> Die mit einem (\*) versehenen Reactionen sind nicht auf das Eialbumin be-  
schränkt, sondern sehr wahrscheinlich auch anderen Eiweissstoffen (Globulinen, Al-  
buminaten, Peptonen) eigen.

<sup>2)</sup> Näheres in Pflügers Archiv für Physiologie. Bd. 9, p. 156—162, wo auch  
die Behandlung von Metallniederschlägen mit Schwefelsäure besprochen ist.

Berührungsgrenzen beider Säuren. Schon die Gegenwart von 0,0004 cem reinen Eihnereweisses soll genügen, um mit Essigschwefelsäure diese Reaction zu geben. Ist Essigsäure und Schwefelsäure in gleicher Menge vorhanden, so bleibt die Farbe der Lösung unausgesetzt in der Mitte der Scala stehen, ist hellroth oder rosa. Mit dem Uebergewicht der Essigsäure über die Schwefelsäuremenge stellt sich Violettfärbung der Lösung ein. Ueberwiegt die Schwefelsäure, so nähern sich die Farben der einfachen Schwefelsäurewirkung.

### Zersetzungsprodukte des Albumins.

Mit Jodwasserstoff in zugeschmolzenen Röhren erhitzt, entsteht Leucin, Tyrosin und eine peptonartige Substanz.

Beim Kochen mit Barytwasser entwickelt das Eiweiss 9% des gesammten Stickstoffs in Gestalt von Ammoniak. Derselbe ist somit lockerer gebunden als der übrige Stickstoff. Bei Fäulniss mit Pancreasgewebe zerfällt es in Indol, Skatol, Phenol, Essigsäure, Buttersäure, Valeriansäure, Amidovaleriansäure, Leucin, Tyrosin; daneben entweicht Ammoniak, Kohlensäure, Schwefelwasserstoff. Zum Beginn der Fäulniss wird Hypoxanthin gebildet. Da diese Umwandlung durch selbstthätige lebende Organismen geschieht, ist man nicht im Stande zu sagen, was hier unmittelbares Zersetzungsprodukt des Albumins und was durch den Stoffwechsel in den Bacterien erzeugte Stoffe sind. Einen Anhaltspunkt gibt vielleicht das Schmelzen mit Kali, bei dem analoge Zersetzungsprodukte entstehen.

Mit Wasser und Brom unter Druck erhitzt entstehen: Bromanil, Tribromamidobenzoësäure, Bromoform, Oxalsäure, Asparaginsäure, Leucin, Leucini-mid, Capronsäure, Tribromessigsäure, Schwefelsäure und Phosphorsäure.

Es sind hier nur einige Zersetzungsarten genannt, es mag dies genügen, um die Vermuthungen gerechtfertigt erscheinen zu lassen, dass im Albumin ein Theil des Stickstoffs in besonderer Form gebunden ist und dass im Albumin bestimmte Stoffgruppen, wie Leucin, Asparagin, Tyrosin vorhanden sind. Die letzteren Substanzen sind ja sehr wahrscheinlich bei der Synthese der Eiweissstoffe in der Pflanze in hervorragender Weise betheiligt.

### Vitellin.

Vitellin findet sich sowohl in thierischen als pflanzlichen Organen sehr verbreitet vor, denen es nach vorheriger Behandlung mit Aether durch 10procentige Kochsalzlösung entzogen werden kann. Das Filtrat ist mit einer grossen Menge von Wasser zu fällen und durch wiederholtes Auflösen und Ausfällen zu reinigen; wird Myosin vermuthet, ist es auch nothwendig durch Eintragen von Kochsalzlösung bis zur Sättigung dieses auszufällen. Man erhält das Vitellin nach der eben angegebenen Methode niemals vollständig rein, namentlich wenn man zur Darstellung Eidotter verwendet, enthält es immer noch Nuclein und Lecithin.

Entschieden vorzuziehen ist die Gewinnung des Vitellins aus der Paranuss,

in welcher es krystallisirt vorkommt. Nach einer von E. Drechsel<sup>1)</sup> angegebenen Methode kann es daraus wieder krystallisirt erhalten werden (aber nur das Magnesiumsalz), die Krystalloide werden zunächst durch Schlämmen in Petroläther von den übrigen Substanzen befreit, sodann in Wasser gelöst. (Sie zeigen sich hier in Wasser löslich, in Folge ihres Gehaltes an Dikaliumphosphat?) Die Lösung wird mit  $\text{CO}_2$  gefällt, der gut gewaschene Niederschlag mit Magnesia digerirt und die so erhaltene Lösung in einen Dialysator gebracht und dieser in absoluten Alkohol gesetzt. Das Wasser diffundirt zum Alkohol und kleine Krystallkörner bleiben zurück. Diese werden abfiltrirt, zumeist mit Alkohol, dann mit Aether gewaschen und getrocknet. Sie enthalten 13,8% Wasser, 1,43% Magnesia und sind das Magnesiumsalz des Vitellins.

Etwas abweichend ist das von Grübler<sup>2)</sup> zur Darstellung aus Kürbissamen angegebene Verfahren.

Die geschälten Kürbissamen werden zu feinem Pulver zermahlen und daraus durch Schlämmen mit Oel und Petroleumäther zunächst die Proteinkörner isolirt, denen man die letzten Fettsuren durch Aether entzieht. So dargestellt bildet die Proteinsubstanz ein feines weisses Pulver. Krystallinisches Eiweiss wird folgendermaassen dargestellt: Die Proteinsubstanz wird (nach Weyl) mit einer 10 proc. Kochsalzlösung ausgezogen, in das neutralisirte Filtrat Kochsalz bis zur Sättigung eingetragen, von dem aus Globoiden bestehenden Niederschlag abfiltrirt, das klare Filtrat mit viel Wasser gefällt und endlich der reinweisse Eiweissniederschlag durch Auswaschen möglichst von Salzen befreit. Um dies amorphe Eiweiss in das krystallisirte zu verwandeln, wendet Grübler das neuere Drechsel'sche Verfahren an. Der Niederschlag wird bei Zimmertemperatur in 20%  $\text{NaCl}$  gelöst, das klare Filtrat mit Wasser bis zur Trübung versetzt, auf  $30^\circ$  bis zum Verschwinden derselben erwärmt, dann nochmals mit Wasser von gleicher Temperatur bis zum Milchigwerden verdünnt, auf  $40\text{--}42^\circ$  erwärmt und die nun wieder klare Flüssigkeit langsam erkalten gelassen. Das sich in wohlausgebildeten Krystallen absetzende Eiweiss wird auf dem Filter gesammelt, gewaschen, nach Durchsaugen von Alkohol und Aether im trocknen Luftstrome getrocknet.

Die Krystalle lösen sich in Neutralsalzen, verdünntem Alkali, auch bei längerer Berührung mit Wasser behalten sie ihre krystallinische Form, während die frischen Krystalle bald dadurch amorph werden. Durch verdünnte Alkalien, sowie schon durch kohlenensäurehaltiges Wasser wird das Eiweiss zum Theil in Salzlösungen unlöslich, weshalb zu jener Darstellung am besten Neutralsalze verwendet werden.

Die Krystalle sind in allen Fällen octaedrisch.

Die Lösung des Vitellins in Kochsalz ist eine nicht fadenziehende, schwach gelblich gefärbte, filtrirbare Flüssigkeit, der beim Eintropfen in ein grösseres

1) Journal für praktische Chemie. Bd. 19. (N. F.) p. 331—334.

2) Journal f. pract. Chemie. Bd. 23, p. 97—137.

Wasserquantum entstehende Niederschlag ist feinflockig, setzt sich leicht am Boden des Gefässes ab.

Das Vitellin geht durch thierische Membranen nur schwer oder gar nicht durch, kann also durch Dialyse von den Salzen befreit werden.

In der Asche hat man Calcium, Eisen, Magnesium und Phosphorsäure, sowie Spuren von Kupfer gefunden, ausserdem enthält das Vitellin Säure und Base der zur Darstellung verwendeten Salze in acquivalenten Mengen, weshalb nach Grübler die Krystalle als eine Eiweissverbindung derselben aufgefasst werden sollen. Mit Calcium, Baryum, Magnesium geht es Verbindungen ein, so dass Schmiedeberg zur Ansicht kam, dass das Vitellin eine sehr schwache Säure sei, deren Salze jedoch durch Kohlensäure zerlegt werden. Die Aleuronkrystalle der Pflanzen hält man für Doppelverbindungen der Alkalien und alkalischen Erden.

Die procentige chemische Zusammensetzung schwankt innerhalb nicht zu weiter Grenzen. Das Vitellin enthielt

	aus Kürbissamen (Grübler)	aus Kürbissamen (Barbieri)	aus der Paranuss (Weyl)
C.	53,21	51,36 51,88	52,43
H.	7,22	7,58 7,51	7,12
N.	19,22	17,86 18,08	18,10
S.	1,07	0,54 0,60	0,55
O.	19,10	22,66 21,93	21,80
Asche	0,18	1,12 1,11	—

In Wasser ist das Vitellin unlöslich, bei längerem Stehen unter Wasser geht es in einen in 10% Kochsalz unlöslichen Zustand über. Die Fällung aus der Kochsalzlösung durch Wasser ohne Einleiten von Kohlensäure ist unvollständig.

Eine Kochsalzlösung von 5—10% löst leicht auf, durch hochconcentrirte Kochsalzlösung wird das Vitellin nicht gefällt (Unterschied von Myosin, das unlöslich wird).

Schwefelsaure Magnesia von 10% löst, bei 30—40° gesättigte Lösung fällt dagegen alles Vitellin (Unterschied von Albumin, das in Lösung bleibt).

Mässig concentrirte Lösungen von Chlorammonium, essigsauerm Natron, Brom- und Jodkalium, gelbem Blutlaugensalz und anderen Neutralsalzen lösen Vitellin auf.

Aus der Lösung in concentrirtem Kochsalz wird das Vitellin durch Zusatz von conc. Lösung von schwefelsauerm Natron nicht ausgefällt, erst bei der Sättigung der Kochsalzlösung mit schwefelsauerm Natron in fester Form scheidet sich ein schwacher Niederschlag aus (Fällung bei Eiweiss vollständig).

Gesättigte Lösung von schwefelsauerm Ammon fällt das Vitellin, beim Dialysiren über Wasser löst es sich nicht wieder auf.

Mit Essigsäure angesäuerte Kochsalzlösung wirkt fällend.

Monokaliumphosphat löst den in Wasser entstandenen Niederschlag nicht auf. (Unterschied von Albumin.)

Dikalium- oder Dinatriumphosphat lösen das Vitellin sehr leicht auf. Aus der Lösung kann man durch Zusatz von viel Wasser das Vitellin wieder ausfällen. Da  $K_2HPO_4$  schwer vollständig rein zu erhalten ist, schlecht krystallisiert, ist die Anwendung von  $Na_2HPO_4$  vorzuziehen. Längeres Verweilen in Phosphatlösungen, die entweder geringe Menge von freiem Kali oder von  $K_3PO_4$  enthalten, führt das Vitellin leicht in Albuminate über. Leitet man einige Zeit Kohlensäure in die klare Lösung in  $Na_2HPO_4$ , so trübt sich dieselbe, es fällt ein feiner Niederschlag aus. Ein kleiner Ueberschuss von  $Na_2HPO_4$  löst den durch Kohlensäure entstandenen Niederschlag wieder auf. Die Lösung des Kohlensäureniederschlags tritt schon ein, wenn die Flüssigkeit erst ganz schwach alkalisch oder fast neutral reagiert. Die Fällung durch  $CO_2$  geht erst vor sich, wenn die Flüssigkeit sauer reagiert.

Trikaliumphosphat löst schon in geringer Menge den durch Wasser hervorgerufenen Niederschlag auf, das Vitellin wird in Albuminat übergeführt.

In sehr verdünnten Alkalien ist es leicht löslich; beim Stehen oder beim schnellen Erwärmen mit Aetzalkali geht Vitellin in Alkalialbuminat über.

Natriumcarbonat löst das Vitellin und verändert es in der Lösung allmählich zu Natriumalbuminat. Löst man frisch gefälltes Vitellin in sehr wenig 1procentiger Sodalösung, so trübt sich die Lösung in sehr kurzer Zeit, erneuter Zusatz von Soda löst wieder und abermals kann nach einiger Zeit Trübung eintreten, indem das Alkali von dem gebildeten Albuminat in Beschlag genommen wird. Aus 1%  $Na_2CO_3$  wird es durch Wasser nur sehr unvollkommen gefällt, durch Kohlensäure reichlich.

Kalk- und Barytwasser lösen leicht und vollständig. Mit gebrannter Magnesia soll der in Wasser suspendirte Niederschlag in Lösung übergehen, ich fand jedoch die Richtigkeit dieser Reaction nicht bestätigt.

Kohlensäure begünstigt die Fällung in Wasser. In Kochsalzlösung entsteht nur eine schwache Trübung. Ausserordentlich verdünnte Essigsäure begünstigt die Fällung in Wasser, ebenso ruft sehr verdünnte Essigsäure in der Kochsalzlösung einen Niederschlag hervor. Im Ueberschuss der Säure löst sich der Niederschlag leicht auf, ebenso ist Vitellin in concentrirter Essigsäure leicht löslich (unter Acidalbuminbildung), die Lösung wird durch viel Wasser nicht wieder ausgefällt. Concentrirte Essigsäure löst auch den durch Erwärmen entstandenen Niederschlag auf.

In 10procentiger Kochsalzlösung ruft sehr verdünnte Salzsäure einen Niederschlag hervor, der desto besser hervortritt, je weniger concentrirt die Säure angewendet wurde. Die Lösung des Niederschlags erfolgt erst bei grossem Zusatz von concentrirter Salzsäure. Setzt man gleich zur Kochsalzlösung viel concentrirte Säure, so entsteht nur im ersten Moment ein Niederschlag, der sich gleich wieder löst, oder die Bildung eines Niederschlags unterbleibt ganz, der Salzsäureniederschlag löst sich beim Kochen

nicht auf. Frisch gefällte Globuline sollen nach Weyl in verdünnter Salzsäure (0,8%) löslich sein (?).

Schon durch verdünnte Salzsäure wird das Vitellin in Acidalbumin übergeführt.

Verdünnte Schwefelsäure oder geringer Zusatz von concentrirter Säure ruft Fällung hervor. Der Niederschlag löst sich im Ueberschuss des Fällungsmittels mit gelber Farbe.

Verdünnte Salpetersäure erzeugt einen Niederschlag, die Fällung ist eine vollständige. Concentrirte Säure erzeugt ebenfalls einen Niederschlag. Die Niederschläge lösen sich im Ueberschuss der Säure nicht auf, dagegen leicht bei Zusatz von Kali oder Ammoniak. Die orangerothe Färbung tritt erst bei stärkerer Concentration der Vitellinlösung ein.

Beim langsamen Erhitzen der Lösung des Vitellins in Kochsalz tritt bei circa 75° C. Coagulation ein. Erhitzt man neutrale Lösungen gleich anfangs rasch, so findet die Gerinnung bei circa 80° C. statt. Die Lösung in Kali coagulirt bei 100° C. nicht, der Niederschlag in Wasser löst sich beim Kochen nicht auf.

Alkohol absolutus fällt das Vitellin aus und führt es allmählig in coagulirtes Eiweiss über. Durch geringere Mengen von 50proc. Alkohol tritt keine Fällung ein, setzt man mehr hinzu, so wird das Vitellin gefällt. Die Fällung tritt auch ein, wenn man statt des Wassers zur Verdünnung des absoluten Alkohols eine 10procentige Kochsalzlösung verwendet; Vitellin wurde also durch den Alkohol abs., nicht durch das Verdünnen mit Wasser gefällt. Der frisch gefällte Alkoholniederschlag ist in überschüssiger Kochsalzlösung wieder löslich, bei Wasserzusatz natürlich nicht.

Bei nicht zu lange dauernder Aetherbehandlung bleibt das Vitellin in 10% Kochsalz leicht löslich. Aether gibt beim Schütteln keine Fällung. Vitellin ist sowohl bei Pepsin- als Trypsinbehandlung verdaubar.

Schwere Metalle (Cu, Sn, Pb) geben in Kochsalzlösungen amorphe Niederschläge.

Schwefelsaures Kupfer gibt einen weissen Niederschlag, der sich in ammoniakhaltigem Wasser sowie in verd. Alkali mit violetter Farbe löst. Eine Kupferlösung vermag den in Wasser entstandenen Niederschlag schon in der Kälte, noch besser in der Wärme aufzunehmen. Kochsalzlösung scheidet daraus die Kupferverbindung ab.

Bei der Behandlung mit verschiedenen Salzen schwerer Metalle, z. B. Eisenchlorid, Quecksilbernitrat, Platinchlorid, entstehen dem Acidalbumin nahe stehende Verbindungen.

Durch Ferrocyankaliumlösung, die mit Essigsäure versetzt wurde, entsteht ein Niederschlag.

Mit verdünnter Schwefelsäure gekocht, liefert Vitellin Asparaginsäure.

### Myosin.

Das Myosin entsteht bei der Todtenstarre aus der contractilen Substanz aller Muskeln. Es wird auch am leichtesten aus Muskeln dargestellt. Durch

Abpressen des bei  $-7^{\circ}$  C. gefrorenen Muskels erhält man das ungeronnene Muskelplasma, das man in Wasser tropfen lässt. Jeder einzelne Tropfen bildet eine Kugel und die so erhaltenen feinen Gerinnsel lassen sich gut mit Wasser auswachen. Ausserdem kann man das Myosin auch dem toten, starren Muskel durch 10—20 procentige Kochsalz- oder Chlorammoniumlösung entziehen. Das Nähere über die Darstellungsmethode bei Kühne, Untersuchungen über das Protoplasma, Danilewski, Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. 5, p. 158, Hoppe-Seyler p. 274, Hofmann p. 73.

Zur Darstellung aus Pflanzen empfiehlt S. H. Vines<sup>1)</sup> Samen von *Lupinen* und *Paeonien*, denen das Myosin mit 10proc. Kochsalzlösung entzogen werden kann, um dann durch Eintragen von Kochsalzstücken bis zur Sättigung ausgefällt zu werden.

Das Myosin bildet schleimige, durchscheinende Flocken, die beim Schlagen jedoch keine Faden geben, wie das Fibrin.

Nach der Entfernung der lösenden Neutralsalze wird es bei der Dialyse gefällt.

Die Asche des reinen Myosins reagirt alkalisch, gibt an Wasser Kalkhydrat ab, es bleibt Calciumphosphat und Sulfat, sowie Magnesiumsulfat zurück. Danilewski fand im trockenen Muskelmyosin Ca 0,47, Mg 0,07,  $\text{PO}_4$  0,30%, so dass 0,30% Ca ungesättigt blieben.

Statt der procentischen Zusammensetzung des Myosins, die ich nirgends angegeben fand, möge hier die des nahe verwandten Serumglobulins angegeben werden.

C.	52,71
H.	7,01
N.	15,85
S.	1,11
O.	23,32

In Wasser ist Myosin unlöslich. Längeres Stehen des Niederschlages unter Wasser macht ihn unlöslich in Chlorammonium, Kalkwasser, in sehr verdünnter Salzsäure quillt er nur mehr.

In Kochsalzlösungen von 5—10% ist das Myosin leicht löslich, in hochconcentrirten und gesättigten Lösungen dagegen fällt es aus (Unterschied vom Vitellin). Serumglobulin ist in gesättigter Kochsalzlösung unlöslich, wird aber aus verdünnteren Lösungen durch Eintragen von Kochsalz nicht vollständig ausgefällt. Fibrinogen wird schon bei 16% Kochsalzgehalt gefällt.

Verdünnte Lösung von schwefelsaurer Magnesia löst das Myosin, durch Sättigung mit diesem Salz fällt es vollständig aus.

Ueberschüssiges verdünntes Kali löst leicht, das Myosin wird bald in Albuminat übergeführt. Eine Lösung von Serumglobulin in Wasser mit

<sup>1)</sup> On the proteid substances contained in the seeds of plants. Journ. of physiol. Bd. 3, p. 93—114 und Maly's Jahresbericht über die Fortschritte der Thierchemie. Bd. 11.

möglichst wenig Natronlauge wird beim Hinzufügen sehr kleiner Mengen von Kochsalz, so dass die Lösung nur 0,03—0,07 % Kochsalz enthält, bei Zimmerwärme gefällt.

Kalkwasser löst, wenn es nicht zu verdünnt ist. Längere Zeit unter Wasser gestandener Myosinniederschlag ist in Kalkwasser unlöslich.

Das Myosin, in ausserordentlich wenig Salzsäure gelöst, wird bei der Neutralisation mit Natronlauge, Soda oder Kalkwasser gefällt.

Kohlensäure begünstigt das Ausfällen durch Wasser.

Sehr geringe Mengen von Essigsäure begünstigen die Ausfällung durch Wasser, etwas mehr Essigsäure löst das Myosin.

Sehr verdünnte Salzsäure wird vom Myosin absorbiert, ohne dass es in Syntonin (Acidalbumin) verwandelt wird. Etwas concentrirtere Salzsäure führt es in Syntonin über.

Es genügt schon die Hälfte der vom Myosin bindbaren Säuremenge, um dasselbe zu lösen. (Tropaeolin darf keine Säurereaction aufweisen.) (Vgl. Hoppe-Seyler pag. 56 und pag. 274.)

In Chlorammoniumlösung tritt bei 40—43° C. Trübung ein, bei 55° erscheint ein flockiger Niederschlag. In der Kochsalzlösung wird es ebenfalls durch Erhitzen coagulirt. (Serumglobulin coagulirt in 10 % Kochsalz bei 69—76° C.)

Alkohol absolutus fällt das Myosin, der Niederschlag ist kein eigentliches Myosin, sondern coagulirtes Eiweiss. Pflanzenmyosin büsst nur langsam seine Löslichkeit ein. In heissem 50procentigen Alkohol löst sich das Myosin, bei der Abkühlung wird die Flüssigkeit nicht getrübt.

Durch saure Pepsinlösung wird Myosin leicht und unvollständig, durch alkalische Trypsinlösung dagegen langsam in Pepton übergeführt.

Aus Syntonin kann das Myosin rückverwandelt werden. Löst man Syntonin in möglichst wenig Kalkwasser, trägt dann trockenes Salmiakpulver fast bis zur Sättigung ein, filtrirt durch Faltenfilter und neutralisirt die alkalische opalisirende dicke Lösung mit sehr verdünnter Essigsäure, bis violettes Lakmus keine alkalische Reaction mehr angibt, so bleibt die Flüssigkeit klar, schwach opalisirend und verhält sich in allen Reactionen wie eine Salmiaklösung von Myosin. Man kann es durch Eintragen von Kochsalz bis zur Sättigung oder durch sehr viel Wasser fällen.

Myosinlösungen in Kochsalz gerinnen nicht spontan, wohl aber das bei Kälte aus den Muskeln ausgepresste Myosin, wenn es Zimmertemperatur erreicht. Myosin zerlegt Wasserstoffsuperoxyd.

Es wird sowohl durch Essigsäure + Kochsalz als durch angesäuerte Ferrocyankaliumlösung gefällt.

### Fibrin.

Es kann nicht meine Aufgabe sein, hier auf die Fibrinbildung<sup>1)</sup> im Blute einzugehen, es möge genügen hier anzuführen, dass das Fibrin sehr wahr-

<sup>1)</sup> Eine sehr übersichtliche Darstellung der schwebenden Controversen ist bei Hofmann pag. 304—319 zu finden.

scheinlich aus 2 verschiedenen Substanzen den Fibringeneratoren durch Vermittlung eines Fibrinfermentes sich bildet. Diese Fibringeneratoren sind erstens das Paraglobulin (identisch mit A. Schmidt's fibrinoplastischer Substanz, Brückes Paraglobin und Panum's Serumcasein, Hoppe-Seyler's Serunglobulin), zweitens das Fibrinogen. Es sind dies beides Stoffe, die Hoppe-Seyler zu seinen Globulinen rechnet. Das Produkt aus diesen ist das Fibrin, welches ganz spezifische, von den Globulinen abweichende Eigenschaften aufweist, welche ich in Kürze hier wiedergeben will, um den Vergleich mit den pflanzlichen Proteinkörpern durchführen zu können.

Ueber die Darstellung des Fibrins vgl. Hofmann pag. 329.

Bei spontaner Gerinnung ist es eine durchsichtige Gallerte, welche sich von den Wänden des Gefäßes löst, sich allmählig zusammenzieht und zu einer dickeren, weissen, undurchsichtigen, plastischen Masse wird. Sehr rasch, fast augenblicklich faserig (daher der Name Faserstoff) scheidet es sich durch Schlagen oder starkes Verdünnen des Blutes mit Serum aus. Das mit Alkoholäther entwässerte Fibrin ist weiss und zerreiblich, das einfach an der Luft eingetrocknete ist hornartig, spröde, gelblich.

Das Fibrin enthält

Nach Hammarsten (mit älteren Autoren übereinstimmend)	Nach C. B. Hofmann im Mittel
C. 52,68 %	52,5 %
H. 6,83	7,0
N. 16,91	17,4
S. 1,10	1,2
O. 22,48	21,9

Es ist unlöslich in Wasser.

In verdünnter Kochsalzlösung (3 %) ist das Fibrin unlöslich, bei 6—10 % quillt es zu einer schleimigen Masse auf unter partieller Lösung, bei 10° C. in 1—2 Tagen, bei 40° C. in 1—2 Stunden. Es verhalten sich die Fibrine verschiedener Thiere nicht ganz gleich, und so gibt z. B. Gautier<sup>1)</sup> an, dass Fibrin in 10 % Kochsalz löslich ist.

Das Verhalten in schwefelsaurem Natron gleicht dem in Kochsalz.

In verdünnter Kalilauge, ebenso in Ammoniak, quillt das Fibrin sehr stark auf, löst sich langsam unter Bildung von Alkalialbuminat. Erwärmen beschleunigt die Lösung.

In verdünnter Essigsäure quillt es stark auf, ohne sich zu lösen, erst wenn Syntonin gebildet ist, löst es sich. Die Fibringallerte, mit concentrirter Essigsäure versetzt, schrumpft nicht.

Aus der Lösung in Kochsalz oder Natriumsulfat wird es durch verdünnte Essigsäure gefällt.

Sehr verdünnte Salzsäure bringt das Fibrin zum starken Quellen, jedoch ohne zu lösen. Eine 1—5 procentige Säure verwandelt es in eine

<sup>1)</sup> Compt. rend. T. 79, p. 228.

durchsichtige Gallerte, die durch Entfernung der Säure das ursprüngliche Ansehen wieder annimmt. Fügt man concentrirte Säure hinzu, so tritt Schrumpfung ein.

Salzsäure von 0,1% verwandelt Fibrin bei 20° C. binnen einigen Tagen, bei 60° C. ziemlich rasch in Syntonin.

Schwefelsäure und Salpetersäure verwandeln in wenig concentrirtem Zustande das Fibrin in eine Gallerte, bei stärkerer Concentration schrumpft es. In concentrirter Phosphorsäure tritt keine Schrumpfung ein.

Beim Erwärmen auf 75° coagulirt das Fibrin.

Durch Alkohol wird das Fibrin ebenfalls coagulirt, es wird weisslich, undurchsichtig, brüchiger und nach längerer Einwirkung weniger leicht löslich in Verdauungsflüssigkeiten. Aus seinen Lösungen in Kochsalz und Natriumsulfat wird es durch Alkohol gefällt.

Anhaltende Behandlung mit Aether hat auf die charakteristischen Eigenschaften des Fibrins keinen Einfluss.

In frisch gefälltem Zustande ist es durch Pepsin und Trypsin leicht verdaubar, schwieriger nach Alkoholbehandlung. Es reisst begierig in Lösung befindliches Pepton an sich. Durch Trypsin wird es weiter zerlegt, es zerfällt zum Theil in Leucin, Tyrosin, Indol, Skatol u. s. w., zum Theil wird es in Pepton übergeführt.

Frisches feuchtes Fibrin zerlegt lebhaft Wasserstoffsperoxyd. Unter Alkohol aufbewahrt, oder auf 72° erwärmt, verliert es diese Eigenschaft.

### Mucin.

Das Mucin wird aus Galle oder Speicheldrüsen gewonnen. Es ist eine schleimige, fadenziehende Flüssigkeit, die in neutralen Salzlösungen durch Essigsäure nicht gefällt wird. Bei Abwesenheit neutraler Salze ist es unlöslich in Essigsäure und wird auch durch einen stärkeren Säureüberschuss nicht gelöst. Es löst sich in Kalkwasser, Aetzkalk, Alkalicarbonat und wird aus diesen Lösungen durch Essigsäure gefällt. Bei längerem Verweilen, schneller beim Erwärmen, geht es in Alkalialbuminat über. Beim Kochen von Mucin mit verdünnter Schwefelsäure oder Salzsäure erhält man Acidalbumin.

Es ist ausgezeichnet durch seinen relativ hohen Wasserstoff- und geringen Stickstoffgehalt. Es enthält nach Landwehr

C. 53,09%

H. 7,60

N. 13,80

S. 1,10

O. 24,41

Diese Hoppe-Seylers Handbuch entnommenen Daten genügen wohl nicht zur Charakteristik dieses Stoffes.

### Coagulirte Albuminstoffe.

Beim Erwärmen oder bei länger andauernder Einwirkung von Alkohol werden die verschiedenen Albuminstoffe in eine unlösliche Form übergeführt.

Hievon sind die Albuminate und Acidalbumine, Albumosen und die Peptone ausgenommen, die von der Umwandlung der übrigen Albuminstoffe herrühren und sich besonders durch ihr Nichtcoaguliren beim Erwärmen auszeichnen, während sehr langandauernde Alkoholwirkung theilweise auch diese Stoffe unlöslich macht. Manche Stoffe, wie z. B. Eieralbumin können auch durch concentrirte Salzsäure in den coagulirten Zustand übergeführt werden. Die aus ihren Lösungen beim Neutralisiren ausgeschiedenen Albuminate, sowie das Casein, scheinen beim Erhitzen in coagulirte Albuminstoffe überzugehen.

Die Coagulationsproducte der verschiedenen Eiweissstoffe sind durch ihre Löslichkeitsverhältnisse nicht näher zu unterscheiden, obwohl sehr wahrscheinlich Differenzen bei der chemischen Zusammensetzung bestehen.

Coagulirtes Eiweiss ist in allen indifferenten Lösungsmitteln, sowie in Lösungen neutraler Alkalisalze und sehr verdünnter Salzsäure unlöslich. In verdünnten Alkalilaugen löst es sich schwer, in Ammoniak sehr schwer und fällt aus dieser Lösung beim Erwärmen unter Entweichen von Ammoniak wieder aus. In Essigsäure quillt es und löst sich allmählig, wird aber durch concentrirte Salzlösungen wieder abgeschieden. Durch stärkere Kali- und Säurewirkung, namentlich beim Erwärmen, geht es in Alkalialbuminat resp. in Acidalbumin über, zum Theil entstehen auch peptonartige Derivate. Verdauungsfermente wandeln es nur langsam um.

### Amyloid.

Dieser auch im Thierreich nur sehr selten vorkommende Eiweissstoff ist bisher im Pflanzenreich noch nirgends nachgewiesen worden, was bei seiner Eigenschaft, sich mit Jod braunroth bis violett zu färben, nicht hätte schwer fallen müssen. Ich will demselben daher keine weitere Berücksichtigung schenken. Seine Eigenschaften vgl. Hoppe-Seyler p. 280 und Hofmann p. 239.

### Acidalbumin (Syntonin).

Wir haben schon bei den Albuminen und Globulinen darauf hingewiesen, dass bei der Behandlung dieser Stoffe mit Säuren eine Umwandlung vor sich geht, welche zu der Bildung dieser Acidverbindungen führt. Eine analoge Umwandlung finden wir bei der Einwirkung von Kali, wodurch die Kalialbuminate entstehen. Acidalbumin und Kalialbuminat stehen sich in ihren Eigenschaften und Reactionen sehr nahe, die eine Verbindung kann leicht in die andere übergeführt werden. Trotzdem ist es möglich, dieselben durch einzelne Reactionen zu unterscheiden, worüber K. A. H. Mörner<sup>1)</sup> nähere Untersuchungen angestellt hat.

Die aus verschiedenen Eiweissstoffen durch die Säure gebildeten Acid-

1) Archiv f. die gesammte Physiologie. Bd. 12, p. 347 und Maly's Jahresbericht. Bd. 7, p. 9—17.

verbindungen scheinen nicht vollständig identisch zu sein, wenn sie auch in den meisten Reactionen mit einander übereinstimmen. Sie unterscheiden sich in der Menge von Ammoniak, welche beim Kochen mit gesättigter Aetzbarytlösung entwickelt wird, in den spec. Drehungen, in der procentischen Zusammensetzung, besonders im Stickstoffgehalt und ausserdem durch die Form der Niederschlagsbildung beim Neutralisiren der Lösung.

Hoppe-Seyler unterscheidet speciell Syntonin von Acidalbumin. Das erstere entsteht aus Myosin oder Muskelsubstanz und kann durch die Behandlung mit Kalkmilch und Salmiak wieder in Myosin zurück verwandelt werden, während die Acidalbumine, aus den anderen Eiweissstoffen gebildet, bei der gleichen Behandlung kein Myosin geben.

K. B. Hofmann bezeichnet als Acidalbumine die Umwandlungsprodukte durch Essigsäure, als Sytonine die durch Salzsäure entstandenen Verbindungen.

Die Acidalbumine sind identisch mit Rollets Albuminid und Meissners Parapepton.

Im Folgenden werde ich ohne Rücksicht auf die feineren Unterschiede nur von Acidalbuminen sprechen. Dieselben bilden sich:

- 1) Bei der Einwirkung von sehr verdünnten Mineralsäuren auf Albumine und Globuline. Setzt man die Säure allmählig zu, oder lässt man einen mit Albuminlösung beschickten Dialysator auf Säure schwimmen, so gesteht das Acidalbumin in Form von durchscheinenden Gallerten. Rollet<sup>1)</sup> erhielt derartige Gallerten bei der Einwirkung von Schwefelsäure von 1,0067 sp. Gew., Salzsäure (1,0065 sp. Gew.), Salpetersäure (1,0066 sp. Gew.), Phosphorsäure 1,0103 sp. Gew.).
- 2) Durch saure Pepsinlösung, welche man auf native oder coagulirte Eiweissstoffe und Fibrin wirken lässt.
- 3) Bei der Einwirkung concentrirter Salzsäure, Salpetersäure und Schwefelsäure auf Eiweisskörper. Ebenso wird Chondrin und Blutfarbstoff durch diese starken Säuren in Acidalbumin umgewandelt. Auf dieser Bildungsweise beruht die bei Hofmann<sup>2)</sup> angegebene Darstellungsmethode des Acidalbumins. Man digerirt Eieralbumin oder löst Serumeiweiss in rauchender Salzsäure, lässt stehen bis die Lösung blau gefärbt ist, filtrirt und verdünnt mit dem doppelten Volum Wasser. Der Niederschlag wird gesammelt, in Wasser gelöst und diese Lösung vorsichtig mit Natriumcarbonat neutralisirt. Der gallertig-flockige Niederschlag wird mit Wasser bis zum Verschwinden der Salzsäurereaction gewaschen.
- 4) Bei der Behandlung der Albumine und Globuline mit verschiedenen Salzen schwerer Metalle z. B. Eisenchlorid, Quecksilbernitrat, Platinchlorid.
- 5) Durch concentrirtere Essigsäure, wenn man Eiweissstoffe mit derselben in Berührung bringt; Erwärmen begünstigt die Umwandlung. Setzt

1) Sitzungsber. der Wiener Academie. Bd. 84, Abth. 3. 1881. p. 332—380.

2) l. c. p. 630.

man vor dem Erwärmen noch etwas Salzsäure zu, so lässt sich die entstehende Lösung leicht filtriren. Aus dem Filtrat wird das Acidalbumin durch Zusatz von kohlensaurem Kali bis zur ganz schwachsauren Reaction ausgefällt und mit destillirtem Wasser gewaschen.

Je nach der Bildungsweise der Concentration von Säure und Eiweissstoff erscheint das Acidalbumin in verschiedener Form, als Lösung, Gallerte oder flockiger Niederschlag. Ausserdem scheint noch die Menge der vorhandenen Salze, sowie die Substanz, von welcher man ausgeht, nicht ohne Einfluss auf das Aussehen und den Aggregatzustand des Acidalbumins zu sein.

Die procentische Zusammensetzung des Muskelyntonins ist

C.	54,1 %
H.	7,3
N.	16,1
S.	1,1
O.	21,5

Die Lösung in verdünnter Salzsäure hat die spezifische Drehung  $(\alpha)_D = -72^\circ$  (unabhängig vom Concentrationsgrad der Lösung?).

In Wasser ist Acidalbumin unlöslich, nach längerem Stehen unter Wasser wird es auch unlöslich in sehr verdünnter Salzsäure.

Kochsalzlösung verschiedener Concentration (auch 10 %) löst nicht oder doch nur in ganz minimaler Menge; aus sauren Lösungen werden die Acidalbumine durch Sättigung mit Kochsalz vollständig ausgefällt.

Die sauren Lösungen werden ausserdem durch Eintragen von Ammoniumchlorid, schwefelsaurem Natrium und schwefelsaurer Magnesia gefällt, desgleichen schlägt concentrirtes Natriumacetat das Syntonin aus saurer Lösung nieder.

Durch sehr kleine Mengen von Calciumchlorid und Baryumchlorid werden die Acidalbumine gefällt, lösen sich im Ueberschuss des Fällungsmittels wieder auf.

In Trikaliumphosphat und in Dinatriumphosphat ist Acidalbumin löslich, in Monokaliumphosphat dagegen unlöslich. Das Dinatriumphosphat löst in sehr verdünntem Zustand die Essigsäuregallerte (vgl. Darstellung No. 5, pag. 212) nur sehr wenig oder gar nicht, erst bei stärkerer Concentration wirkt sie lösend. Die alkalische Lösung wird bei Gegenwart von Alkaliphosphaten durch Säurezusatz erst gefällt, wenn das sich bildende saure Phosphat (Monophosphat) dem Molekül nach das neunfache des noch vorhandenen neutralen Phosphates (Diphosphat) beträgt. Fügt man darüber noch eine geringe Menge von Säure hinzu, so erfolgt der Niederschlag. Das Acidalbumin wird demnach gefällt, noch bevor sämtliches Dinatriumphosphat in das Monophosphat übergeführt ist (Unterschied von Alkalialbuminat). In Soda gelöst, wird das Syntonin bei Gegenwart von Dinatriumphosphat durch das Monophosphat leichter gefällt als das Alkalialbuminat. In Monophosphat mit wenig Diphosphat gemengt, ist das Acidalbumin nicht löslich.

Durch Kalilauge und Alkalicarbonat wird das Acidalbumin leicht gelöst und nach einiger Zeit in Alkalialbuminat übergeführt. Das Carbonat ruft diese Umwandlung langsamer und erst in der Wärme hervor. Alkalialbuminat wird durch Säure nicht wieder in Syntonin zurückverwandelt.

Natriumhydrat, Natriummono- und Bicarbonat, Lithiumcarbonat lösen das Acidalbumin etwas schwieriger als das Kalialbuminat.

Kalk- und Barytwasser lösen, nach meinen Erfahrungen, an Essigsäurealbumin nur sehr schwer. Frisch gefällter Niederschlag löst sich leichter auf, diese Lösung in Kalkwasser schäumt beim Kochen.

Aus Calcium-, Strontium-, Baryumcarbonat soll Acidalbumin keine Kohlensäure austreiben (vgl. Alkalialbuminat).

Beim Neutralisiren alkalischer Lösungen fällt das Acidalbumin vollständig aus, die Niederschläge sind gallertig (bei den Albuminaten dagegen nicht gallertig).

Kohlensäure fällt Acidalbumin leichter als das Albuminat, sie fällt auch bei Gegenwart von Dinatriumphosphat.

Acidalbumin durch Essigsäure erhalten bildet, wenn über 8% wasserfreie Säure auf 1% wasserfreies Albumin angewendet wird, eine bei gewisser Temperatur dünnflüssige, mehr erwärmt ganz schmelzende Masse, die beim Erkalten wieder gelatinirt. Der Schmelzpunkt ist aber um so niedriger, je mehr Säure verwendet wurde. Sehr säurearme Gelatinen schmelzen nicht, sondern coaguliren, wenn sie bis zu 75—85° C. erhitzt werden. Verdünnte Essigsäure löst ohne Gallertbildung. Aus alkalischen Lösungen wird das Acidalbumin durch Essigsäure (und auch durch Salzsäure) schon bei alkalischer Reaction gefällt (vgl. Albuminat).

In Salzsäure verhalten sich die durch Fällung aus alkalischer Lösung erhaltenen Niederschläge und die durch Dialyse erhaltenen Gallerten nicht vollständig gleich. Frisch gefällt wird das Acidalbumin leicht in sehr verdünnter Salzsäure gelöst, concentrirtere Salzsäure löst langsamer unter Bildung einer glasigen Gallerte. Aus dieser Lösung wird das Acidalbumin durch Wasserzusatz nicht gefällt. Die durch Dialyse auf Säure erhaltenen Gallerte verhält sich folgendermaassen:

In Wasser . . . . .	— stark quellend.
- Salzsäure von 0,1—1 % . . . . .	— weniger quellend.
- " " 2,5 % . . . . .	— nahezu unverändert bleibend.
- " " 5—20 % . . . . .	— schrumpfend.
- " " 22,4 % und concentrirter	— erfolgt Lösung unter Abschmelzen der Kanten.

In verdünnter Schwefelsäure löst sich das Acidalbumin bei gewöhnlicher Temperatur nur langsam, beim Erwärmen jedoch schnell. Concentrirte Schwefelsäure löst leicht unter Braunfärbung und Bildung eines fluorescirenden Farbstoffes. Bei Wasserzusatz entsteht ein weisser Niederschlag.

Verdünnte und concentrirte Salpetersäure löst in der Kälte nicht, die Niederschlagsflocken färben sich binnen Kurzen gelb. Beim Erwärmen

löst die concentrirte Säure das Acidalbumin leicht auf, durch Zusatz von Wasser entsteht eine Trübung.

Beim Erwärmen in Wasser löst sich die Acidalbumingallerte auf, ohne beim Erkalten wieder zu gestehen. Eine Lösung in möglichst wenig Kali oder in kohlenurem Natron gerinnt beim Erwärmen nicht, auch wenn sie im zugeschmolzenen Rohre über 100° erhitzt wird. Die Lösung des Syntonins in Kalkwasser coagulirt beim Kochen theilweise.

Alkohol fällt das Acidalbumin leichter als das Alkalialbuminat. Die Lösungen in 0,1% Salzsäure werden schwierig gefällt. Nicht zu concentrirte salzfreie, alkalische Acidalbuminlösung wird durch Alkohol nicht gefällt.

Acidalbumine werden sowohl durch Pepsin als durch Trypsin leicht verdaut.

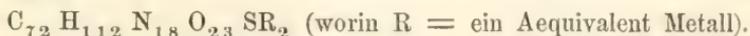
Ich erwähnte schon oben, dass das Syntonin beim Stehen unter Wasser eine Veränderung erleidet, so dass es sich in sehr verdünnter Salzsäure nicht mehr löst. Durch Erwärmen mit 1 procentiger Natronlauge wird es wieder in Syntonin verwandelt. Durch Lösen in Kalkwasser, nachherigen Zusatz von Chlorammonium fast bis zur Sättigung der Lösung und sehr schwaches Ansäuern mit Essigsäure geht es in Myosin oder eine dem Myosin sehr ähnliche Globulinsubstanz über.

### Alkalialbuminat.

Alkalialbuminate bilden sich bei der Einwirkung von Kali auf die Eiweissstoffe (Pepton ausgenommen). Sie weichen von den Caseinen in keiner wesentlichen Eigenschaft ab, nur dass sie durch das Lab des Kälbermagens nicht zum Coaguliren gebracht werden. In ihren Eigenschaften stehen sie auch den Acidalbuminen sehr nahe (vgl. diese).

Die Darstellung (vgl. Hofmann pag. 628) geschieht durch Eintropfen von concentrirter Kalilauge in Hühnereweiss, das von seinen Häuten befreit ist, es bildet sich eine Gallerte, die in Stücke geschnitten, auf dem Leinenfilter mit Wasser zu waschen ist, dann in kochendem Wasser gelöst wird. Aus dieser Lösung fällt man das Albuminat durch verdünnte Essigsäure. Ebenso erhält man Alkalialbuminatgallerten beim Dialysiren von gelösten Eiweissstoffen über verdünnter Kalilauge. Rollet schlägt für diese Körper den Namen Albuminin vor.

Das Alkalialbuminat ist aufgefasst worden als zweibasische Säure mit der Formel



Es besitzt folgende Zusammensetzung:

C.	53,59 %
H.	6,95
N.	15,63
S.	1,99
O.	21,84

Durch die Behandlung von Eiweissstoffen mit Kali findet eine Steigerung ihrer spec. Rotation statt, bei Serumalbumin auf  $-86^{\circ}$ , Eieralbumin auf  $-47^{\circ}$ , coagulirtes Eieralbumin auf  $-58,8^{\circ}$  für gelbes Licht.

In Wasser ist Alkalialbuminat etwas löslich, bei Abwesenheit von überschüssigem Alkali jedoch nur sehr wenig. Trockene Albuminate sind unlöslich, quellen jedoch auf.

Durch Neutralsalze geringerer Concentration z. B. 10 proc. Kochsalzlösung wird das Albuminat nicht mehr als in Wasser gelöst.

Nicht zu concentrirte Lösungen von Calcium-, Ammonium-, Natriumchlorid, schwefelsaurer Magnesia lassen die alkalische Albuminatlösung in der Kälte unverändert, beim Kochen erfolgt flockige Ausscheidung.

Werden Kochsalz oder schwefelsaure Magnesia in fester Form zu einer sehr schwach alkalischen oder sauren Albuminatlösung gebracht, so scheiden sich schon in der Kälte Flocken ab.

Schwefelsaures Natron bis zur Sättigung zu einer schwach alkalischen Lösung gesetzt, bewirkt höchstens Trübung, erst beim Erwärmen erfolgt flockige Ausscheidung.

Ebenso fällt Ammoniumchlorid im Ueberschuss nicht oder nur sehr unvollständig.

Verhalten gegen Calcium- und Baryumchlorid wie bei Acidalbumin.

Trikaliumphosphat löst vollständig, ebenso Dikalium- und Dinatriumphosphat, wenn es nicht zu verdünnt ist; Monokaliumphosphat löst weder verdünnt noch concentrirt, auch bei längerer Einwirkung nicht. Bei Gegenwart von Dinatriumphosphat wird das Albuminat von Säuren bei Temperaturen unter  $35-40^{\circ}$  C. nur dann gefällt, wenn alles Dinatriumphosphat in Mononatriumphosphat übergeführt ist und noch ein kleiner Ueberschuss von Säuren vorhanden ist. Es kann also die albuminathaltige Flüssigkeit sauer reagiren, ohne dass das Albuminat gefällt wird. (Vgl. Acidalbumin.)

In Soda gelöst wird das Alkalialbuminat bei Gegenwart von Dinatriumphosphat durch das einbasische Phosphat nur schwierig gefällt.

Durch Sättigung mit Dinatriumphosphat wird das Albuminat nicht gefällt.

Verdünte Kali- oder Natronlauge, Natriummono- und bicarbonat oder Lithiumcarbonat lösen frischgefällte Niederschläge leicht auf, etwas schwerer die längere Zeit unter Wasser gestandenen oder erwärmten Niederschläge.

Concentrirte Alkalien können das Albuminat in coagulirtes Albumin überführen, es entsteht eine durchsichtige Gallerte. Aus der Lösung in Kalilauge wird das Albuminat durch viel Wasser nicht ausgefällt.

Kalk- und Barytwasser lösen den Albuminatniederschlag auf, die Lösung wird durch Erwärmen beschleunigt. Ist Kalkwasser nicht im Ueberschuss zugesetzt, so soll die Lösung sauer reagiren (?).

Albuminate treiben aus Calcium-, Strontium-, Magnesiumcarbonat die Kohlensäure aus und lösen sich in Verbindung mit diesen Metallen. Die vom Alkalialbuminate gebundene Kalkmenge beträgt 1,6—1,7 %

Beim Neutralisiren fällt das Albuminat aus, der Niederschlag ist nicht gallertig. Die Lösung in Kali wird bei vollständig neutraler und auch bei sehr schwach saurer Reaction noch nicht niedergeschlagen, sondern bleibt noch gelöst, und erst bei stärker saurer Reaction entsteht der Niederschlag.

Kohlensäure fällt das Albuminat aus der Lösung von Dinatriumphosphat.

In verdünnter Essigsäure wird das frisch gefällte Albuminat gelöst, ohne dass vorher eine Gallerte entsteht; in concentrirter Essigsäure wird der Niederschlag zuerst gallertig, löst sich sodann auf. Erwärmen beschleunigt die Auflösung.

In verdünnter Salzsäure (0,1—1 %) ist der frisch gefällte Niederschlag leicht löslich, durch 10procentige Salzsäure entsteht ein bleibender Niederschlag, der sich bei Wasserzusatz wieder löst. Rauchende Salzsäure gibt einen im Ueberschuss der Säure löslichen Niederschlag. Erwärmen begünstigt die Lösung. Durch Dialyse erhaltene Albuminatgallerten quellen in 1 % Salzsäure auf, schrumpfen in mässig concentrirter Salzsäure, in hochconcentrirter Säure schrumpfen sie anfangs, werden dann glasigdurchsichtig.

Verhalten gegen Schwefelsäure und Salpetersäure wie bei dem Acidalbumin. Die Niederschläge in Salpetersäure sind in Kali nur schwer löslich, man kann daher die Xanthoproteinreaction an den Niederschlagsflocken sehr schön verfolgen.

In kochendem Wasser sind die Albuminate leicht löslich.

Möglichst alkaliarme Lösung im zugeschmolzenen Rohre über 100° erhitzt, coagulirt. Hat man zu einer alkalischen Albuminatlösung so viel Säure zugesetzt, dass das Albuminat nur eben wieder in Lösung gegangen ist, so entsteht beim Kochen dieser Lösung ein flockiger Niederschlag, hat man mehr Säure zugesetzt, so bleibt die Lösung beim Kochen klar.

In Alkohol ist das Albuminat etwas löslich, concentrirtere Albuminatlösungen trüben sich bei Zusatz von Alkohol, lösen sich jedoch beim Erwärmen wieder auf. Ebenso wird die Lösung in 0,1 % Salzsäure nur schwierig gefällt. Die Albuminate sind durch Alkohol schwieriger fällbar als die Acidalbumine.

Durch Schütteln mit Aether trüben sich Albuminatlösungen.

Pepsin und Trypsin führen die Albuminate sehr schnell in Peptone über.

### Casein.

Bei der Verwandtschaft der Caseine mit den Alkalialbuminaten, wird es genügen, an dieser Stelle auf die Reactionen des letzteren zu verweisen und nur einige specielle Eigenschaften hervorzuheben. Ueber einige fragliche Unterschiede der beiden Stoffe siehe Hofmann p. 668.

Das Casein kann durch Sättigung mit schwefelsaurer Magnesia gewonnen werden oder indem man die auf das 20fache verdünnte Kuhmilch mit wenig Essigsäure versetzt und dann durch Einleiten von Kohlensäure die Fällung vervollständigt. (Hoppe-Seylers Methode.) Neuerdings ist von J. Frenzel

und Th. Weyl<sup>1)</sup> die Fällung mit Schwefelsäure von 1‰ (d. h. Säure, welche 1 cbcm reine conc. Schwefelsäure von 1,84 sp. Gew. auf 1 Liter destillirtes Wasser enthält) empfohlen worden.

Durch wiederholtes Auflösen des Niederschlags im kohlensauren Natron und Fällen mit Essigsäure und durch Waschen mit Wasser, Alkohol und Aether ist das Casein zu reinigen. Es enthält jedoch noch immer Nuclein, welches aus den desorganisirten Kernen der Milchdrüsen stammt.

Die procentische Zusammensetzung des Caseins ist folgende:

	Menschliche Milch.	Kuhmilch.
C.	52,35 %	53,62 %
H.	7,27	7,42
N.	14,65	14,20
S + O	25,73	24,76

Die spec. Drehung ist je nach dem Lösungsmittel verschieden. In schwach alkalischer Lösung beträgt  $(\alpha)_D = -76^\circ$ , in sehr verdünnter Lösung  $-87^\circ$ , in stark alkalischer  $-91^\circ$ .

Verhalten gegen Wasser und Neutralsalze wie Alkalialbuminat. Lässt man das mit Säure gefällte Casein unter Wasser stehen, wird es derartig verändert, dass es mit Lab nicht mehr gerinnt.

Da das Casein wie die Albuminate in verdünnter Salzsäure leichter löslich ist als in Essigsäure, so wird es aus der salzsauren Lösung durch Natriumacetat ausgefällt.

Das Verhalten gegen freies Alkali und gegen Alkalicarbonate wie bei den Albuminaten. Starke Kalilauge verändert das Casein, so dass es mit Lab nicht mehr gerinnt. Hochconcentrirte Alkalien zerlegen es unter Abscheidung von Schwefelwasserstoff.

Baryt- und Kalkwasser lösen es leicht auf. Aus kohlensaurem Kalk wird die Kohlensäure ausgetrieben, indem sich das Casein mit Calcium verbindet. Eine Lösung von Casein in Kalkwasser kann durch Phosphorsäure zu einer milchigen, keinen Niederschlag absetzenden Flüssigkeit neutralisirt werden, es scheint sich Casein dabei mit Calciumphosphat zu verbinden.

Beim Neutralisiren fällt Casein aus. Bei Gegenwart von Phosphaten sowie bei der Lösung in kohlensaurem Natron, Kalk- oder Barytwasser, wenn Natriumchlorid oder Kaliumchlorid vorhanden ist, muss die Flüssigkeit sauer reagiren, bevor die Fällung durch Essigsäure eintritt.

Kohlensäure vermag den Kalk in einer Caseinlösung nicht zu fällen.

Verdünnte Essigsäure fällt das Casein, concentrirte löst es langsam auf.

Salzsäure fällt das Casein aus der alkalischen Lösung, ein Ueberschuss der Säure löst es wieder auf.

Concentrirte Mineralsäuren verändern das Casein, so dass es mit Lab nicht mehr gerinnt.

Beim Erwärmen gerinnt weder die saure noch die alkalische Lösung. Durch Hitze wird gefälltes Casein in coagulirtes Albumin übergeführt.

<sup>1)</sup> Zeitschrift f. physiologische Chemie. Bd. 9. 1885. p. 246.

In Alkohol ist Casein bei gewöhnlicher Temperatur etwas, beim Erwärmen leichter löslich.

Die Behandlung mit Aether macht es nicht unlöslich in Wasser.

Bei der Pepsinverdauung bleibt ein Rest zurück, welcher der Beimengung von Nuclein entspricht, das Casein selbst ist leicht verdaubar.

Kuhmilch in Kalkwasser gelöst, die Lösung mit Phosphorsäure neutralisirt oder angesäuert, wird durch Lab zum Gerinnen gebracht. Ein Gramm Lab vermag 30 Liter Milch zu verwandeln. Das entstandene Coagulationsprodukt ist sog. Käse, ein Albuminstoff, der sich von dem Casein durch verschiedene Reactionen unterscheidet. Die näheren Angaben hierüber bei Hofmann p. 669.

Das Casein wird durch Ferrocyankaliumlösung, welche mit Essigsäure angesäuert wurde, gefällt.

Durch schwefelsaures Kupfer wird das Casein aus völlig neutralisirter Flüssigkeit vollständig und ohne Aenderung seiner Zusammensetzung niedergeschlagen. Platincyankalium fällt aus sauren Lösungen einen compacten Niederschlag, der sich allmählig zusammenzieht.

### Albumose (Hemialbumose Hoppe-Seylers).

Mit diesem Namen bezeichnet man Uebergangsprodukte, welche bei der Verdauung der Eiweisskörper entstehen, bevor dieselben vollständig in Pepton übergeführt werden. Zu denselben gehören die Hemialbumose Hoppe-Seylers, das Propepton Schmidt-Mühlheims, das  $\alpha$ -Pepton von Meissner.

In neuerer Zeit ist durch die Arbeiten von W. Kühne und R. H. Chittenden<sup>1)</sup> festgestellt worden, dass in den Eiweissstoffen zwei verschiedene Gruppen vorkommen, welche sich hauptsächlich durch das verschiedene Verhalten gegen Pepsin und Trypsin unterscheiden. Die Anti-Gruppe besteht aus Stoffen, welche bei langandauernder Wirkung dem Trypsin widerstehen, durch Trypsin also auch bis zu dem Antipepton verdaut werden, durch Fermentwirkung aber nicht weiter in Leucin, Tyrosin zu zerlegen sind, welche Stoffe aber durch Sieden mit stärkeren Säuren sehr leicht zu erzielen sind.

Die Hemigruppe dagegen widersteht der Trypsinverdauung viel weniger, indem das auch bei der Pepsinverdauung erhaltene Hemipepton durch Trypsin weiter in Leucin und Tyrosin zerlegt wird.

Zu einer analogen Auffassung ist Schützenberger gelangt, indem er die Zersetzungsprodukte von coagulirtem Eiweiss durch siedende Säuren studirte. Das coagulirte Eiweiss ist zur einen Hälfte sehr resistent gegen siedende Schwefelsäure, zur anderen Hälfte bei dieser Behandlung löslich. Wird feuchtes coagulirtes Eieralbumin (entsprechend 5 Th. Trockensubstanz) mit 1 Theil Schwefelsäure (spec. Gew. 1,842) und 40 Theilen Wasser 1½ Stunden im Wasserbade erhitzt und die Wassermenge constant erhalten, so

<sup>1)</sup> Ueber die nächsten Spaltungsprodukte der Eiweisskörper, Zeitschrift für Biologie von Kühne und Voit. Bd. 19, Neue Folge Bd. 1, 1883. p. 159—208.

scheidet sich beim Stehen ein amorpher, der frisch gefällten Kieselsäure ähnlichsehender Bodensatz ab, welchen Körper Schützenberger als Hemiprotein bezeichnete. Die vom Hemiprotein abfiltrirte Flüssigkeit enthält verschiedene Stoffe, darunter Schützenbergers Hemialbumin.

Kühne und Chittenden bezeichnen nun das Hemiprotein als Antialbumid, weil man daraus durch Trypsinverdauung das Antipepton erhält.

Das Antialbumid ist ein Stoff, der erst durch die Säurewirkung, nicht aber bei der normalen Verdauung des Eiweisscoagulates durch Fermente entsteht, was schon daraus hervorgeht, dass coagulirtes Eiweiss durch Pepsin vollständig verdaut wird, das Antialbumid jedoch durch Pepsin nicht angegriffen wird.

Das Antipepton kann demnach erstens durch Vermittlung der Schwefelsäurewirkung, dann aber auch durch fractionirte Pepsinverdauung gewonnen werden. Im letzteren Falle tritt ein Uebergangsproduct auf, welches von Kühne und Chittenden als Antialbumose bezeichnet wird.

Dem Antipepton und der Antialbumose entsprechen die zwei Körper der Hemigruppe, die Hemialbumose<sup>1)</sup> und das Hemipepton. Für die Gewinnung dieser Körper eignet sich die Spaltung durch siedende Schwefelsäure nur wenig, insofern die Hemikörper zwar wirklich entstehen und neben dem Antialbumid in der Lösung leicht nachzuweisen sind, jeweils aber nur in geringer Menge auftreten, da sie schnell weiter zerfallen. Die Stoffe der Hemigruppe werden daher besser durch bestimmt regulirte Pepsinverdauung gewonnen, worüber in der Arbeit von Kühne und Chittenden (p. 173 und 184) das Nähere nachzusehen ist.

Durch verschiedene Behandlungsweisen von Eiweisskörpern und deren Zersetzungsproducten kann man schliesslich zu Eiweisskörpern gelangen, welche durch Pepsin-Salzsäure nicht peptonisirbar, aus saurer Lösung durch Neutralisation fällbar sind, und den von Meissner gefundenen Parapeptonen sehr nahe stehen. Es kann dies nach Kühne und Chittenden<sup>2)</sup> auf folgende Weise geschehen: 1) aus den Antialbumiden, wenn man dieselben in Soda löst, wodurch sie zugleich für Salzsäure von 2 und 4% löslich werden; 2) durch längere Digestion der Fibrins, z. B. mit Salzsäure

1) Kühne und Chittenden haben ausserdem noch 4 verschiedene Hemialbumosen unterschieden (Zeitschrift für Biologie, herausgegeben von Kühne und Voit Bd. 20. 1884. p. 12). Ich will dieselben hier anführen, wengleich ihre Erkennung an mikroskopischen Objecten schwer durchführbar sein wird.

1) Protalbumose, durch festes Kochsalz im Ueberschuss fällbar, in kaltem und heissem Wasser löslich.

2) Heteroalbumose, durch Kochsalzüberschuss fällbar, in kaltem und in siedendem Wasser unlöslich, dagegen sowohl in verdünntem als in concentrirtem Salzwasser löslich.

3) Dysalbumose, wie Heteroalbumose, jedoch auch in Salzwasser unlöslich.

4) Deuteroalbumose, durch Kochsalzüberschuss nicht, dagegen durch Kochsalz und Säuren fällbar, in reinem Wasser löslich.

2) l. c. p. 205.

von 2—4‰ bei 40° C., oder ohne Erwärmung bei monatelangem Stehenlassen, wodurch man durch Neutralisation einen mit Syntonin und Hemialbumose gemengten Körper erhält, der dem besten Magensaft wochenlang widersteht. Diesen Körper, welcher die thatsächliche Basis der Meissner'schen Arbeit bildete, hat Kühne in dem als Parapepton bezeichneten Gemenge als Antialbumat bezeichnet; 3) die Bildung dieses Körpers in verdünnter Salzsäure wird durch unzureichende Mengen von Pepsin oder von gewissen Enzymen, wie z. B. durch das künftliche Pepsin Bondault, befördert; 4) wird die Antialbumose, also ein nach weit vorgeschrittener muster-gültiger Pepsinverdauung zu erhaltendes Neutralisationspräcipitat, welches nach erstem Ausfällen durch einmal erneute Wirkung jeden guten Magensaftes vollkommen peptonisierbar ist, überraschender Weise nur durch die anscheinend harmlosen Proceduren des wiederholten Fällens, Auswaschens und Verweilens in verdünnter Salzsäure, auch bei Gegenwart von wenig Pepsin, das mit der Fällung unvermeidlich niedergerissen wird, namentlich bei gewöhnlicher Temperatur, entweder ganz oder zu einem grossen Theile in das Antialbumat umgewandelt, also in einen Körper, der von tadellosem Magensaft nicht mehr peptonisirt wird. In den unter 2, 3, 4 beschriebenen Fällen handelt es sich wohl um ein Uebergangsproduct von Antialbumose in Antialbumid.

Nachdem ich nun den Zusammenhang und die Bildung der genannten Stoffe erläutert habe, möchte ich an dieser Stelle noch einige Reactionen anführen, welche die Albumosen von anderen Eiweissstoffen unterscheiden. Wir können hier im Allgemeinen bloss von Albumosen sprechen, da die weitere Unterscheidung der einzelnen Stoffe durch Verhalten gegen andere Reagentien, als die angegebenen, noch nicht näher untersucht ist.

In Wasser sind die Albumosen leicht löslich. Vgl. hierzu Anmerkung 1 auf pag. 220. In verdünnter und concentrirter Kochsalzlösung, desgleichen in verdünnter und concentrirter schwefelsaurer Magnesia werden die Albumosen nicht gefällt, so lange die Flüssigkeit neutral ist, sie werden dagegen vollständig gefällt, wenn zu der gesättigten Kochsalzlösung etwas Essigsäure, Salzsäure oder Salpetersäure hinzugefügt wird (Unterschied von Pepton). Vgl. hierzu Anmerkung 1 auf pag. 220.

In Alkalien, Alkalicarbonaten und Kalkwasser sind sie leicht löslich, coaguliren beim Kochen nicht. Beim Neutralisiren verhalten sich die dargestellten Albumosen verschieden, sie sind fällbar oder nicht.

In verdünnter Essigsäure sind sie löslich, ebenso in sehr verdünnter Salzsäure und Schwefelsäure (0,4%), durch Salpetersäure entsteht ein Niederschlag, der sich im Ueberschuss der Salpetersäure löst (Unterschied von Eiweiss). Beim Erwärmen des Salpetersäureniederschlags löst sich derselbe, erscheint jedoch beim Erkalten wieder.

Beim Kochen in Wasser lösen sich die Albumosen auf (Unterschied von Albumin). Beim Erwärmen in Kochsalzlösungen (verdünnt, eventuell angesäuert) kann bei circa 70° C. Ausfällung erfolgen, der entstandene

Niederschlag löst sich jedoch bei Siedetemperatur wieder auf (Unterschied von Albumin und Pepton). Vgl. hierzu Anmerkung auf pag. 220.

Durch Alkohol werden die Albumosen gefällt, bei Wasserzusatz wieder gelöst (wenn auch nicht immer vollständig?).

Durch Ferrocyankaliumlösung, die mit Essigsäure versetzt wurde, werden sie gefällt (Unterschied von Pepton). Wenig Essigsäure und nur eine Spur von Ferrocyankalium geben eine starke Fällung, die sich beim Erwärmen löst, beim Erkalten wieder erscheint.

Kupfersulfat, Eisenacetat, Eisensulfat fällen die salzarme Lösung nicht.

Millons Reagens färbt roth.

Biuretreaction vorhanden.

### Pepton.

Wie wir in dem vorausgehenden Abschnitt über die Albumosen (vgl. diese) gesehen haben, entstehen bei der Einwirkung von Verdauungsfermenten verschiedenartige Peptone. Abgesehen davon, dass die Hemipectone durch Trypsin weiter zerlegt werden, die Antipeptone aber nicht, zeigen die Peptone — soweit bekannt — gegen Reagentien dasselbe Verhalten.

Die Bezeichnung gewisser Verdauungsprodukte als Trypton ist nach Kühne fallen zu lassen, da sich dieselben besser in den Hemi- und Antikörpern einreihen lassen.

Ausser durch Verdauungsfermente entstehen Peptone aus den Eiweissstoffen durch Fäulniss, durch längere Behandlung mit starken Mineralsäuren und mit Aetzalkalilösung, verdünnte Säuren und Alkalien peptonisiren die Albumine erst bei Siedetemperatur.

In ihrer procentischen Zusammensetzung zeigen sie einen geringeren Kohlenstoff- und Stickstoffgehalt, als die Eiweisskörper, aus denen sie gebildet wurden, ohne dass jedoch bei der Peptonisirung weder Schwefel noch Ammoniak noch Kohlensäure ausgeschieden wird. Der procentisch geringere Gehalt an C und N erklärt sich durch die Aufnahme von Wasser. Eiweiss nimmt bei der Peptonisirung nach Danilewski 5,7—6,7 % Wasser auf, der Uebergang von Eiweiss in Pepton ist demnach wohl als eine Hydratbildung aufzufassen. Für diese Auffassung sprechen nach Hoppe-Seyler<sup>1)</sup> auch noch folgende Thatsachen: 1) das Gewicht der Albuminstoffe nimmt beim Uebergang in Pepton zu, 2) bei der Behandlung mit Essigsäureanhydrit oder beim Erhitzen auf 140—170° findet unter Austritt von Wasser eine Ueberführung in Albumose oder Acidalbumin statt, 3) die Sättigungscapacität der Peptone durch Basen und Säuren ist grösser als die irgend eines anderen Albuminstoffes.

Demgemäss ist die Auffassung, dass das Eiweiss nur eine polymere Verbindung des Peptons sei, wohl nicht mehr haltbar.

<sup>1)</sup> l. c. p. 287.

Zahlen, welche der wirklichen procentischen Zusammensetzung entsprechen, sind sehr schwer zu erhalten, da man wohl niemals vollkommen reines Pepton erhält. Nichtsdestoweniger möchte ich wenigstens den Werth für Fibrin (Mittel) und für die daraus gebildete Hemialbumose und das Antipepton (Kühne-Chittenden) hier anführen, sowie die Angaben für Hemialbumose und Hemipecton und Antipepton aus Eiweiss (nach Kühne und Chittenden).

Fibrin	Hemi- albumose	Antipepton	Albumin	Hemi- albumose	Hemi- pepton	Anti- pepton.
C. 52,51 %	50,32 %	48,60 %	C. 52,25 %	50,96 %	49,38 %	49,87 %
H. 6,98	6,72	6,60	H. 6,90	6,85	6,81	6,89
N. 17,34	16,83	15,39	N. 15,25	15,88	15,07	15,21
S. 1,18	1,37	1,35	S. 1,93	1,45	1,10	} 28,03
O. 21,99	24,76	28,06	O. 23,97	24,86	27,64	

Zur Darstellung von Pepton verwendet man am besten künstliche Verdauungsflüssigkeiten. Die Bereitung der Trypsinlösung nach Kühne'scher Methode habe ich schon in der Einleitung angeführt (vgl. pag. 7).

Zur Pepsinverdauung kann man entweder das käufliche Pepsinglycerin verwenden, das durch Extrahiren der Schleimhaut des Schweinemagens mit Glycerin gewonnen wird, oder man gebraucht, besonders wo eine kräftige, constante Verdauung verlangt wird, eine wässrige, schwach salzsaure Verdauungsflüssigkeit, welche man sich frisch bereitet. Dieselbe wird gewonnen<sup>1)</sup>, indem man die Innenseite eines frischen Schweinemagens mit Wasser abwäscht, das Epithel mit einem Tuche abtupft und mit einem stumpfen Spatel in der Weise sanft abstreift, dass der Inhalt der Drüsen als dicker Brei austritt. 10 gr. des Breies werden mit einem Liter Salzsäure von 0,4% 4 Stunden unter häufigem Umrühren auf 40° C. erwärmt, nach welcher Zeit ein körniger, wesentlich aus den Kernen der Drüsenzellen bestehender Rest oder noch einige schleimige Flocken oder Fäden zurückbleiben.

Für feinere mikroskopische Objecte empfiehlt W. Kühne<sup>2)</sup> statt der Salzsäure Oxalsäure anzuwenden. Derselbe gibt als gut verdauend eine Mischung von 100 cbcm Oxalsäure von 0,3% und 1 cbcm Pepsinglycerin an.

Die Pepsin- und Trypsinverdauung vollzieht sich besser bei einer Temperatur von 40—45° C.

Zur Darstellung von Pepton eignet sich am besten Fibrin, während coagulirte Eiweissstoffe nur langsam verdaut werden. Das mit dem 5—6fachen Volumen Salzsäure von 0,2—0,4% versetzte Fibrin lässt man zu einer glasigen Masse aufquellen, fügt Pepsinlösung hinzu und lässt bei 40—45° stehen, bis eine opalisirende graue Lösung entstanden ist. Man neutralisirt mit Natriumcarbonat, bis blaues Lakmuspapier schwach violett

1) Nach Kühne und Chittenden l. c. p. 184.

2) W. Kühne, Kurze Anleitung zur Verwendung der Verdauung in der Gewebsanalyse. Untersuchungen aus d. physiol. Institut der Universität Heidelberg. I. Bd. 1878. p. 219.

gefärbt wird, filtrirt von dem entstandenen Niederschlag ab, erhitzt nach schwachem Ansäuern und filtrirt nochmals. Aus dem Filtrat fällt man das Pepton mit absolutem Alkohol, extrahirt den auf Filtern gesammelten Niederschlag mit Aether und Aether-Alkohol und lässt ihn 2—3 Wochen unter absolutem Alkohol stehen, wodurch das noch vorhandene Eiweiss vollständig coagulirt, das Pepton dagegen in Wasser löslich bleibt. Die Fällung und Auflösung durch Alkohol resp. Wasser kann wiederholt werden, die entstandenen Niederschläge darf man jedoch nur bei einer Temperatur trocknen, die nicht höher ist als 30° C., da das Pepton sonst unlöslich wird.

Statt dieser zu lange dauernden Procedur kann man das Pepton frei von Eiweiss und Albumosen erhalten, wenn man die von dem oben angegebenen Neutralisationspräcipitat abfiltrirte Flüssigkeit mit neutralem schwefelsaurem Ammoniak sättigt<sup>1)</sup>, wobei nur das Pepton löslich bleibt, die übrigen Eiweissstoffe gefällt werden. Durch Dialyse entfernt man das hinzugefügte Salz.

Zur Trennung von Pepton und Albumosen eignen sich auch die von Hofmeister<sup>2)</sup> angegebenen Methoden, auf welche ich hier bloß verweisen will.

Was die Eigenschaften der Peptone anbelangt, so zeichnen sich dieselben vor den übrigen Eiweisskörpern durch ihre grössere Löslichkeit und die geringe Coagulationsfähigkeit aus.

In Wasser, verdünnten und gesättigten Neutralsalzlösungen, neutralem schwefelsaurem Ammon (gesättigt), phosphorsauren Alkalien, Aetzkalken, Kalk- und Barytwasser sind die Peptone leicht löslich.

Die mit Kochsalz gesättigte Lösung gibt beim Ansäuern mit Essigsäure, Salzsäure oder Metaphosphorsäure keinen Niederschlag.

Beim Neutralisiren einer sauren oder alkalischen Lösung entsteht kein Niederschlag.

Durch Kohlensäure wird das Pepton nicht gefällt.

In verdünnter und concentrirter Essigsäure, Salzsäure, Schwefelsäure, Metaphosphorsäure ist das Pepton löslich.

Salpetersäure fällt die verdünnteren Lösungen nicht, wohl aber die concentrirten, beim Erwärmen löst sich der Niederschlag auf.

Durch Hitze wird Pepton nicht coagulirt, bei höherer Temperatur getrocknet, wird es in Wasser schwerer löslich.

In absolutem Alkohol ist Pepton unlöslich, in Weingeist jedoch dem Wassergehalte entsprechend löslich. Durch die Behandlung mit Alkohol büsst es seine Löslichkeit in Wasser nicht ein.

Nach längerem Verweilen unter Alkohol oder Alkoholäther soll (nach

<sup>1)</sup> Kühne, Albumosen und Peptone, Verhandlungen des naturhistorisch-medizinischen Vereins zu Heidelberg. N. F. Bd. III, Heft 4, 1885. p. 286—294.

<sup>2)</sup> F. Hofmeister, Zur Lehre vom Pepton. Zeitschrift f. physiolog. Chemie. Bd. IV, 1880. p. 255 und p. 268.

Pöhl) Pepton wieder in Eiweiss zurück verwandelt werden, so dass die betreffenden Lösungen wieder von Ferrocyankalium plus Essigsäure gefällt werden.

Kupfersulfat gibt keinen Niederschlag.

Mit einem Tropfen Kupferlösung versetzt, welche so verdünnt ist, dass man die blaue Farbe nur in dichteren Schichten erkennen kann, gibt die Peptonlösung bei Zusatz von Natronlauge eine rothe bis rothviolette Färbung (Biuretreaction).

Mit Essigsäure oder Salpetersäure versetzte Ferrocyankaliumlösung fällt das Pepton nicht. Mit Ammoniak versetzte Bleiessiglösung schlägt das Pepton nieder.

Fügt man zu der essigsäuren Lösung ein Eisensalz, und kocht auf, so bleibt das Pepton in Lösung, während alle übrigen Eiweissstoffe mit dem Eisenoxyd niederfallen.

Salpetersaures Silberoxyd wird von Pepton in der wässrigen Lösung langsam reducirt, in concentrirteren Peptonlösungen erzeugt das salpetersaure Silberoxyd einen Niederschlag, der sich beim Erwärmen schwarz färbt.

In Essigsäure gelöst geben Peptone bei Zusatz von concentrirter Schwefelsäure violettblaue Färbung mit schwach grüner Fluorescenz.

Peptone diffundiren etwas durch Membranen, jedoch nicht so schnell, wie die beigemenigten Salze, Säuren und Basen. Die Diffusibilität durch Kautschukdialysatoren ist gering.

### Nucleine.

Als Nucleine bezeichnet man sehr verschiedenartige Proteinsubstanzen, welche nur in sehr ungenügender Weise untersucht und noch nicht rein dargestellt worden sind, sich jedoch von den Eiweissstoffen durch drei Eigenschaften wesentlich unterscheiden, 1) sie sind sehr reich an Phosphor, den sie nicht etwa als phosphorsaures Salz enthalten, sondern chemisch gebunden, die Nucleine sind demnach organische Phosphorverbindungen, die sich jedoch durch ihre Unlöslichkeit in kaltem und warmem Alkohol von Lecithin und ähnlichen organischen Phosphorverbindungen leicht trennen lassen; 2) die Nucleine werden bei der Pepsin-Salzsäurebehandlung nicht verdaut; sie bleiben vollständig unverändert; 3) bei der Zersetzung liefern sie einen oder mehrere Stoffe der Xanthingruppe — Xanthin, Hypoxanthin (oder Sarkin), Guanin, ausserdem noch Eiweissstoffe. Ob Stoffe, die bei der Zersetzung nur Eiweissstoff und Phosphorsäure liefern, auch als Nucleine anzusehen sind, wie dies Hoppe-Seyler<sup>1)</sup> annimmt, scheint mir doch sehr fraglich zu sein, da hier möglicherweise durch Pepsin nicht weiter angreifbare Antialbumosen vorliegen konnten.

Die verschiedenen Nucleine differiren sehr wesentlich in Bezug auf die Menge ihres Phosphorgehaltes, in ihren Zersetzungsproducten und in ihren Löslichkeitsverhältnissen. So differirt der Phosphorgehalt der Nucleine verschiedener

<sup>1)</sup> l. c. p. 303.

Herkunft zwischen 2 % und 9 %; aber auch gleichartige Nucleine zeigen nicht unter allen Umständen denselben Phosphorgehalt. So hat z. B. Lubavin in der Milch (ausser dem Casein) Nuclein nachgewiesen, welches bei fractionirter Fällung mit Salzsäure aus seiner Lösung in 1 % Soda anfangs P ärmere, Fe reichere, später P reichere und Fe ärmere Praecipitate lieferte. Behandelt man ferner das aus der Kuhmilch gewonnene Casein 1—4 Tage mit Pepsinsalzsäure, so erhält man ein Nuclein, das 2—3 % P enthält, wird länger verdaut, so enthält der unlösliche Nucleinrückstand 4,37 % Phosphor.

Was die Verschiedenartigkeit der Zersetzungsproducte anbelangt, so beziehen sich die Differenzen der einzelnen Nucleine auf den verschiedenen Gehalt an Körpern der Xanthingruppe, sowie auf die Verschiedenartigkeit der auftretenden Eiweissstoffe.

So lange jedoch die Darstellungsmethoden des Nucleins noch so unvollkommen sind, wie bei den meisten Untersuchungen, kann man nach meiner Ansicht nicht unterscheiden, was Zersetzungsproduct ist und was ursprünglich aus den Zellen zugleich extrahirter Eiweissstoff ist. Namentlich gilt dies von Methoden, bei denen von der Anwendung pepsinhaltigen Verdauungssaftes abgesehen wurde. So hat z. B. Kossel<sup>1)</sup> aus Hefe Nuclein dargestellt, indem er Hefe in sehr verdünnte Natronlauge gebracht hat, diesen Auszug in verdünnte Salzsäure eintröpfelte. Der gebildete Niederschlag wird anfangs mit Salzsäure, später mit Alkohol gewaschen und dann getrocknet. Wenn wir bedenken, wie sich bei den von mir untersuchten Pflanzen durch verdünntes Alkali so mannigfaltige Stoffe extrahiren lassen, die zugleich in verdünnter Salzsäure unlöslich sind, müssen wir zur Ueberzeugung gelangen, dass dies auch bei der Hefe stattfindet, die ja ebenfalls eine complicirt zusammengesetzte Pflanzenzelle ist. Jedenfalls genügt das Waschen mit verdünnter Salzsäure nicht, um alle Eiweissstoffe zu entfernen.

Aber auch zwischen den nach besseren Methoden dargestellten Stoffen bestehen, wie schon F. Miescher<sup>2)</sup>, der Entdecker der Nucleine, gezeigt hat, sehr bedeutende Unterschiede, welchen Miescher dadurch Ausdruck gegeben hat, dass er lösliche und unlösliche Nucleine unterschied. Für gewisse Fälle ist jedoch nachgewiesen, dass die unlösliche Modification in die lösliche übergeht, so z. B. beim Nuclein des Eiters. Dieser Forscher fand auch, dass bestimmte Nucleine verschiedene Verbindungen eingehen können, so ist z. B. das Nuclein des Lachsspermas an eine organische Base, das „Protamin“ gebunden, während dies bei dem Nuclein des Stierspermas nicht der Fall ist.

Dieser hier nur angedeuteten Mannigfaltigkeit der Nucleine entsprechen nun auch die Reactionen und Löslichkeitsverhältnisse und wir müssen uns

1) Ueber das Nuclein der Hefe I, Zeitschrift für physiologische Chemie. Bd. 3 p. 284—291.

2) Die Spermatozoen einiger Wirbelthiere. Verhandlungen der naturforschenden Gesellschaft in Basel. Bd. VI, Heft 1. 1874, p. 138—208.

daher in dieser Zusammenstellung nur auf die allgemeiner gültigen Eigenschaften beschränken.

Dargestellt wurden Nucleinkörper aus sehr verschiedenen thierischen Organen und Pflanzen. So aus Spermatozoiden, Blutkörperchen und Eiterzellen, aus Kuhmilk, Muskel, Gehirn, Leber, Eidotter; ferner von Pflanzen aus Hefe, Schimmelpilzen, Raps-, Erdnuss-, Moh-, Baumwollensamen und verschiedenen Futtermitteln. Eine vortreffliche Uebersicht über die meisten der bisherigen Arbeiten gibt E. Zacharias<sup>1)</sup>, auf welche ich speciell verweisen möchte, da dort auch die nähern Litteraturangaben zu finden sind.

Die Nucleine wurden auf verschiedene Weise von den einzelnen Forschern dargestellt, doch dürfte folgendes Verfahren am besten zu verwenden sein. Man digerirt die betreffenden Organe, oder, wo es möglich ist, die auf mechanischem Wege isolirten Kerne 3—4 Mal mit warmen Alkohol, um Fette und Lecithin zu entfernen. Die durch den Alkohol coagulirten Proteinsubstanzen werden bei circa 40° C. mit Pepsinsalzsäure der Verdauung unterworfen, wobei es angezeigt ist, die Verdauungsflüssigkeit 1—2 Mal zu erneuern und mindestens 24 Stunden wirken zu lassen. Der unverdaute Rückstand wird auf dem Filter gesammelt, mit Alkohol, Aether, Wasser gewaschen und schliesslich nochmals mit warmem Alkohol extrahirt, um die letzten Lecithinreste zu entfernen.

Was die Reactionen der Nucleine anbelangt, so habe ich ausser den allgemein gültigen Löslichkeitsverhältnissen auch noch einige aufgenommen, welche bisher nur für einzelne Nucleine festgestellt wurden und mit einem \* bezeichnet.

Die Nucleine sind in Wasser unlöslich oder doch nur in ganz geringer Menge löslich.

In Kochsalz quellen sie zu schleimigen Gallerten auf, ohne sich jedoch zu lösen.

\*Natriumacetat löst Nuclein.

\*Auf Zusatz von Chlorbaryum, Chlorcalcium, Chlormagnesium entstehen in einer circa 40% Alkohol enthaltenden ammoniakalischen Lösung flockige weisse in Ammon unlösliche Fällungen, die sehr wahrscheinlich salzartige Verbindungen der Basen mit dem den Charakter einer Säure besitzenden Nuclein darstellen (lösliche Modification). Der Niederschlag entsteht auch ohne Alkoholzusatz (unlösliche Modification).

Dinatriumphosphat löst die Nucleine zu einer beim Kochen klar bleibenden Lösung. Setzt man zu dieser Lösung Salzsäure, so entsteht ein Niederschlag, der sich im Ueberschuss nicht auflöst.

Verdünnte Aetzkalkalien lösen die Nucleine auf, zersetzen dieselben jedoch nach einiger Zeit. Das Nuclein des Stiersamens (unlösliche Modification des Nucleins) löst sich erst bei 80° C.

In verdünnter Sodalösung (1%) ist die sogenannte lösliche Modification leicht löslich, die sogenannte unlösliche Modification dagegen nicht.

1) Bot. Zeitung 1882. p. 639 ff.

Ammoniak löst Nucleine auf, die unlösliche Modification jedoch nur schwer.

Die unlösliche Modification von Kali aufgenommen, durch Salzsäure gefällt, gibt eine in verdünnter Sodalösung leicht lösliche Modification, ebenso die in concentrirter Salzsäure aufgelösten Nucleine. Es scheint mir hierbei eine durchgreifendere Zersetzung nicht ausgeschlossen zu sein.

Die Lösung in Natron oder Ammoniak reagirt sauer, so lange noch etwas überschüssiges Nuclein vorhanden ist.

Aus der alkalischen Lösung fällt verdünnte Salzsäure das Nuclein vollständig aus; der Niederschlag verschwindet bei weiterem Zusatz von Salzsäure. Die Lösung in Salzsäure gibt beim Neutralisiren mit Ammoniak oder nach Zusatz von 10% Kochsalz oder von Ammoniumchlorid einen Niederschlag.

In verdünnter Essigsäure sind die Nucleine unlöslich, dieselben werden aus der alkalischen Lösung ausgefällt, ohne im Ueberschuss der Säure löslich zu sein. Eisessig löst weder bei gewöhnlicher Temperatur noch beim Kochen.

In verdünnter Salzsäure (0,1—1%) sind die Nucleine unlöslich, quellen auch darin nicht auf. (Durch verdünnte Salzsäure kann man daher ein Gemisch leicht von den Phosphaten und von Glycerinphosphorsäure befreien.) Ein nicht zu bedeutender Ueberschuss von Salzsäure löst ebenfalls noch nicht. Rauchende Salzsäure löst das Nuclein, fügt man nach kurzer Zeit Wasser hinzu, so tritt Fällung ein, nach einigen Minuten dagegen nicht mehr. Es spricht dies für eine Umwandlung und Zersetzung des Nucleins.

Verdünnte Salpetersäure fällt das Nuclein, concentrirte Säure löst ohne Gelbfärbung, erst beim Erwärmen wird die Flüssigkeit schwach gelb, auf Zusatz von Ammoniak braungelb oder orangefarbig.

\*Kochen mit Wasser zersetzt Nuclein, es entstehen lösliche und unlösliche Derivate.

In kaltem und warmen Alkohol ist es unlöslich, nach längerem Stehen unter Alkohol absolutus wird es von den gewöhnlichen Lösungsmitteln nicht mehr aufgenommen.

\*Weingeist trübt die ammoniakalische Lösung erst bei einem Alkoholgehalt von weit über 50%. (Heisser Alkohol trennt es vollständig von Lecithin.)

In Aether ist es unlöslich.

Bei der Pepsinverdauung bleibt es ungelöst, wie es sich in Trypsin verhält, ist unbekannt.

Kupfersulfatlösung gibt auch ohne Alkoholzusatz mit neutralen Nucleinlösungen einen grünflockigen, in Wasser unlöslichen, in Ammon löslichen Niederschlag; durch ammoniakalische Kupferlösung ist es nicht fällbar. Beim Erhitzen mit Natronlauge geben die Nucleine mit einem Tropfen Kupfersulfatlösung eine rothviolette Färbung. Ob die Biuretreaction auch ohne Erhitzen mit Natronlauge eintritt, ist fraglich.

\*Chlorzink und neutrales Silbernitrat geben mit Nucleinen Nieder-

schläge, das letztere erst in concentrirteren Lösungen. Ammoniakalische Silberlösung gibt keine Trübung.

\*Zur Lösung in Natriumacetat neutrales Bleiacetat gesetzt, gibt einen weissen körnigen Niederschlag (Nuclein der Milch). Die Ausscheidung ist keine vollkommene.

\*Goldchlorid fällt die salzsauren Verbindungen aus concentrirteren Lösungen.

\*Platinchlorid gibt in der wenig sauren Lösung einen Niederschlag.

Millons Reagens gibt rothe Niederschläge, wenn die Farbe auch meistens nicht stark hervortritt.

Nucleine werden durch Jod gelb gefärbt, das Jod lässt sich nur schwer auswaschen.

Desgleichen imbibiren Nucleinniederschläge ammoniakalische Carminlösung sehr lebhaft.

### Die von Ritthausen dargestellten Eiweisskörper.

Ritthausen theilt die in den Samen der Getreidearten, Leguminosen und Oelpflanzen vorkommenden Eiweisskörper in drei Gruppen ein.

- 1) **Eiweiss:** Pflanzeneiweiss oder Pflanzenalbumin.
- 2) **Pflanzencasein:**
  - a. Legumin.
  - b. Glutencasein.
  - c. Conglutin.
- 3) **Kleberproteinstoffe oder die Gruppe des Pflanzenleims:**
  - a. Gliadin oder Pflanzenleim.
  - b. Mucedin.
  - c. Glutenfibrin.

Die erste Gruppe, das Pflanzenalbumin, steht in seinen Eigenschaften dem thierischen Eiweiss nahe.

Die zweite Gruppe, die Pflanzencaseine, sind unlöslich in Wasser, dagegen löslich in verdünntem Kali, Dikaliumphosphat, aus welchen Lösungen sie durch verdünnte Essigsäure und Salzsäure herausgefällt werden. Ueberschüssige Säure löst die Niederschläge mehr oder weniger vollständig auf.

Die dritte Gruppe, die Pflanzenleime, zeichnen sich durch ihre Löslichkeit in Weingeist aus, durch ihre physikalische Beschaffenheit, ihre leichtere Löslichkeit in verdünnten Säuren und ihre Quellbarkeit in heissem Wasser.

Bevor ich über diese von Ritthausen dargestellten Eiweisskörper ein definitives Urtheil abgebe, beabsichtige ich die Samen der von ihm untersuchten Pflanzen nach meiner eigenen Methode zu untersuchen. Ohne eine derartige genaue Prüfung wäre es voreilig, die Existenz derartiger Stoffe in den Samen zu bestreiten, doch glaube ich, werden die Ansichten Ritthausens wesentlich modificirt werden müssen.

Trotz dieses Vorbehaltes kann ich es nicht unterlassen, an dieser Stelle

meine Gründe darzulegen, weshalb ich die Eintheilung Hoppe-Seylers vorgezogen habe und diese zum Ausgangspunkt meines Vergleiches mit den von mir gefundenen Proteinstoffen gemacht habe.

Die Albumingruppe war bei der mehr oder weniger vollständigen Identität der thierischen und pflanzlichen Substanzen nicht entscheidend.

Die Pflanzenleime kommen nicht in Betracht, da in dem Protoplasma der von mir untersuchten Zellen keine Eiweissstoffe vorhanden waren, die in Alkohol löslich sind oder in heissem Wasser aufquellen. Es wäre daher nutzlos gewesen nach diesen Stoffen im Protoplasma weiter zu suchen, womit ich jedoch nicht ausschliessen will, dass derartige Stoffe vielleicht im Zellsaft vorkommen.

Die Existenz der von Ritthausen als Pflanzencaseine bezeichneten Substanzen ist schon von verschiedenen Seiten angezweifelt worden und mit Recht. Ritthausen hat nicht in genügender Weise die Veränderungen berücksichtigt, welche durch die bei der Extraction angewendeten Stoffe, speciell durch die verdünnte Kalilauge hervorgerufen worden sind. Die Umwandlung in Albuminate geschieht so leicht, besonders wenn man längere Zeit die Eiweissstoffe mit Kali in Berührung lässt, sie wird begünstigt durch die Anwesenheit anderer Substanzen, wie z. B. Alkohol, dass bei der Darstellungsweise Ritthausens die Bildung von Albuminaten mehr als wahrscheinlich war.

Diesem Vorwurfe hat Ritthausen dadurch zu begegnen gesucht, dass er die Substanzen verglich, welche er einerseits mit Kali, andererseits mit 10procentiger Kochsalzlösung extrahiren konnte. Es stellte sich nun heraus, dass die Abweichungen in der procentischen Zusammensetzung beider Stoffe nur gering waren, woraus Ritthausen folgert, dass verdünnte Kalilauge keine Zersetzungen und Umwandlungen hervorgerufen hat. Ich muss gestehen, dass ich auf die ermittelte procentische Zusammensetzung bei den Proteinkörpern überhaupt nicht viel Werth lege, aber selbst wenn es möglich wäre die untersuchten Stoffe vollständig rein darzustellen, ist es ganz und gar nicht gesagt, dass bei der Unmöglichkeit, die zu untersuchenden Stoffe rein darzustellen, eine derartige Umwandlung von Albuminen oder Globulinen in Albuminate auch in der procentischen Zusammensetzung ihren Ausdruck findet, es ist dies sogar sehr unwahrscheinlich.

J. Barbieri hat zu demselben Zwecke die Eiweisssubstanz der Kürbissamen mit Kochsalzlösung von 10% und mit verdünnter Kalilauge ausgezogen. Die durch Waschen mit Aether und Petroleum vom Fett befreiten Proteinkörner waren in verdünnter Kalilauge vollständig, in 10procentiger Kochsalzlösung aber nur zu 76% löslich. Bei der Darstellung vermittelt der Kalilauge wurden demnach zwei verschiedene Stoffe gewonnen und analysirt, von denen der eine in Kochsalz löslich, der andere unlöslich war. Bei der Kochsalzbehandlung blieb  $\frac{1}{4}$  der ganzen Substanz zurück. Ich glaube demnach bestimmt, dass die nach der Ritthausen'schen Methode, d. h. mit Kalilauge dargestellte Substanz ein Gemenge verschiedener Stoffe

war. Gegen diese Schlussfolgerung beweist die Thatsache nichts, dass die Substanz der Kochsalz- sowie der Kaliextraction dieselbe procentische Zusammensetzung zeigte.

Was schliesslich auch dafür spricht, dass Ritthausen Stoffgemenge vorgelegen haben, sind seine so unbestimmt gehaltenen Angaben über die Löslichkeitsverhältnisse; theilweise löslich kann zum Beispiel eine Substanz nur sein, wenn sie ein Stoffgemenge ist, oder wenn sie durch das Lösungsmittel zersetzt wird. Ich will jedoch hierauf kein besonderes Gewicht legen.

Ausserdem glaube ich, ist der Analogieschluss nicht vollständig unberechtigt, dass ebenso wie in den von mir untersuchten Zellen durch verdünnte Kalilauge eine grössere Anzahl verschiedener Proteinstoffe ausgezogen wurde, auch bei den Samen durch die verdünnte Kalilauge verschiedenartige Proteinstoffe extrahirt wurden.

Nach alledem halte ich die von Ritthausen unterschiedenen Pflanzencaseine für Gemische, sei es nun, dass bei der Darstellung verschiedenartige Proteinkörper zugleich extrahirt wurden, oder dass durch die verdünnte Kalilauge partielle Umwandlungen in Albuminate stattgefunden hatten. Ich schloss mich der Auffassung Hoppe-Seylers an, weil die von diesem Forscher unterschiedenen Stoffe viel wahrscheinlicher einheitliche Substanzen sind.

### § 39. Vergleich der von mir gefundenen Proteinstoffe mit den macrochemisch dargestellten Substanzen.

Wir haben aus den vorhergehenden Paragraphen gesehen, dass wir eine Unterscheidung machen können zwischen verdaubaren und nicht verdaubaren Proteinstoffen. Diese Trennung wollen wir der folgenden Betrachtung zu Grunde legen.

Es hat sich bei meinen Untersuchungen herausgestellt, dass die grössere Anzahl der von mir in der Pflanze gefundenen Stoffe bei der Verdauung in Pepsin-Salzsäure nicht peptonisirt wird. Es sind dies Cytoplastin, Chloroplastin, Chromatin, Linin, Pyrenin und Amphipyrenin. Wenn wir alle unverdaubaren Proteinstoffe als Nucleine bezeichnen, müssen wir consequenter Weise alle die eben genannten Substanzen gleichfalls als Nucleine auffassen. Das Vorkommen der Nucleine in der Pflanze wäre demnach nicht blos auf den Kern beschränkt, diese Stoffe wären vielmehr in allen Zellorganen vorhanden.

Es fragt sich nun, ob der eine oder der andere dieser Stoffe mit den Eigenschaften der bisher dargestellten Nucleine vollständig übereinstimmt.

E. Zacharias bezeichnet die Plastine (gleichbedeutend mit unseren Cytoplastin und Chloroplastin) als die unlösliche Modification der Nucleine. Nach meiner Ansicht ist diese Auffassung jedoch nicht berechtigt, indem sich die Plastine durch wesentliche Reactionen von der unlöslichen Modification der Nucleine unterscheiden. Eine kurze Gegenüberstellung beider wird uns die Differenzen am anschaulichsten machen.

	Cytoplastin und Chloroplastin	Unlösliche Modification des Nucleins
10—20 % Kochsalz . . . . .	vollständig unlöslich, bei stärkerer Concentration gar nicht quellend	zu einer Gallerte aufquellend
5 % Dinatriumphosphat . . . . .	nur schwer löslich oder unlöslich (Cytoplastin)	löslich
Concentrirte Kalilauge . . . . .	unlöslich, nicht quellbar	löslich (zum mindesten stark quellbar)
50 % Essigsäure oder Eisessig . . . . .	quellbar, Umwandlung in eine Gallerte	unlöslich
Rauchende Salzsäure . . . . .	gefällt und unlöslich	löslich
Färbungsvermögen . . . . .	gering	intensiv

Die hier angeführten Reactionen sind nicht alle gleich prägnant, aber schon das Verhalten gegen concentrirte Kalilauge und concentrirte Salzsäure genügen, um die Auffassung zu beseitigen, dass die Plastine identisch seien mit der unlöslichen Modification der Nucleine.

Das Chromatin stimmt in einigen Eigenschaften, soweit wir es bis jetzt übersehen können, entschieden mit der löslichen Modification des Nucleins überein. Die Uebereinstimmung ist jedoch keine vollständige, aus welchem Grunde ich davon Abstand genommen habe, den Namen Chromatin einfach durch Nuclein zu ersetzen. Ausserdem schien es mir nicht gerechtfertigt, das Chromatin allein als Nuclein zu bezeichnen, da die übrigen von mir gefundenen, nicht verdaubaren Proteinstoffe mit demselben Recht als Nucleine zu bezeichnen wären, da sie theilweise ja auch mit den bisher dargestellten Nucleinen übereinstimmen, diesen vielleicht sogar näher stehen als das Chromatin.

Die leichte Löslichkeit des Chromatins in Wasser könnte möglicher Weise durch die im Protoplasma vorhandenen Alkalien resp. Phosphate bedingt sein, ist also zur Charakterisirung unseres Stoffes nicht geeignet.

Auffallender ist die leichte Löslichkeit des Chromatins in 10% und 20% Kochsalz, während die Nucleine unlöslich, wenn auch quellbar sind. Durch das Kochsalz wurde die Löslichkeit des Chromatins entschieden bedeutend gesteigert, da es ja auch in Kernen, welche in Wasser unlöslich waren, aufgelöst wurde, die Löslichkeit in Kochsalz ist daher nicht bedingt durch die im Plasma vorhandenen Kalisalze.

In concentrirter Salzsäure wird das Chromatin zu einer Gallerte, es löst sich jedoch nicht auf wie die lösliche Modification des Nucleins.

Schwefelsaures Kupfer löst das Chromatin, das Nuclein wird jedoch gefällt.

Möglicher Weise dass bei dem Chromatin die im Protoplasma vorhandenen Alkalien diese Reaction modificiren, indem ja alkalische Kupferlösung

das Nuclein ebenfalls nicht ausfällt, es gehört hiezu jedoch wohl eine grössere Kalimenge als im Protoplasma angenommen werden kann.

In den übrigen Reactionen schliesst sich das Chromatin dem Nuclein (lösliche Modification) ziemlich nahe an; doch genügen die angegebenen Unterschiede, um beide für nicht identisch anzusehen.

Dasselbe, was ich vom Chromatin sagte, gilt auch von Pyrenin und Amphipyrenin. Es stimmt in einigen Reactionen mit dem Nuclein überein, aber nicht in allen.

Von 10procentiger Kochsalzlösung wird das Pyrenin und Amphipyrenin aufgenommen, das Nuclein dagegen nicht.

In 50% Essigsäure quellen Nucleolus und Kernmembran, das Nuclein (ebenso das Chromatin) ist unlöslich.

In Salzsäure von 1% quellen Pyrenin und Amphipyrenin oder lösen sich sogar in gewissen Fällen. Das Nuclein ist vollständig unlöslich und fällbar.

In concentrirter Salzsäure quellen unsere beiden Stoffe, die Nucleine werden gelöst.

Eine grössere Uebereinstimmung als bei den bisher genannten Stoffen finden wir bei dem Linin. Es repräsentirt diese Substanz, wenn wir von den in Theilung befindlichen Kernen absehen, die Hauptmasse des Kernes. Es dürfte also bei den Untersuchungen kernreicher Organe die Gerüstsubstanz, das Linin für die Eigenschaften des dargestellten Nucleingemenges ausschlaggebend gewesen sein.

Der Unterschied zwischen den dargestellten Nucleinen und dem Linin ist mehr untergeordnet. Das Linin ist zwar in 10% Kochsalz löslich, das Nuclein nur quellbar, aber schon bei einer Steigerung der Concentration der Kochsalzlösung von 10% auf 20% erhält das Linin ebenfalls die Eigenschaft des Nucleins, in Kochsalz aufzuquellen.

In 50% Essigsäure quillt das Linin, ohne sich jedoch zu lösen, das Nuclein ist ebenfalls unlöslich, quillt jedoch nicht auf.

In concentrirter Salzsäure löst es sich zwar nicht auf, aber es wird doch in eine Gallerte verwandelt.

Sonst stimmt es jedoch in seinen Eigenschaften mit dem Nuclein, soweit wir dies beurtheilen können, ziemlich weitgehend überein.

Eine vollständige Identificirung der in Pepsin-Salzsäure unverdaubaren Stoffe mit einem der dargestellten Nucleine ist in keinem Falle durch die übrigen Reactionen gerechtfertigt.

Zu erwähnen wäre vielleicht noch, dass man daran denken könnte, einen Theil der von uns unterschiedenen Stoffe mit den von Kühne und Chittenden als Albumate bezeichneten Körpern (vgl. die Albumosen) in Verbindung zu bringen, die ebenfalls durch Pepsin nicht peptonisirt werden. Dagegen spricht jedoch, dass diese Albumate erst künstlich aus Eiweisskörpern erhaltene Producte sind, die möglicher Weise als Coagulationsproducte aufzufassen sind. Ist mir eine derartige Verwandtschaft mit unseren Stoffen auch nicht wahrscheinlich, so werden doch vielleicht erst weitere Untersuchungen, nament-

lich der entstehenden Zersetzungsproducte darüber sicheren Aufschluss geben. Da jedoch unsere Stoffe in einer ganzen Anzahl von Reactionen den Nucleinen gleichen, sind wir viel eher berechtigt, diese Substanzen zu der Gruppe der Nucleine zu rechnen.

Was nun die in Magensaft peptonisirbaren Stoffe anbelangt, so treten dieselben im unveränderten Protoplasma der Menge nach sehr zurück.

Das Metaxin und die Zwischensubstanz des Kernes des Paralinin sind in Pepsin-Salzsäure verdaubar, also eigentliche Eiweissstoffe. Soweit meine in dieser Abhandlung nicht erwähnten Untersuchungen reichen, dürften sich diesen Stoffen auch der wesentlichste Bestandtheil der Stärkebildner anschliessen. An dieser Stelle seien nur das Metaxin und Paralinin ins Auge gefasst.

Es handelt sich hauptsächlich darum, zu entscheiden, ob die genannten Stoffe zu den Albuminen, Globulinen oder Alkalialbuminaten in näherer Beziehung stehen.

Untersuchen wir zunächst das Metaxin.

Das Verhalten gegen Wasser gewährt uns keinen sicheren Anhalt, da wir nicht wissen können, ob die Lösung oder das starke Aufquellen durch Alkalien des Protoplasmas bedingt ist.

In Kochsalz von 10% ist das Metaxin wohl quellbar, aber nicht eigentlich löslich, es spricht dies gegen Albumin und Globulin, aber auch nicht für Albuminat, da dies unlöslich ohne Quellung ist. Die Unlöslichkeit in gesättigter Lösung von Kochsalz schliesst Albumin aus, ist jedoch für Globulin und Albuminat geltend zu machen.

Das Verhalten in Monokaliumphosphat spricht nur gegen Albumin.

Dinatriumphosphat löst die drei dargestellten Stoffe, das Metaxin quillt nur auf.

Wenn das Metaxin auch quellbar ist in Essigsäure von 0,2 und 1%, so ist es doch niemals löslich darin. Hierdurch wird wiederum Albumin ausgeschlossen. Gegen die Verwandtschaft mit Globulin und Albuminat spricht das Verhalten des Metaxins gegen Essigsäure und Salzsäure, die das Metaxin in keiner Concentration auflösen.

Wir sehen demnach, dass das Metaxin weder mit Albumin noch mit Globulin noch mit Albuminat übereinstimmt. Ebenso lassen sich Reactionen gegen die Verwandtschaft mit den Albumosen und Peptonen geltend machen. Es ist vielmehr ein vollständig eigenartiger Stoff, der wohl den Eiweisskörpern nahe steht, aber mit keiner der bisher dargestellten Stoffe identisch ist.

Das Paralinin steht jedenfalls den Globulinsubstanzen am nächsten. Es ist löslich in 10proc. Kochsalz, unlöslich, wenn auch etwas quellbar, in gesättigter Lösung von schwefelsaurer Magnesia, unlöslich in verdünnter Essigsäure; in concentrirten Säuren wird es in eine Acidalbumingallerte verwandelt, bedenklich erscheint jedoch sein Verhalten in Monokaliumphosphat, in welchem es nicht vollständig unlöslich ist wie die Globuline, und ferner sein Verhalten gegen Salzsäure von 1%, in welchem Globulin löslich, das Paralinin unlöslich ist, aber doch quellbar.

Gegen die Auffassung als Albumin spricht die geringe Löslichkeit in 20proc. Kochsalz und gesättigter Lösung von schwefelsaurer Magnesia, die Unlöslichkeit in verdünnter und concentrirter Essigsäure und in verdünnter Salzsäure (von 1%). Gegen Albuminat spricht die Löslichkeit in Kochsalz von 10%, die Unlöslichkeit in concentrirteren Säuren.

Gegen Albuminosen spricht die Unlöslichkeit in heissem Wasser, in verdünnter Essigsäure und Salzsäure, sowie die Fällbarkeit durch schwefel-saures Kupfer.

Wir sehen demnach, auch das Paralinin ist nicht in eine bestimmte Kategorie der bisher dargestellten Stoffe einzureihen, wenn es auch den Globulinen sehr nahe steht.

Bemerkenswerth wäre noch, dass die Nucleine in manchen Reactionen, so z. B. gegen Dinatriumphosphat, verdünnte Essigsäure, sehr verdünnte Salzsäure, Kupfersulfat den Globulinen nahe stehen, so dass man möglicher weise an eine Verwandtschaft beider denken könnte.

Ziehen wir das Resumé aus dieser Betrachtung, so kommen wir zu der Ansicht, dass bei den bisherigen chemischen Untersuchungen Stoffe gewonnen wurden, welche den in der Pflanze vorhandenen ähnlich, aber nicht gleich sind. Ist dies vorerst nur ein negatives Resultat, so hoffe ich jedoch, dass meine Arbeit dazu beitragen wird die Anschauung zu begründen, dass man bei der Darstellung von Proteinstoffen in erster Linie auch auf den mikroskopischen Befund Rücksicht zu nehmen hat und nur im Anschluss an diesen zu Körpern gelangt, welche im Organismus wirklich vorkommen.

## Figurenerklärung.

Die Figuren sind, wenn nichts besonderes angegeben ist, bei einer 1450fachen Vergrößerung gezeichnet (Zeiss' homogene Immersion  $\frac{1}{12}$  Ocular IV). Die jeder Figurenerklärung beigegefügte Seitenzahl weist auf die Stelle des Textes hin, wo das betreffende Bild besprochen ist.

### Tafel I. Chlorophyllkörper.

- Fig. 1. *Fittonia Verschaffelti*. Quellung in Wasser, die Grana haben sich in der grünen Masse vertheilt, sind noch als dunklere Stellen sichtbar (pag. 44).
- Fig. 2. (Vergr. 1100.) *Ruscus aculeatus*. Chlorophyllkörper aus einem alten Phyllodium. Quellung in Wasser ohne Vacuolenbildung. Sichtbarwerden von Oeltröpfchen (pag. 44).
- Fig. 3a. *Tradescantia zebrina*. Chlorophyllkörper aus einem älteren Stengelinternodium. Unverletzte Zelle (pag. 45).
- Fig. 3b. c. Dsgl. Deutlichwerden der Fibrillen bei kurzer Wasserwirkung (pag. 46).
- Fig. 3d. Dsgl. Längere Wasserwirkung. Uebergang zur Vacuolenbildung (pag. 46).
- Fig. 3e. Dsgl. Längere Wasserwirkung, Vacuolenbildung (pag. 46).
- Fig. 4. *Galanthus nivalis*. Quellung in Wasser. Bildung von Vacuolen (pag. 46).
- Fig. 5. *Mnium undulatum*. Quellung und Vacuolenbildung in Wasser (pag. 46).
- Fig. 6. *Phajus grandifolius*. Knolle. Quellung in Wasser. Die Vacuolen enthalten nicht nur die Zwischensubstanz, sondern auch den gelösten Eiweisskrystall (pag. 46).
- Fig. 7. *Platanthera bifolia*. Kurze Quellung der Chlorophyllkörper des Blattes in Wasser, Fixirung mit schwacher Jodlösung. Die Fibrillen sind auseinander gewichen, die Zwischensubstanz hat sich schwach gelblich gefärbt (pag. 47).
- Fig. 8. *Allium porrum*. Kurze Quellung in Wasser, hierauf mit Flemming'scher Mischung fixirt. Quellung der Grundsubstanz mit Erhaltung der Fibrillen (pag. 47).
- Fig. 9—12. *Tradescantia virginica*. Verschiedene Stadien kurz dauernder Wasserwirkung (5 Minuten), durch Flemming'sche Mischung fixirt, mit Saffranin gefärbt. Fig. 11, 12, 13 Auseinanderweichen der Fibrillen, Fig. 14 vollständige Trennung derselben (pag. 47).
- Fig. 13—15. *Tradescantia virginica*. Die Chlorophyllkörper wurden, nachdem sie 2 Stunden in Wasser gelegen, mit Flemming'scher Mischung fixirt, mit Saffranin gefärbt (pag. 47).
- Fig. 16. *Impatiens parviflora*. Kurze Quellung in Wasser, Beginn der Vacuolenbildung; fixirt mit Flemming'scher Mischung (pag. 47).
- Fig. 17. Dasselbe in einem etwas weiter fortgeschrittenen Stadium (pag. 47).

- Fig. 18. *Tradescantia virginica*. Chlorophyllkörper in 20 % Zucker. Deutlichwerden der Grana (pag. 51).
- Fig. 19, 20. *Oncidium altissimum*. Behandlung mit 20 % Zucker. Grana sind sichtbar oder nicht (pag. 51 und 52).
- Fig. 21. *Plectogyne variegata*. Chlorophyllkörper in der unverletzten Zelle. Ein analoges Bild erhält man bei dem Einlegen in Phosphorwolframsäure.
- Fig. 22, 23. *Plectogyne variegata*. Behandlung mit 40 % Zucker. Die Chlorophyllkörper sind etwas gequollen, die Grana undeutlich geworden (pag. 52).
- Fig. 24. *Tradescantia virginica*. In 20 % Kochsalz. Es hat keine Quellung stattgefunden, die Grana sind deutlich (pag. 55).
- Fig. 25. *Fittonia Verschaffelti*. Unverletzter Chlorophyllkörper in 10 % Kochsalz. Ansicht von oben (pag. 55).
- Fig. 26. Dasselbe. Durchschnittsansicht (pag. 55).
- Fig. 27. *Fittonia Verschaffelti*. In 10 % Kochsalz, verletztes Chlorophyllkorn, Sichtbarwerden der Fibrillen (pag. 55).
- Fig. 28. Dsgl. Nach 24stündigem Verweilen in 10 % Kochsalzlösung, welcher etwas Wasser zugesetzt war (pag. 55).
- Fig. 29. *Plectogyne variegata*. Quellung in 10 % Kochsalz mit nachträglicher Fixirung durch Jodkalium. Die dunkleren Punkte sind Stärkeeinschlüsse (pag. 56).
- Fig. 30—33. *Scilla maritima*. Verschiedene Stadien der Quellung in 2 % Kochsalz. Fig. 30—32 theilweises Sichtbarwerden der Fibrillen, Fig. 33 Quellung der Fibrillen mit Andeutung der Grana (pag. 56).
- Fig. 34. (Vergr. 1100.) *Mnium undulatum*. Chlorophyllkörper in unverletzten Zellen, sie sind hellglänzend, lassen keine Struktur erkennen.
- Fig. 35. (Vergr. 1100.) Dsgl. Chlorophyllkörper in 20 % Kochsalz liegend. Quellung sehr gering (pag. 55).
- Fig. 36. (Vergr. 1100.) Dsgl. In 10 % Kochsalz sind die Chlorophyllkörper etwas gequollen, sie sind ziemlich homogen durchsichtig, lassen die Stärkeköerner erkennen (pag. 56).
- Fig. 37. (Vergr. 1100.) Dsgl. Nach 5stündigem Liegen in einer Kochsalzlösung von 4 % haben sich die Fibrillen von einander getrennt, a. Flächenansicht, b. Durchschnitt (pag. 56).
- Fig. 38. *Mnium rostratum*. Die Blätter waren einem sehr starken Frost (—80° C.) ausgesetzt, nach dem Aufthauen sind die Fibrillen auseinandergesprengt a, b oder auch selbst gequollen c (pag. 48).
- Fig. 39—40. *Calathea insignis*. Quellung in 4 % Kochsalz. Fig. 39 unverletztes, Fig. 40 verletztes Chlorophyllkorn (pag. 57).
- Fig. 41. *Tradescantia virginica*. Ein unverletztes Chlorophyllkorn nach 2tägigem Liegen in 4 % Kochsalz. Die Fibrillen sind deutlich erkennbar, aber nicht auseinander gewichen (pag. 57).
- Fig. 42. *Phajus grandifolius*. Knolle. Chlorophyllkörper in kaltgesättigter Lösung von schwefelsaurem Ammoniak. Eiweisskrystall verschwunden, die übrige Substanz unlöslich und ungequollen (pag. 57).
- Fig. 43, 44. *Oncidium altissimum* in 1 %  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . Fig. 43 Fibrillen sind deutlich, die Zwischensubstanz hat sich in der Vacuole angesammelt; Fig. 44 gleichmässig trübe Quellung (pag. 58).
- Fig. 45. *Fittonia Verschaffelti*. Verletzter Chlorophyllkörper in 5 %  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (pag. 59).
- Fig. 46. *Phajus grandifolius*. Knolle. Einwirkung von 5%  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . Der Eiweisskrystall, zuerst die Vacuole bildend, wird später gelöst, die übrige Substanz wird ohne besonders deutliche Struktur fixirt (pag. 59).

- Fig. 47—49. *Calathea insignis*. Verschiedene Formen der Quellung in 5%  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (pag. 59).
- Fig. 50. *Phajus grandifolius*. Einwirkung von Kalkwasser auf die Chlorophyllkörper. Dieselben quellen gleichmässig trübe auf (pag. 60).
- Fig. 51. *Fittonia Verschaffelti*. Verletzter Chlorophyllkörper in Kalkwasser (pag. 60).
- Fig. 52. Dsgl. Unverletztes Chlorophyllkorn in Kalkwasser mit nachträglicher Fixirung durch Flemming'sche Mischung. Vor der Fixirung hatte das Chlorophyllkorn ein ähnliches Aussehen (pag. 60).

## Tafel II. Chlorophyllkörper.

- Fig. 53—55. *Impatiens parviflora*. Aussehen und Grössenverhältniss der Chlorophyllkörper vor und nach der Behandlung mit Kalilauge. Fig. 53 die Chlorophyllkörper in der unverletzten Zelle, Fig. 54 nach Behandlung mit concentrirter, Fig. 55 mit 1 procentiger Kalilauge (pag. 61).
- Fig. 56. (Vergr. 1100.) *Mnium undulatum*. Einwirkung von concentrirter Kalilauge. Die hellen Stellen im Innern der Chlorophyllkörper sind die gequollenen Stärkekörner, Proteinsubstanz nicht gequollen (pag. 61).
- Fig. 57. *Oncidium altissimum*. Einwirkung von concentrirter Kalilauge. Die Stärkekörner gequollen, die Proteinsubstanzen nicht (pag. 61).
- Fig. 58. *Phajus grandifolius*. Knolle. Aufquellen in 0,1% Kalilauge (pag. 61).
- Fig. 59, 60. *Fittonia Verschaffelti*. Einwirkung von 0,2% Essigsäure. Bei Fig. 59 die Fibrillen schon auseinandergewichen, bei Fig. 60 Beginn der Vacuolenbildung (pag. 63).
- Fig. 61. *Vicia sativa*. Chlorophyllkörper des Stengels, die in geringer Anzahl vorhandenen Fibrillen sind durch 0,2% Essigsäure sichtbar gemacht worden (pag. 63).
- Fig. 62, 63. *Phajus grandifolius*. Knolle. Einwirkung von 3% Essigsäure. Bei Fig. 62 Vacuolenbildung, bei Fig. 63 gleichmässiges Quellen mit Ausscheidung von Chlorophyllan im Innern (pag. 64).
- Fig. 64. *Fittonia Verschaffelti*. Die Chlorophyllkörper nach 24stündigem Liegen in 10% Essigsäure. Ausscheidung von Chlorophyllan in feinen Tropfen. (pag. 64).
- Fig. 65. Dsgl. Nach 24stündigem Liegen in 50% Essigsäure. Ausscheidung des Säurechlorophylls in Form von braunen Kugeln, während die übrige Masse entfärbt ist (pag. 64).
- Fig. 66, 67. *Phajus grandifolius*. Knolle. Behandlung mit 50% Essigsäure. Ausscheidung von Säurechlorophyll. Fig. 66 nach kurzer Einwirkung, Fig. 67 nach 4 Stunden (pag. 64).
- Fig. 68. *Fittonia Verschaffelti*. Quellung in 0,1% Salzsäure. Die Granarreste sind noch als dunklere Stellen erkennbar (pag. 65).
- Fig. 69. Dsgl. Quellung in 1% Salzsäure. Die Substanz ist ganz durchsichtig geworden (pag. 66).
- Fig. 70. (Vergr. 1100.) *Mnium undulatum*. Quellung in 0,1% Salzsäure (pag. 65).
- Fig. 71. *Fittonia Verschaffelti*. Kurze Einwirkung von 20% Salzsäure. Die Chlorophyllkörper sind nicht gequollen, lassen undeutlich dunklere Stellen erkennen (pag. 68).
- Fig. 72. *Vallisneria spiralis*. Chlorophyllkörper nach einstündigem Verweilen in 20% Salzsäure, kurze Zeit erwärmt (pag. 68).
- Fig. 73. Dsgl. In 20% Salzsäure, etwas erwärmt nach achtstündigem Liegen in der Salzsäure. (pag. 68).

- Fig. 74. *Impatiens parviflora*. Zwanzigstündige Einwirkung von 20% Salzsäure. Dieselben Bilder erhält man jedoch auch schon kürzere Zeit nach dem Einlegen (pag. 69).
- Fig. 75. *Vallisneria spiralis*. Präparat von Fig. 72 mit Alkohol behandelt (pag. 69).
- Fig. 76. Dsgl. Die Chlorophyllkörper hatten sich  $\frac{3}{4}$  Stunden in Wasserdampf, 6 Stunden in 20% Salzsäure befunden (pag. 69).
- Fig. 77. *Phajus grandifolius*. Knolle. Sechszehnstündige Einwirkung von 20% Salzsäure ohne Erwärmung. Ausscheidung von Säurechlorophyll im Innern. Der Eiweisskrystall ist ausgetreten, dann allmähig erstarrt (pag. 69).
- Fig. 78. (Vergr. 1100.) *Mnium undulatum*. Behandlung mit concentrirter Salzsäure. Die helle Stelle in dem einen Chlorophyllkorn ist durch ein Stärkekorn bedingt (pag. 70).
- Fig. 79, 80. *Fittonia Verschaffelti*. Einwirkung von concentrirter Salzsäure; Fig. 79 kurze Behandlung, Fig. 80 nach 20 Stunden (pag. 70).
- Fig. 81. *Vallisneria spiralis*. Behandlung des Chlorophyllkörpers mit Wasserdampf, die helleren Stellen sind gequollene Stärkekörnchen (pag. 70).
- Fig. 82—87. *Phajus grandifolius*. Verschiedene Stadien der Einwirkung concentrirter Salzsäure (pag. 70).
- Fig. 88. *Phajus grandifolius*. Mit Alkohol fixirte Chlorophyllkörper nach 40stündiger Trypsinverdauung (pag. 73).
- Fig. 89. *Phajus grandifolius*. Nach viertägigem Liegen in gesättigter Lösung von schwefelsaurer Magnesia erfolgte Ausscheidung von Tropfen eines Chlorophyllderivates (pag. 57).
- Fig. 90, 91. *Phajus grandifolius*. Die Chlorophyllkörper wurden 5—10 Minuten in Wasser gekocht, wodurch ölige Tropfen zur Ausscheidung gelangen (pag. 50).

### Tafel III. Zellkerne.

(Die Figuren 92—101, 104—106, 114—120 rühren von Objecten her, welche mit Flemming'scher Mischung fixirt und nach Gram'scher Methode mit Methylviolett gefärbt wurden. Nach der Färbung wurden dieselben in Nelkenöl und Canadabalsam übertragen.)

- Fig. 92. *Vicia faba*. Knäuelform eines Zellkerns aus der Wurzel eines Keimlings (pag. 82).
- Fig. 93. Dsgl. Kern nach der Theilung. Die Fäden der karyokinetischen Figur zerfallen in Körnchen, diese vertheilen sich in dem wachsenden Gerüst. Der Nucleolus ist relativ grösser geworden (pag. 82).
- Fig. 94. *Vicia faba*. Ruhender Kern aus einem jungen Internodium des Keimlingsstengels. Ausser den kleinen Chromatinkörnchen des Gerüsts sind noch grössere Chromatinkugeln vorhanden. Der grösste gefärbte Körper des Kernes ist der Nucleolus (pag. 82).
- Fig. 95. *Vicia sativa*. Normaler ruhender Kern aus einem Internodium des Keimlings (pag. 87).
- Fig. 96. Dsgl. im Hungerzustande (pag. 87).
- Fig. 97. *Lupinus luteus*. Kern aus dem Hypocotyl. Trotz des Jugendzustandes ist nur eine verhältnissmässig geringe Menge von Chromatin vorhanden (pag. 85).
- Fig. 98. *Cymbidium aloefolium*. Zellkern aus einem älteren Blatte, derselbe enthält ausser dem Chromatin der Gerüstfäden, ziemlich viel grössere Chromatinkugeln, die sich in der Färbung und dem Aussehen von dem Nucleolus nicht wesentlich unterscheiden (pag. 85).

- Fig. 99. *Scilla maritima*. Normaler Kern aus dem Blatte, die einzelnen Gerüstfibrillen mit den Chromatineinlagerungen sind gut ausgebildet (pag. 85).
- Fig. 100. Dsgl. Nach 24stündiger Verdauung in Trypsin (pag. 119).
- Fig. 101. Dsgl. Chlorophyllkörper nach 24stündiger Verdauung in Trypsin (pag. 73).
- Fig. 102, 103. *Impatiens parviflora*. Kerne aus älteren Internodien nach Fixierung mit Flemming'scher Mischung. Die stärker hervortretenden Körnchen bestehen aus Chromatin. Das Präparat war nicht tingirt (pag. 85).
- Fig. 104 a, b. *Phaseolus multiflorus*. Kerne aus einem alten Internodium einer Keimpflanze, welche 4 Monate im Dunkeln gestanden hatte. Bei Fig. 104b ist die Reduction des Chromatins etwas weiter fortgeschritten als bei Fig. 104a (pag. 87).
- Fig. 105. *Phajus grandiflorus*. Kern aus der Knolle. Chromatinvertheilung im Kern (pag. 85).
- Fig. 106. Dsgl. Nach 1½stündiger Verdauung in Trypsin ebenfalls nach Gram'scher Methode mit Methylviolett gefärbt (pag. 118).
- Fig. 107. Dsgl. Verdauung in Pepsin-Salzsäure von 45° C. nach 1 Stunde. Die Chromatinkugeln sind vacuolig geworden. Das Präparat war ungefärbt (pag. 121).
- Fig. 108. Dsgl. Kerne nach 5stündiger Verdauung in Pepsin-Salzsäure. Der Kern ist verkleinert, es sind Tropfen ausgetreten. Die Struktur ist undeutlich (pag. 121).
- Fig. 109. Dsgl. Normaler Kern aus der Knolle nach Fixierung mit Flemming'scher Mischung, gezeichnet nach einem in Wasser liegenden Präparat. Es treten hier die Gerüstfibrillen und die Kernmembran besser hervor, als bei den vorher mit Nelkenöl behandelten und in Canadabalsam eingebetteten Objecten (pag. 85).
- Fig. 110. Dsgl. Kerne nach der Behandlung mit gesättigter Lösung von schwefelsaurer Magnesia. Die Gerüstfibrillen und das Kernkörperchen treten deutlich hervor, die Chromatinkugeln sind gelöst (pag. 104).
- Fig. 111. Dsgl. Kerne nach der Behandlung mit Ferrocyankalium und Essigsäure. Das Chromatin ist gelöst, die Nucleolen treten scharf hervor, die übrige Struktur ist undeutlich (pag. 115).
- Fig. 112. Dsgl. Kern in 50 % Essigsäure, die grösseren Chromatinkugeln treten scharf hervor, die beiden Nucleolen sind ziemlich durchsichtig, ebenso die Kernmembran (pag. 110).
- Fig. 113. Dsgl. Die Kerne in Wasser gekocht. Die Chromatinkugeln sind erhalten geblieben, die Gerüstfibrillen sind undeutlich geworden, der Kern im Ganzen etwas geschrumpft (pag. 98).
- Fig. 114. *Hyacinthus orientalis*. Kern aus einer älteren in Wasser gewachsenen Wurzel. Dieser der Wurzelspitze entnommene Kern zeigt ein dichteres Fibrillengerüst mit zahlreichen Chromatinkörnchen (pag. 82, 85).
- Fig. 115. Dsgl. Kern aus der Wurzelbasis. Derselbe ist bedeutend chromatinärmer (pag. 85).
- Fig. 116. *Hyacinthus orientalis*. Kern aus dem Blumenblatt. Durch die Behandlung mit schwefelsaurem Kupfer (5 Tage) ist das Gerüst und die übrigen Substanzen erhalten geblieben, das Chromatin gelöst (pag. 116).
- Fig. 117—120. Dsgl. Verschiedene Stadien der Trypsinverdauung. Bei Fig. 117 und 118 erfolgt partielle Lösung des Chromatins, bei Fig. 119 ist das Chromatin in Tropfenform ausgetreten, durch die Flemming'sche Mischung jedoch fixirt, in Fig. 120 ist der nach der Lösung des Chromatins zurückbleibende, nach Gram'scher Methode nicht mehr tingirbare Rest gezeichnet. Fig. 120 wurde in derselben Weise behandelt, ohne sich jedoch zu färben (pag. 118, 119).

## Tafel IV. Zellkerne.

- Fig. 121. (Vergr. 860.) *Pisum sativum*. Kern aus dem Rindenparenchym des Epicotyls in Wasser, Kernmembran geplatzt, Inhalt des Kernes austretend (pag. 90).
- Fig. 122. (Vergr. 860.) Dsgl. Derselbe Kern nach der Behandlung mit einer 20procentigen Zuckerlösung (pag. 90).
- Fig. 123a—c. (Vergr. 860.) *Pisum sativum*. Kerne aus der Wurzel eines Keimlings, 1—2 mm von der Spitze entfernt. Allmähliges Aufquellen innerhalb verletzter Zellen. Fig. 123a Beginn der Wasserwirkung, Fig. 123c Endstadium (pag. 91).
- Fig. 124a—c. *Triticum vulgare*. Kerne aus dem Endosperm eines unreifen Samens beim Quellen in Hühnereiweiss. Fig. 124a homogener nicht gequollener Kern, b und c gequollene Kerne (pag. 91).
- Fig. 125. (Vergr. 860.) *Pisum sativum*. Kerne aus dem Rindenparenchym des jungen Keimlingsstengels, 69 mm vom Vegetationspunkt entfernt. Quellung in Wasser unter Bildung von Randvacuolen (pag. 92).
- Fig. 126. (Vergr. 860.) Dsgl. Das in Fig. 125 abgebildete Object, nach Zusatz von 10 % Kochsalz, Fällung der Kernstoffe (pag. 92).
- Fig. 127. (Vergr. 1150.) *Allium cepa*, erste fleischige Schale von aussen, Kerne bei der Einwirkung von Wasser (pag. 92).
- Fig. 128—131. *Hyacinthus orientalis*. Kerne aus jungen Blumenblättern, bei der Einwirkung von Wasser. Fig. 128 ungequollener Kern mit undeutlichem Fibrillengerüst. Fig. 129 Vacuolenbildung mit zurückbleibendem Fibrillennetz. Fig. 130 stärkeres Aufquellen der Zwischensubstanz, Fibrillen noch deutlich, Fig. 131 auch die Fibrillen verquollen (pag. 92, 93).
- Fig. 132. (Vergr. 1150.) *Allium porrum*. Kerne aus dem in der Zwiebel eingeschlossenen Vegetationspunkt in Hühnereiweiss. Quellung mit Randvacuolenbildung (pag. 91).
- Fig. 133—136. (Vergr. 1150.) *Solanum tuberosum*. Verschiedene Formen der Wasserwirkung an den Kernen eines älteren Internodiums. Fig. 133 Bildung von Vacuolen innerhalb des Kerns; Fig. 134 Quellung mit zurückbleibenden Gerüstfibrillen; Fig. 135 ungequollener Kern; Fig. 136 Schrumpfung des Kerninhalts, Kernmembran abgehoben (pag. 96, 97).
- Fig. 137. (Vergr. 1150.) *Solanum tuberosum*. Kerne aus einem jungen im Winter aus den Knollen getriebenen Spross bei der Einwirkung von Wasser. Der ganze Kerninhalt ist verquollen (pag. 97).
- Fig. 138. (Vergr. 1150.) Dsgl. Dasselbe wie Fig. 137, die Quellung ist jedoch noch nicht so weit vorgeschritten, man erkennt am Rande noch einzelne Fäden und Körnchen (pag. 97).
- Fig. 139. *Aconitum lycoctonum*, älteres Internodium. Der Kern zeigt unter der Einwirkung des Wassers eine bedeutendere Quellung der Grundsubstanz, ob die sichtbaren Fibrillen den ursprünglichen entsprechen, ist fraglich (pag. 93).
- Fig. 140. (Vergr. 1150.) *Solanum tuberosum*. Kern aus der Knospe einer Knolle, unter der Einwirkung von Wasser. Bildung einer centralen Vacuole, in welcher der Nucleolus schwimmt (pag. 96, 97).
- Fig. 141—143. *Beta rubra*. Kerne aus Epidermiszellen junger Blätter, bei der Einwirkung von Wasser. In Fig. 141 und 143 wurde eine centrale Vacuole gebildet, bei Fig. 142 und 143 hat sich die Kernmembran abgehoben (pag. 96, 97).
- Fig. 144. *Platanthera bifolia*. Theil einer Zelle mit contrahirtem Plasmakörper und Zellkern. Die Zelle war in 10proc. Kochsalzlösung abge-

storben, der Kerninhalt hatte sich von der Kernmembran ebenfalls zurückgezogen. Die Kernmembran erscheint porös (pag. 102).

- Fig. 145. *Pisum sativum*. Kern aus dem Parenchym einer jungen Wurzel unter der Einwirkung von 1proc. Monokaliumphosphat (pag. 105).
- Fig. 146. *Vicia sativa*. Epicotyl. Quellung des Kerns in 5proc. Monokaliumphosphat, Trennung von Fibrillen (pag. 105).
- Fig. 147a—c. (Vergr. 1000.) *Vitis vinifera*. Kerne aus unreifen Beeren in Wasser; Fig. 147a ungequollenen Zustand, b geringe Quellung, c Quellung mit Trennung der Fibrillen (pag. 97).
- Fig. 148. *Vicia sativa*. Kern aus dem Epicotyl in Kalkwasser. Der Kerninhalt ist stark gequollen, das Kernkörperchen ist ebenfalls voluminös geworden, in seinem Innern ist eine Vacuole gebildet (pag. 107).
- Fig. 149. Dsgl. Einwirkung von 5proc. Monokaliumphosphat, Bildung einer centralen Vacuole, vgl. Fig. 146 (pag. 105).
- Fig. 150. *Pisum sativum*. Kern aus einer jungen Wurzel bei der Behandlung mit concentrirter Kalilauge (pag. 108).
- Fig. 151a—c. *Vicia sativa*. Kerne aus dem Epicotyl unter der Einwirkung von 1proc. Salzsäure. In Fig. 151a ist die Quellung gering, die Chromatinkörnchen treten scharf hervor, bei b ist das Kernkörperchen homogen durchsichtig geworden (gelöst?), bei c sind die Chromatinkörnchen undeutlich geworden, der ganze Kern stärker gequollen (pag. 112, 113).

### Tafel V. Cytoplasma.

- Fig. 152. (Vergr. 520.) *Spirogyra* sp. Theil einer unveränderten Zelle in Wasser, Oberflächenansicht. Die Cytoplasmafäden sind sehr zart, enthalten kleine körnige Gebilde (pag. 133).
- Fig. 153. (Vergr. 1150.) *Mnium undulatum*. Zwei unverletzte Zellen eines im Herbst untersuchten Blattes. Durch den Zellraum gehen feine Plasmafäden, welche kleine Oeltröpfchen enthalten (pag. 134).
- Fig. 154. (Vergr. 520.) *Spirogyra* sp. Theil einer unverletzten, jedoch mit 10 % Kochsalz behandelten Zelle. Die Plasmafäden sind contrahirt, zu kleinen Kugeln und Bläschen zusammengelaufen, welche sich zumeist den Chlorophyllbändern anlegen (pag. 133 und 172).
- Fig. 155, 156. (Vergr. 900.) *Ricinus sanguineus*. Sehr junge Zellen aus den unreifen Cotyledonen. Das Protoplasma dieser unverletzten Zellen ist theilweise fädig, enthält sehr kleine Oeltröpfchen. Die grösseren runden Körper sind junge in Theilung begriffene Aleuronkörner (pag. 135).
- Fig. 157. *Pisum sativum*. Unveränderte Zelle aus jungen Theilen einer Wurzel. Durch den Zellsafttraum gehen feine anastomosirende Cytoplasmafäden (pag. 136).
- Fig. 158. (Vergr. 1100.) *Tradescantia virginica*. Unveränderte Zelle eines jungen Staubfadenhaares (pag. 136).
- Fig. 159. (Vergr. 720.) *Phaseolus multiflorus*. Theil einer älteren Parenchymzelle aus dem Keimlingsstengel nach der Fixirung mit Flemming'scher Mischung. Das Cytoplasma zeigt relativ wenige feine Körnchen, die grösseren Körnchen sind kleine Stärkebildner. Man vergleiche hierzu die Niederschlagsbildung in Fig. 164, Taf. VI. (pag. 141).
- Fig. 160. (Vergr. 720.) *Pisum sativum*. Parenchymzelle aus einem etwas älteren Internodium einer jungen Pflanze nach der Fixirung mit Flemming'scher Mischung. Fibrilläre Fällung des Cytoplasmas, die grösseren, etwas dunkleren Körper sind Stärkebildner. Man vergleiche hierzu die Niederschlagsbildung in Fig. 166, Taf. VI. (pag. 141).

- Fig. 161. (Vergr. 720.) *Hyacinthus orientalis*. Zelle aus der Epidermis eines Blumenblattes nach Fixirung mit Ferrocyankalium und Essigsäure. Netzförmig-fibrilläre Fällungsstruktur (pag. 141).

## Tafel VI. Niederschlags- und Vacuolenbildung nicht organisirter Substanzen.

- Fig. 162. (Vergr. 940.) Niederschlag aus sehr verdünnter Lösung von  $\beta$ -Leim mit 6procentiger Gerbstofflösung (pag. 144).
- Fig. 163. (Vergr. 940.) Niederschlag aus sehr verdünnter Lösung von  $\beta$ -Leim und 0,5procentiger Gerbstofflösung (pag. 144).
- Fig. 164—168. (Vergr. 940.) Verschiedene auf einander folgende Stadien der Niederschlagsmembranbildung zwischen 8proc. Lösung von essigsauerm Kupfer und 10proc. Lösung von Ferrocyankalium (pag. 148).
- Fig. 169. (Vergr. 940.) Niederschlagsmembran zwischen 2 % essigsauerm Kupfer in 12 % Gerbstoff (pag. 150).
- Fig. 170. (Vergr. 465.) Kugeln aus gerbsauerm Leim, die innerhalb einer sog. künstlichen Zelle gebildet wurden. Die Entmischung der löslichen und unlöslichen Modification des gerbsauern Leims hat noch nicht stattgefunden (pag. 157).
- Fig. 171. (Vergr. 465.) Dieselben Kugeln wie in Fig. 170, nachdem Entmischung (Vacuolenbildung) eingetreten ist (pag. 158).
- Fig. 172. (Vergr. 26.) Ausstülpung einer Niederschlagsmembran aus gerbsauerm Leim mit Körnchenausscheidung in der Leimlösung (pag. 157).
- Fig. 173. (Vergr. 465.) Niederschlagsmembran von gerbsauerm Leim mit Vacuolenbildung, rechts eine radial verlaufende Lamelle, welche durch das Aneinanderlegen zweier Membranfalten entstanden ist (pag. 158).

## Tafel VII. Cytoplasma.

- Fig. 174. *Pisum sativum*. Wenig verletzte Zellen der Wurzelspitze; unter der Einwirkung von Wasser sind Vacuolen gebildet, welche man hier in der Oberflächenansicht sieht (pag. 161).
- Fig. 175. Dsgl. Quellung in Wasser, Querschnitt der Zelle. Die hellen Stellen sind Zellsafträume (pag. 162).
- Fig. 176. (Vergr. 520.) *Brassica oleracea* var. *capitata* (Rothkraut). Verletzte Epidermiszelle in Hühnereiweiss liegend. Vacuolenbildung im Cytoplasma. Die dunkleren Körnchen sind kleine Stärkekörner (pag. 162).
- Fig. 177. (Vergr. 1100.) *Tradescantia virginica*. Zwei Zellen aus einem Staubfadenhaar, nach 24stündigem Liegen in Hühnereiweiss. Bildung von Vacuolen im Cytoplasma (pag. 162).
- Fig. 178. (Vergr. 720.) *Brassica oleracea* var. *capitata*. Epidermiszelle beim Absterben in Methylviolett. Das Cytoplasma ist schwach violett gefärbt, was in unserer Zeichnung nicht zum Ausdruck kommt (pag. 163).
- Fig. 179, 180. (Vergr. 860.) *Hyacinthus orientalis*. Blumenblattzelle mit Ausfällungen aus dem Zellsaft. Fig. 179 nach Zusatz von verdünntem Alkohol (pag. 153), Fig. 180 in Alkohol absolutus (pag. 151).
- Fig. 181. (Vergr. 1100.) *Tulipa Gesneriana*. Epidermis des Blumenblattes nach der Fixirung durch einen Inductionsstrom (pag. 153).
- Fig. 182. *Rumex hamatus*. Eine Zelle des Blattstiels in 0,1proc. Kalilauge. Ausfällung aus dem Zellsaft mit nachfolgender Vacuolenbildung in der ausgefällten Substanz (pag. 152).

**Tafel VIII. Cytoplasma.**

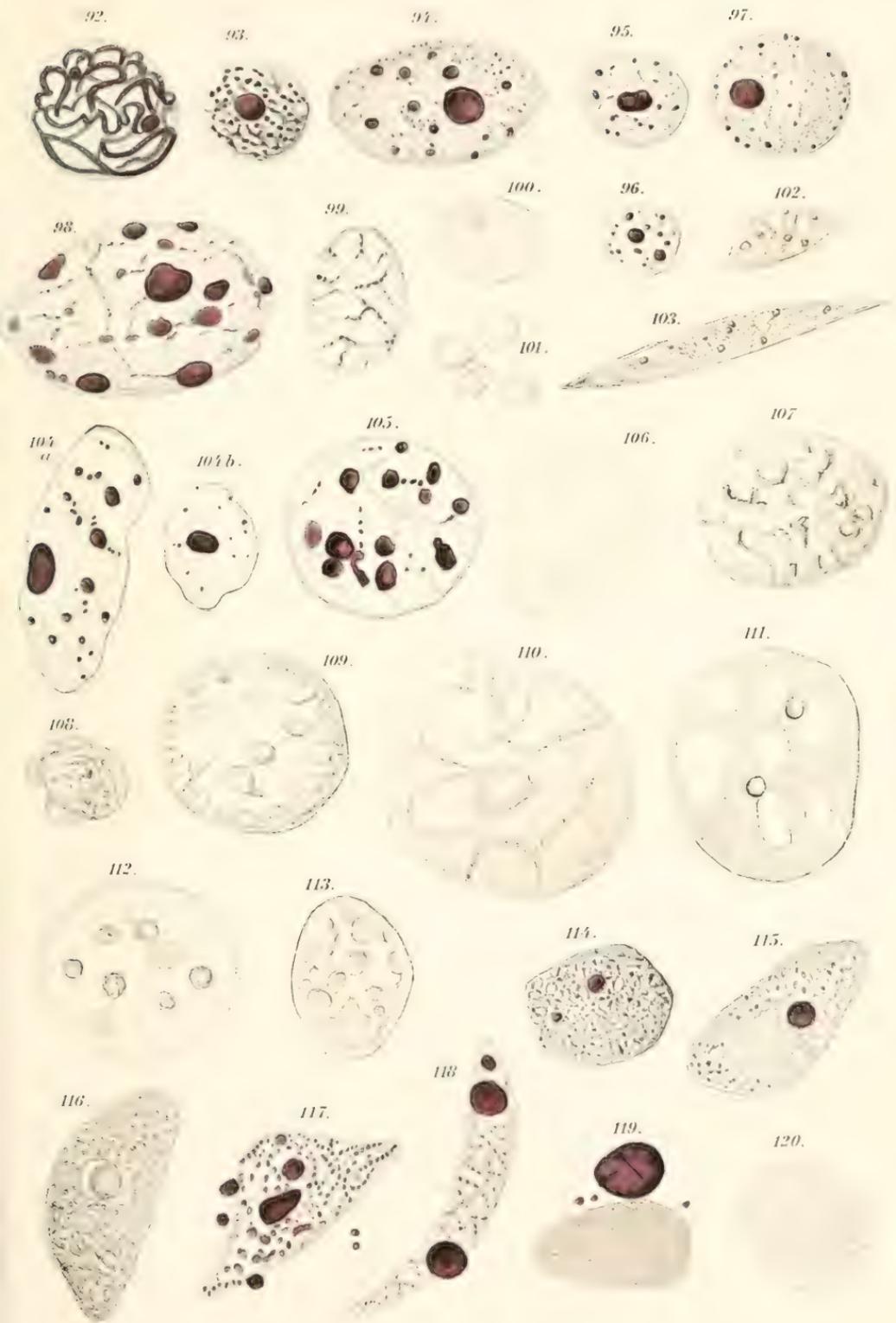
- Fig. 183. (Vergr. 800.) *Hyacinthus orientalis*. Unverletzte Blumenblattzellen. Ausscheidungen aus dem Zellsaft bei dem Einlegen der Zellen in gesättigte Lösung von schwefelsaurer Magnesia (pag. 152).
- Fig. 184. (Vergr. 860.) Dsgl. Durch die gesättigte Lösung von schwefelsaurer Magnesia bewirkte Ausfällung aus dem Zellsaft, nach Verquellung des Cytoplasmas in 10procentiger Lösung dieses Salzes (pag. 152).
- Fig. 185. (Vergr. 600.) *Cypripedium venustum*. Unverletzte Epidermiszelle eines jungen Blattes in Chloroformwasser. Ausfällung aus dem Zellsaft in Tropfenform und in Netzform (pag. 153).
- Fig. 186. (Vergr. 645.) *Hyacinthus orientalis*. Unverletzte Zelle aus dem Blumenblatt nach längerem Liegen in 10procentiger Lösung von schwefelsaurer Magnesia (pag. 172).
- Fig. 187. (Vergr. 860.) *Brassica oleracea* var. *crispa*. Unverletzte Epidermiszelle nach 24stündigem Liegen in 10proc. Kochsalzlösung. Die Platintheile sind durch den Farbstoff des Zellsaftes nicht gefärbt (pag. 171).
- Fig. 188. (Vergr. 600.) Dsgl. Quellungsstadium des Cytoplasmas in 10 % Kochsalz. Das Cytoplasma zeigt hier erst kleine Vacuolen, welche aus dem Zellsaft Farbstoff aufgenommen haben. Zugleich Ausscheidung von Kugeln im Zellsaft (pag. 171).



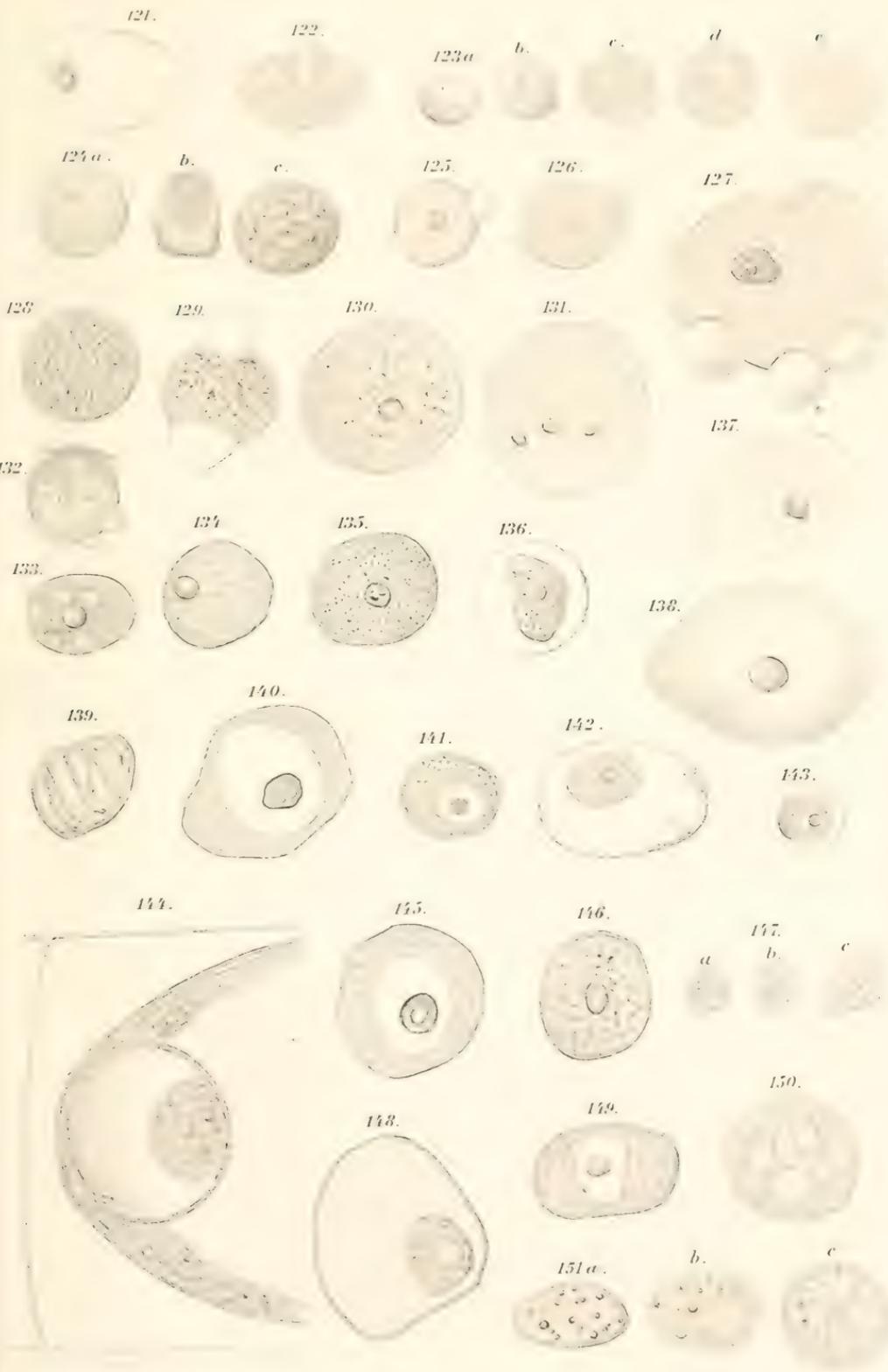










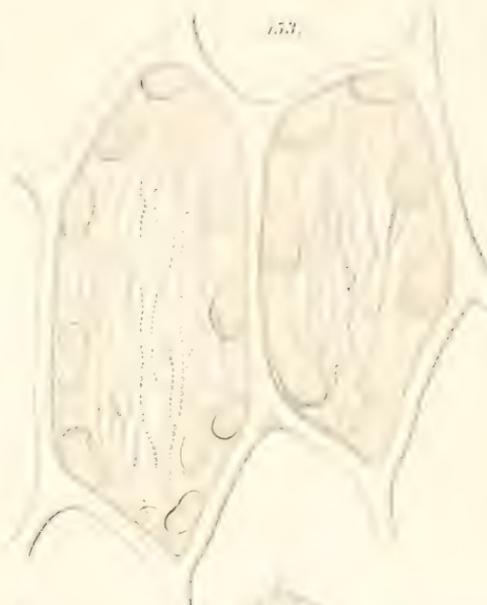




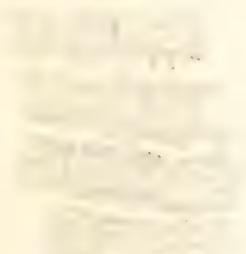
152.



153.



154.



155.



156.



159.



157.



158.



160.



161.





162



163



164



165



166



167



168



169



170



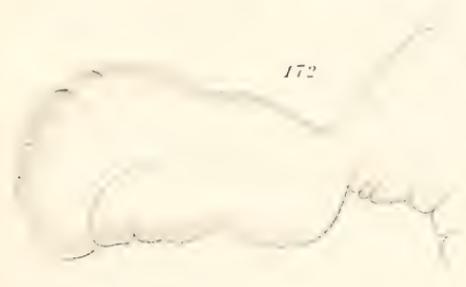
171



173



172





174.

175.

176.

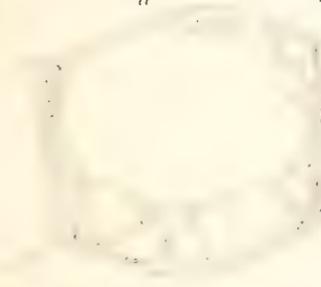


a

177.

b

178.



179.



182.

180.



181.





133.

b

c

a



134

136.

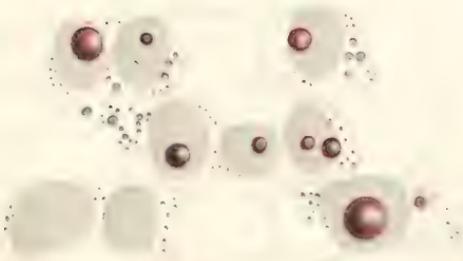


135

137.



138.





Beiträge

zur

Biologie der Pflanzen.

Herausgegeben

von

Dr. Ferdinand Cohn.

Fünfter Band. Zweites Heft.

Mit vier Tafeln.



Breslau 1890.

J. U. Kern's Verlag  
(Max Müller).



## Inhalt des zweiten Heftes.

	Seite.
Untersuchungen über Baeterien. XII. Untersuchungen über die Malaria in Pola. Von Dr. Bernardo Schiavuzzi in Pola. (Mit Tafel IX.)	245
Die Entwicklung der Sporangien bei den Saprolegnieen. Ein Beitrag zur Kenntniß der freien Zellbildung. Von W. Rotherth in Strassburg i. Els. (Mit Tafel X.).....	291
Ueber <i>Dicranochaete reniformis</i> Hieron., eine neue <i>Protococcacea</i> des Süsswassers. Von G. Hieronymus. (Mit Tafel XI. und XII.).	351



# Untersuchungen über Bacterien.

## XII.

### Untersuchungen über die Malaria in Pola.

Von

**Dr. Bernardo Schiavuzzi in Pola.**

Mit Tafel IX.

#### I.

Jedermann kennt die Nachtheile, welche die Malaria so vielen ehemals blühenden und an Erzeugnissen reichen Ländern zugefügt hat, die einst bevorzugte Wohnstätten, jetzt wüst und verlassen sind. Welche Ursachen jedoch zusammengewirkt haben, um so traurige Folgen hervorzubringen, ist bis jetzt noch nicht genügend erforscht. Man hat an Veränderungen der Höhenlage, an Aufbrechen alter Bodenschichten, an Sumpfbildung und viele andere Umstände gedacht, um die Entwicklung der Endemie zu erklären; aber bis jetzt hat noch keine Erklärung vollständiges Licht auf die Erscheinung geworfen. Es ist vielleicht dem Geologen, dem Hydrologen und theilweise dem Meteorologen die Lösung dieses hygienischen Problems vorbehalten; Sache des Arztes ist es allein, die pathogene Substanz zu erforschen, welche in den thierischen Organismus eingedrungen, in demselben das Malariafieber erzeugt.

Die Untersuchungen über diesen Gegenstand reichen ungefähr 17 Jahre zurück. Im Jahre 1866 glaubte Salisbury in Amerika die Ursache der Malaria in einer Alge aus der Gattung *Palmella*, von ihm *P. gemiasma* genannt, zu erkennen, welche er in einigen Sümpfen des Ohio gefunden, und auch bei Ausgrabungen in jenen sumpfigen Gegenden hatte sich entwickeln sehen<sup>1)</sup>. Seine Vermuthung, dass die Sporen dieser Alge, wenn sie sich in die Atmosphäre erheben und in den menschlichen Körper eindringen, die Infektion der Malaria verursachen, stützte sich auf die Thatsache, dass ein Paar junge Leute, die bei offenem Fenster in einem Zimmer schliefen, in dem einige Kisten, welche diese Algen enthielten, sich befanden, 14 Tage später vom Fieber ergriffen wurden. Indess war es sehr wohl möglich, dass Luftströmungen den krankheits erzeugenden Keim von fernher in das Zimmer gebracht und die beiden jungen Leute angesteckt hatten.

1) American Journal of medical Sciences, January 1866.

Im Jahre 1869 beschrieb Pietro Balestra eine Fadenalge, welche er in den Pontinischen Sümpfen und in den Sumpfgewässern von Ostia und Maccarese gefunden, und die er für die Ursache der Malaria hielt<sup>1)</sup>; diese von ihm *Alga miasmatica* genannte Alge wurde von Lanzi und Terrigi als eine *Cladophora* oder ein *Oedogonium* bestimmt, von denen es an jenen Orten einen Ueberfluss giebt<sup>2)</sup>. Balestra stützte seine Hypothese darauf, dass 8 Stunden, nachdem er unfreiwillig an einer Karaffe mit Sumpfschlammwasser, auf dessen Oberfläche sich eine Schicht jener Alge gebildet, gerochen hatte, er von einem intermittirenden Fieber ergriffen wurde<sup>3)</sup>. Wenn man jedoch bedenkt, dass Balestra von der Krankheit im Sommer zu Rom heimgesucht wurde, nachdem er Excursionen nach den Pontinischen Sümpfen und den stehenden Gewässern von Ostia und Maccarese unternommen, so ist es offenbar ebenso gut möglich, dass jenes Fieber einen andern Ursprung hatte.

Safford und Bartlett glaubten die Ursache der Malaria in *Hydrogastrum granulatum*, Archer in *Chthonoblastus aeruginosus* und Barzellini in *Palmogloea micrococca* zu erkennen, nur weil Jeder von ihnen die in Rede stehenden Algen in den zur Erforschung gewählten Sumpfgewässern reichlich gefunden hatte. Aber alle diese Arten finden sich auch in gesunden Gegenden, wenn sie nur reich an Feuchtigkeit sind. Lanzi und Terrigi fanden sie nur selten in der Campagna von Rom und hoben zugleich hervor, dass der Durchmesser ihrer Sporen und Fäden den Durchmesser der Bluteapillaren übertrifft, so dass sie unmöglich die Krankheits-träger sein können<sup>4)</sup>.

Im Jahre 1873 machte Griffini an Hunden und Kaninchen Experimente mit Thau, welchen er auf Sümpfen und Reisfeldern gesammelt hatte<sup>5)</sup>. Dieser Thau, welcher verschiedene Schizomyceten enthielt, wurde in die Venen der Hunde injicirt; es wurden Temperaturerhöhungen von  $\frac{1}{2}$  bis  $1\frac{1}{3}^{\circ}$  erhalten, welche nach und nach verschwanden, ohne sich zu wiederholen. Die Milz der Thiere blieb in der normalen Grösse, mit einem negativen Resultat bei der mikroskopischen Untersuchung.

Lanzi und Ferrigi hatten im Jahre 1870 in dem Schlamm, welchen sie an einigen malarischen Stellen der Stadt Rom, im stehenden Gewässer von Ostia und in den Pontinischen Sümpfen gesammelt, einen Pilz *Monilia penicillata* Fr. (*Biarea elegans*, Corda) gefunden, den sie anfänglich für die Ursache der Malaria zu halten geneigt waren; doch überzeugten sie sich nach gründlicherer Untersuchung, dass diese Vermuthung falsch sei; indem sie die

1) Archivio di Medicina, chirurgia ed igiene di Roma. Anno I. Roma 1869.

2) Lanzi e Terrigi, Il miasma vegetale o malaria ed il clima di Roma. Memoria letta all'Accademia medica di Roma il 28 Maggio 1876, pag. 15.

3) Balestra, Ricerche ed esperimenti sulla natura e generi del miasma palustre. Roma 1877, pag. 36.

4) Lanzi e Terrigi l. c. pag. 14.

5) Griffini, Relazione intorno alle esperienze ed osservazioni sulla rugiada dei luoghi miasmatici. Bulletino crittogamico, Anno I, Vol. I, Milano 1874.

Parasitentheorie der malarischen Infection aufgaben, nahmen sie an, dass die Endemie von einem vegetabilischen Zersetzungsproduct abhänge, das durch die Verwesung von Algen und anderen krautartigen Pflanzen erzeugt werde; sie machten darauf neue Versuche an Thieren hauptsächlich mit dem Schlamm aus den Sumpfgewässern von Ostia und erhielten als Resultat, dass in Meerschweinchen die Injektion eine Erhöhung der Temperatur verursachte, welche bei einigen 40° C. erreichte, während bei der Section sich eine Vergrößerung der Milz und der Leber fand; die genannten Organe und das Blut enthielten viele Körnchen von schwarzem Pigment. Dasselbe Resultat zeigten einige Meerschweinchen, nachdem sie viele Stunden lang einer mit den Ausdünstungen des Schlammes von Ostia geschwängerten Atmosphäre ausgesetzt worden waren<sup>1)</sup>. Lanzi und Terrigi gelang es demnach, indem sie ihre Untersuchungen mit strengerer Methode als ihre Vorgänger ausführten, der Lösung des Problems einen Schritt näher zu kommen. In der That sind die von ihnen gefundenen Veränderungen an den inficirten Thieren grösstentheils charakteristisch für die malarische Infection, wengleich einige Symptome nicht das genaue Bild der endemischen Syndrome darboten und vielleicht von einer septischen Infection herrührten, wie sie leicht durch jene aus der Verwesung hervorgehenden Stoffe hervorgebracht werden konnte.

Nach der Naturforscherversammlung in Kassel im September 1878 beschlossen Edwin Klebs und Corrado-Tommasi-Crudeli, das Studium der Malaria in der Campagna von Rom während des Frühlings 1879 wieder aufzunehmen<sup>2)</sup>. Dieser Untersuchung unterwarfen sie nicht nur die Luft, sondern auch das Wasser, den Schlamm und die Erde der römischen Campagna. Zur Untersuchung der Luft bedienten sie sich eines in dem physiologischen Institut zu Prag nach Angabe von Klebs construirten Ventilators, eines sehr complicirten, aber grosser Genauigkeit fähigen Apparates. Sie bildeten im Laboratorium künstliche Sumpfe mit Schlamm und inficirtem Wasser und liessen darin die Mikroorganismen sich entwickeln, indem sie diese künstlichen Sumpfe der Temperatur und den andern Bedingungen inficirter Gegenden unterwarfen. Bei der Untersuchung der Gelatine, in deren Berührung die inficirte Luft des Ventilators gewesen war, sowie des Wassers der künstlichen Sumpfe beobachteten sie eine Menge kurzer Stäbchen von 2,25 bis 6,75 Mikromillimeter Länge und 0,225 bis 0,45 Mikromillimeter Breite; dünne Fäden, zuweilen ziemlich lang, homogen; viele kleine rundliche Körnchen ähnlich Micrococcen; bewegliche Stäbchen von verschiedener Länge; rundliche in Reihen geordnete Körnchen und Fäden, welche theilweise gegliedert, glänzende Körnchen enthielten.

Dieses Material cultivirten sie in Glasröhren, welche Gelatine von Fischleim enthielten und an der Lampe verschlossen waren, bei einer Temperatur von

1) Lanzi e Terrigi l. c. pag. 13.

2) Studi sulla natura della Malaria. Memoria dei professori Edwin Klebs e Corrado-Tommasi-Crudeli. Reale Accademia dei Lincei. Anno 276 (1878—79).

30° bis 34° C. Nach 48 Stunden zeigten diese Culturen eine Entwicklung von Schizomycceten von zweifacher Gestalt: gekrümmte Fäden, manchmal gewunden, manchmal henkelförmig gebogen, bei denen man keine Spur von Theilung oder Differenzirung ihrer Substanz sah, und Stäbchen, welche ein glänzendes Körnchen (Spore) an beiden Enden enthielten. Andere, auch kleinere Stäbchen enthielten ein drittes Körnchen in der Mitte. Ausserdem fanden sich Fäden ohne Körnchen, von denen einige eine Andeutung von Theilung zeigten, während bei andern das Protoplasma in der halben Länge durch einen hellen Zwischenraum getheilt war, in welchem man das Vorhandensein einer Membran erkennen konnte. Endlich sahen sie lange gewundene Fäden, welche eine bedeutende Menge glänzender Körnchen enthielten; diese letzteren zeigten den anderen gegenüber eine grössere Schnelligkeit in der Entwicklung. Es herrschten also besonders zwei Formen: homogene Fäden mit beginnender Spaltung und Fäden mit Ansatz zu Sporen, einige davon mit körnig gewordenem Protoplasma. Eine dritte Form, bestehend aus starken spindelförmigen Zellen, gehörte einer anderen organischen Reihe an, die mit der Entwicklung der beiden ersten verschwand; diese Untersuchung ergab also, dass die beiden ersten homogenen Formen einen *Bacillus* darstellten, der, verschieden von dem *Bacillus subtilis* und dem *Bacillus anthracis*, sich folgendermaassen charakterisirt:

„Stäbchen von 5 bis 10 Mikromm. Länge, in ihrer Entwicklung zu gewundenen Fäden auswachsend, welche sich in Glieder theilen, vermittelst der Entstehung heller Zwischenräume im Protoplasma, oder seltener durch Scheidewände. Diese Fäden erzeugen an Oberflächen, welche dem Einflusse der Luft ausgesetzt sind, Reihen von sehr kurzen Gliedern und entwickeln in ihrem Innern Sporen, bevor die Theilung in Glieder eintritt, oder auch, nachdem sie schon eingetreten ist. Die Sporen nehmen gleichzeitig die Mitte oder die äussersten Enden der Glieder ein. Wenn die Theilung in Glieder nicht erfolgt, so vermehren sie sich, indem sie immer kleiner werden, während das Innere der Fäden mit einer körnigen Masse sich erfüllt.“

Die Beständigkeit, mit welcher dieser *Bacillus* sich in den Culturen zeigte, bestimmte die beiden Forscher, ihn für die pathogene Ursache der Malaria zu halten; um den Werth dieser Vermuthung zu prüfen, schritten sie zu Versuchen an Thieren.

Diese Versuche wurden mit weissen Kaninchen angestellt, die vorher gewogen und deren mittlere Temperatur bekannt war; dieselben wurden in geeigneten, den Anforderungen der Hygiene solcher Thiere entsprechend gebauten Ställen gehalten. Den Versuchen ging eine anatomische Untersuchung über die Milz des Kaninchens voraus, um das Mittel der Dimensionen dieses Organs im Verhältniss zu den Dimensionen des Thieres zu erhalten. Man bekam so eine constante Zahl, „Index der Milz“ genannt, sowohl aus diesen Milzen als auch aus den Milzen geimpfter Thiere; alsdann wurden tabellarische Aufzeichnungen gemacht, aus denen die Form und

Grösse dieses Organs sowohl im natürlichen, als auch im krankhaften Zustande hervorging. Nachdem die Injektionen von Schlammeulturen an diesen Thieren stattgefunden, wurden dieselben regelmässigen häufigen Messungen mit dem Thermometer im Rectum unterworfen, aus denen meist deutlich hervorging, dass die Thiere infolge der Einimpfung Fieberanfälle, bald mit terzianem, bald und sogar häufiger, mit täglichem Typus erlitten hatten. Tödtete man diese Thiere, oder starben sie, so ergab sich, dass ihre Milz einen grösseren Umfang und einen grösseren Index hatte, dass ihr Gewebe schwarzes Pigment und rundliche, bewegliche Körnchen enthielt und dass im Blute sich Fäden von etwa 6 Micromm. Länge und 0,7 Micromm. Breite entwickelten. Bei einem ferneren Versuch, den Milzsaft und den Saft der Lymphdrüsen zu cultiviren, um den Ursprung jener rundlichen Körnchen zu erforschen, erhielten sie nach 24 Stunden eine Entwicklung von unbeweglichen Fäden mit glänzenden Körnchen (Sporen), und von beweglichen, bisweilen in Haufen vereinigten Stäbchen, ausserdem freie ovale, den in den Fäden enthaltenen ähnliche, Körnchen. Es ergab sich also zur Evidenz, dass die Thiere infolge der Uebertragung solcher Spaltpilze an einem Fieber erkrankt waren, welches in seinem Verlaufe alle Merkmale des Malariafiebers trug. Diese Spaltpilze, deren Entwicklungsgang die beiden Forscher in der Hauptsache ermittelten, wurden von ihnen *Bacillus malariae* genannt.

1880 veranlasste Tommasi-Crudeli die Doktoren Giuseppe Cuboni und Ettore Marchiafava, diese Studien in grösserem Maassstabe fortzusetzen; ihre Untersuchungen wurden mit grosser Genauigkeit ausgeführt und hatten den Zweck, ausser der Konstatirung des Bacillus in den Malaria-gegenden und der Ansteckungsfähigkeit des Blutes der Malariakranken, auch, und zwar insbesondere, zu erforschen, ob im Blute der Malariakranken sich Mikroorganismen befänden, und ob diese den von Klebs und Tommasi-Crudeli beschriebenen entsprächen. In Bezug auf die beiden ersten sowie auf die letzte Frage wurde ein positives Resultat erhalten. Im Folgenden will ich mittheilen, was sie veröffentlicht haben<sup>1)</sup>:

„Das Blut wurde nach den früher beschriebenen Methoden den Fieberkranken sowohl während der Akme, als auch während der Abnahme des Fiebers entzogen, in der Voraussetzung, dass grade in diesen verschiedenen Stadien des Fiebers die Untersuchung des Blutes von grösster Bedeutung sein müsste. . . . Die mikroskopische Untersuchung des Blutes ergab immer das Vorhandensein von rundlichen Körperchen, die das Licht stark brachen und lebhaft oscillirten. Sie unterscheiden sich von den sogenannten Elementarkörnchen durch ihre Gleichförmigkeit und Widerstandsfähigkeit gegen Säuren und Alkalien, während sie mit Rücksicht auf ihre Gestalt und

<sup>1)</sup> Dr. Gius. Cuboni und Dr. Ettore Marchiafava: Neue Studien über die Natur der Malaria. — Archiv für experiment. Pathologie und Pharmakologie, 1880 pag. 266.

aus später anzuführenden Gründen in engste Beziehung zu jenen beweglichen, in den Malariagegenden vorhandenen Sporen, aus denen sich die Bacillen entwickeln, gesetzt werden müssen.“

„Die Zahl dieser Sporen im Blute ist veränderlich; manchmal fanden sie sich sehr zahlreich und auch im Innern der weissen Blutkörperchen eingeschlossen, die sie vollständig ausfüllen. Aus ihnen bestand hauptsächlich der Befund im Blute während des Stadium der Akme und der Abnahme des Fiebers, in welchem zuweilen, nicht grade selten, auch kleine Bacillen mit oder ohne Sporen gesehen wurden.“ . . .

„In dem bei Beginn des Fiebers entnommenen Blute traten beständig Spaltpilzformen auf, die lebhaft oscillirten und den Ort veränderten. Es waren kurze Bacillen, oft mit zwei Endsporen. . . . Ihre Länge schwankte zwischen 1—3 Durchmessern der rothen Blutkörperchen; ausser den beiden Endsporen fand sich bisweilen auch eine Mittelspore; manchmal enthielt der ganze Bacillus Sporen, so dass er einer Sporenkette ähnlich wurde. Seltener waren die Formen mit einer einzigen Endspore. Mit der wachsenden Temperatur der Fieberkranken verringerte sich die Menge der Stäbchen, während hingegen die der Sporen sich zu vermehren schien. Die Zahl dieser Formen war schwankend, oft (in 4 Fällen) sehr bedeutend (8—10 im Gesichtsfelde). Gleichzeitig müssen wir jedoch bemerken, dass diese Bacillen auch im Blute von Malariakranken im Stadium der Apyrexie sowie von anderen Fieberfreien und Apyretikern im Hospital gefunden werden, doch niemals in der Menge wie bei den Fieberkranken bei Beginn des Anfalles oder einige Stunden vor diesem. Das Vorkommen einiger Exemplare der beschriebenen Formen im Blute gesunder oder anderweitig erkrankter Personen darf uns nicht Wunder nehmen, wenn wir bedenken, dass alle Bewohner von Malariagegenden zweifellos dieselben mittelst der Athmungswerkzeuge in ihren Organismus aufnehmen müssen. Und man kann sehr wohl annehmen, dass die Ansteckung nicht stattfindet bei denen, deren Organe, besonders die Nieren, sich gesunder Cirkulationsverhältnisse erfreuen; denn in diesem Falle können keine ausgedehnten Anhäufungen stattfinden. Ausserdem ist zu beachten, dass es nicht selten in Malariagegenden Personen giebt, welche, obgleich sie nicht an Wechselfiebern leiden, beständig eine Milzgeschwulst, mit oder ohne Störungen haben.“

„Ohne Zweifel stellten die im Blute gefundenen Formen das sporenbildende Stadium eines Bacillus dar. Waren diese aber identisch mit den von Klebs und Tommasi-Crudeli untersuchten und *Bacillus Malariae* benannten Spaltpilzen, die wir in spontaner Entwicklung nur in Malariagegenden während des Sommers gefunden hatten? Wer unsere Fig. 6, Tab. III, welche die gewöhnlich vorkommenden Formen wiedergiebt, mit den schon in der Arbeit von Klebs und Tommasi-Crudeli (Tab. II. Fig. 3) gezeichneten Formen vergleichen wollte, könnte leicht zu der Meinung gelangen, dass es sich in unserem Falle nicht nur um eine andere Art, sondern auch

um eine von Bacillus verschiedene Gattung handelt. Indessen befindet sich auf der angeführten Figur der Bacillus im Stadium der Vermehrung durch einfache Theilung; die einzelnen Abschnitte enthalten keine Sporen, und ihr Protoplasma ist vollständig homogen. Wenn man hingegen den Malariabacillus betrachtet, wie ihn Klebs und Tommasi-Crudeli in den Culturen von Fischleim aus den Sümpfen von Caprolace beobachtet und auf Tab. II. Fig. 7 gezeichnet haben, so wird jedem seine grosse Aehnlichkeit mit den von uns aufgefundenen Formen in die Augen springen. Auch passen die von den erwähnten Forschern zur Bestimmung der Art aufgestellten Unterscheidungs-Merkmale vollkommen zu den von uns beobachteten Formen, und wir stehen daher nicht an, anzunehmen, dass die letzteren wirklich dem sporenbildenden Stadium des Malariabacillus (Klebs und Tommasi-Crudeli) entsprechen. Im übrigen sind unsere Kenntnisse über diesen Bacillus, wie auch fast über alle Spaltpilze in Bezug auf die Forderungen strenger Systematik für den Augenblick zu unvollständig und unsicher, und ohne Zweifel werden wir noch viele eingehende Untersuchungen in Betreff des Bacillus der Malariagegenden machen müssen; man wird ihn genau in allen Stadien seiner Entwicklung verfolgen und vor allem die Veränderungen, denen er nach seinem Eintritte in die Bluteirkulation eines Thieres unterliegt, aufhellen müssen, um jeden Zweifel in Bezug auf eine vollkommene spezifische Identität mit den im Blute der Malariafieberkranken beobachteten Formen zu beseitigen.“

Die Verfasser bemerken hierauf, dass sie in dem aus der Milz entnommenen Blute solche Sporen in bemerkenswerther Menge, aber nur selten Bacillen gefunden haben, von denen sie nur in einem Falle Formen beobachteten, welche mit den von Klebs und Tommasi-Crudeli beschriebenen identisch sind. Dieselben Sporen haben die Verfasser auch im Knochenmark, in den Lymphdrüsen, den Nieren und dem Blute von Personen, die an perniciosem Malariafieber gestorben waren, gefunden.

Den Studien Marchiafava's und Cuboni's schliessen sich, mit denselben Resultaten, die praktischen Versuche Zichls<sup>1)</sup> an, der im Blute dreier Malariafieberkranken Bacillen von 4 Mikromm. Länge und 0,7 Mikromm. Breite mit eigener Bewegung fand, welche mit den Bacillen von Klebs identisch waren; und zwar fand er diese Formen sowohl während des Paroxysmus, als auch in den fieberfreien Perioden. Eine Untersuchung desselben Autors bei 25 anderweitig Erkrankten war völlig negativ; nur bei einem Diabetiker wurden sie angetroffen.

Fast gleichzeitig kam Laveran<sup>2)</sup> beim Studium der pigmentirten Körperchen, welche Kelsch<sup>3)</sup> und Andere theils frei im Blutplasma, theils eingeschlossen

1) Siehe Flügge, Die Mikroorganismen, 1886, pag. 237.

2) Laveran. Nature parasitaire des accidents de l'impaludisme etc. Paris 1881. Comptes rendus 1882.

3) Kelsch, Contribution à l'anatomie pathologique des maladies palustres endémiques. Observations sur l'anémie, la mélanémie et la mélanose palustre. — Archiv. de physiol. non. et path. 2<sup>e</sup> série, T. 2.

in protoplasmatischen Massen, oder in den weissen Blutkörperchen gefunden hatten, auf den Gedanken, dass diese parasitische Elemente darstellen. Er beschreibt drei Formen dieser pigmentirten Körperchen, die er für parasitisch hält: 1. Längliche, an den Enden in Fäden auslaufende, fast immer halbmondförmig gekrümmte Elemente, von einer Länge von 0,008 bis 0,009 mm, in der Mitte 0,003 mm; ihr Umriss ist durch eine äusserst feine Linie bezeichnet, ihr Körper von farbloser Durchsichtigkeit, mit Ausnahme der Mitte, wo sich ein Fleck aus schwärzlichen Körnchen befindet; häufig verbindet eine sehr feine Linie die Enden des Halbmondes. 2. Kugelförmige, durchscheinende Elemente von mittlerem Durchmesser der Blutkörperchen mit Pigmentkörnchen, die im Zustande der Ruhe oft einen ganz regelmässigen Kreis beschreiben, in dem der Bewegung lebhaft sich bewegen; bisweilen bemerkt man an der Peripherie dieser Elemente äusserst feine Fäden, welche nach allen Richtungen hin von den schnellsten Bewegungen belebt und deren freie Enden leicht angeschwollen sind; diese Fäden können ihren Ort verändern und sich frei zwischen den Blutkörperchen bewegen. 3. Kugelförmige, unregelmässig gestaltete, durchscheinende und feinkörnige Elemente von 0,08 bis 0,10 mm Durchmesser mit Pigmentkörnchen, die bald unregelmässig an der Peripherie zerstreut sind, bald sich in der Mitte oder an einem Punkte der Peripherie zusammenballen.

Ausser diesen Gebilden fand Laveran im Blute auch kugelförmige, durchscheinende Elemente, kleiner als die vorhergehenden, mit beweglichen und unbeweglichen Pigmentkörnchen, bald vereinzelt, bald vereinigt, bald den rothen und weissen Blutkörperchen anhängend. Laveran glaubt, dass diese pigmentirten Körperchen verschiedene Phasen eines Parasiten darstellen, von dem er nicht sagen kann, ob er zu den Thieren oder Pflanzen gehört, welcher im encystirten Zustande lebt, im vollkommenen Zustande dagegen unter der Form beweglicher Fäden frei wird. Ausser diesen und anderen Elementen bemerkte Laveran im Blute noch einige glänzende, runde, bewegliche Körperchen ohne specifischen Charakter.

Richard<sup>1)</sup> hat das Resultat der Forschungen Laverans voll und ganz bestätigt, aber anstatt wie dieser, zu glauben, dass die kleinen pigmentirten Formen den rothen Blutkörperchen anhängen, ist er der Ansicht, dass sie sich im Innern derselben finden, wo sie sich entwickeln, ohne sie im vollkommenen Zustande zu verlassen.

Diese Beobachtungen, welche die pigmentirten Körperchen als Parasiten erscheinen liessen, veranlassten Marchiafava und A. Celli im October 1883 zu einer Untersuchung im Hospital Santo Spirito in Rom, deren Resultate von ihnen in den Abhandlungen der Königl. Akademie der Lincei<sup>2)</sup> und in den

1) Sur le parasite de la malaria. — Comptes rendus 1882.

2) Sulle alterazioni dei globuli rossi nella infezione da malaria e sulla genesi della melanemia. — Memorie dell' Accademia dei Lincei 1883.

Annalen der Landwirthschaft<sup>1)</sup> 2) veröffentlicht wurden. Die Verfasser geben an, es sei ihnen gelungen vor allem klarzustellen, in welcher Weise bei der Melanämie, einer charakteristischen Dyskrasie der Malariainfektion, das Pigment sich im cirkulirenden Blute bildet und zwar innerhalb der rothen Blutkörperchen im Innern homogener Massen, die sich mit gewissen Farbstoffen färben (Methylenblau, Vesuvium etc.), und wie, ohne dass Pigment erzeugt wird, oder zusammen mit den pigmentirten Massen, sich in diesen rothen Blutkörperchen micrococccenähnliche Kügelchen finden, die sich in den getrockneten und gefärbten Präparaten deutlich zeigten und parasitische Natur vermuthen liessen. Später gaben sie an, dass bei der Untersuchung des Blutes im frischen Zustande sich oft innerhalb der rothen Blutkörperchen mit lebhafter amöboider Bewegung zeigten, die sich auch mit denselben Anilinfarben färbten; dass im Malariablut, obgleich selten, die pigmentirten Formen mit Geisseln vorkommen, welche von Laveran beschrieben worden seien; dass die pigmentirten Körper sich zuweilen in Körperchen theilen; dass endlich das Malariafieber vermittelt des Blutes auf den Menschen übertragbar ist — was nicht nur durch den typischen Verlauf des Fiebers und die specifische Wirkung des Chinins, sondern auch durch das Vorhandensein der erwähnten Körperchen in den rothen und des schwarzen Pigments in den weissen Blutkörperchen bewiesen werde.

Diesem in den rothen Blutkörperchen gefundenen parasitischen Organismus, welcher aus homogenem Protoplasma besteht, mit lebhaftester amöboider Bewegung begabt und deutlich färbbar ist, schrieben die Verfasser die wahrscheinliche pathogene Ursache der Malaria zu, und nannten denselben Plasmodium oder Hämo plasmodium der Malaria.

Diese Auffassung, welche vollkommen im Widerspruche steht mit den von Marchiafava selbst im Verein mit Cuboni früher gemachten Studien und den damals erhaltenen Resultaten, fand entschiedene Gegner und unter diesen zuerst in Tommasi-Crudeli. In einer Abhandlung<sup>3)</sup>, die in der Sitzung der Accademia dei Lincei am 2. Mai 1886 verlesen wurde, spricht er sich in der Einleitung folgendermassen aus: „Marchiafava und Celli gebührt das hervorragende Verdienst, die Veränderung der rothen Blutkörperchen klar gestellt zu haben, welche durch die Verwandlung des Häoglobins in Melanin specifisch, und dadurch zum sicheren Anzeichen der Malariainfektion gemacht wird. Ich habe schon seit dem Kopenhagener<sup>4)</sup> Congress auf die praktische Wichtigkeit ihrer Entdeckung hingewiesen, da

1) Nuove ricerche sulla infezione malarica del prof. Ett. Marchiafava e del dott. Angelo Celli. Annali de Agricoltura 1886 No. 96.

2) Studi ulteriori sulla infezione malarica del prof. Ett. Marchiafava e del dott. Ang. Celli. ibid. No. 105.

3) Sul Plasmodium malariae di Marchiafava, Celli e Golgi. Nota del Socio Corrado Tommasi-Crudeli.

4) Les altérations des globules rouges du sang dans l'infection malarique. Extrait des Comptes rendues de la 8<sup>me</sup> session du Congrès périodique international des sciences médicales. Copenhague 1884.

sie uns die Möglichkeit bietet, in Fällen zweifelhafter Diagnose die durch Malaria bewirkten Krankheiten von denen zu unterscheiden, die aus anderen Ursachen hervorgehen. Aber freilich, über die wahre Natur des Malariaferments haben weder die Arbeiten Marchiafava's und Celli's, noch die späteren von Golgi unsere Kenntnisse erweitert. Sie behaupten, dass dieses Ferment aus einem thierischen Parasiten bestehe; aber sie geben dafür keinen anderen Beweis, als die amöboiden Bewegungen in der hyalinen Substanz, welche sich im Innern der rothen Blutkörperchen findet. Ich habe schon in meiner Mittheilung vom 4. April ausgesprochen, welchen Werth dieser einzige Beweis hat, angesichts so vieler Thatsachen, welche beweisen, dass das Protoplasma der rothen Blutkörperchen des Menschen, bevor es sich zersetzt, eine grosse, oft sehr grosse Beweglichkeit besitzt, in Folge von Angriffen sehr verschiedener Natur. Es wäre also wünschenswerth gewesen, dass die Autoren sich darauf beschränkt hätten, das Charakteristische der Veränderungen der rothen Blutkörperchen bei der Malariainfektion sorgfältig aufzuhellen, ohne der ätiologischen Frage vorzugreifen. Umso mehr, als die Unmöglichkeit, in der sie sich befanden, die Existenz ihres Plasmodiums in der freien Natur (d. h. in der Luft und der Erde von Malariagegenden) nachzuweisen, ihnen hätte Vorsicht einflössen und sie davon abhalten müssen, auf der Grundlage einer einzigen und so diskutirbaren Thatsache eine gänzliche Verwirrung der Lehre von den Infektionen anzurichten. In der That kennen wir bis jetzt keine einzige allgemeine progressive Infektion, weder bei Menschen noch bei Thieren, die von einem animalischen Parasiten herrührt, wohl aber viele, die von vegetabilischen Parasiten herrühren“.

## II.

Die Frage der Pathogenesis der Malaria befand sich in der letztgenannten Phase, als ich mich mit bakteriologischen Untersuchungen in der Umgebung von Pola beschäftigte. Das geschah in den letzten Monaten des Jahres 1885, wenige Monate, bevor Marchiafava und Celli ihre letzte Abhandlung geschrieben und Tommasi-Crudeli, Bezug nehmend auf meine Experimente, ihnen mit der Note antwortete, deren Inhalt ich eben mitgetheilt habe.

Bei der mikrophytischen Untersuchung einiger, mittelst der Koch'schen Apparate gesammelten Luftproben aus der Umgegend von Pola fand ich in ihnen Spaltpilze, welche ganz augenscheinlich den von Klebs und Tommasi-Crudeli in der römischen Campagna beobachteten Bacillen gleichen. Nachdem ich gefunden hatte, dass dieselben in denjenigen Localitäten von Pola vorherrschten, wo in der Regel die Malariafieber zu Hause sind, kam ich zu der Vermuthung, dass sie die pathogene Ursache der Fieber seien. Bei der Ungewissheit meiner Diagnose sandte ich einige mikroskopische Präparate an Tommasi-Crudeli nach Rom zur freundlichen Besichtigung. Unterm 14. März 1886 bestätigte der berühmte Gelehrte meine Annahme und ermuthigte mich zur eifrigen Fortsetzung der Untersuchungen. In

der darauf folgenden zweiten Sitzung der Accademia de' Lincei vom 4. April<sup>1)</sup> legte derselbe der Akademie zehn meiner mikroskopischen Präparate mit Reinculturen des in der Luft der malarischen Umgegend von Pola gefundenen Bacillus vor und konstatarie, dass diese Präparate ausschliesslich die typischen Formen des Malariabacillus im Zustande der Reife enthalten, wie Klebs und Tommasi Crudeli sie auf Tafel II. ihrer Abhandlung vom 1. Juni 1879 der Akademie vorgelegt hatten.

Um jedoch die Identität unseres Bacillus mit dem von Klebs und Tommasi-Crudeli in der Umgegend von Rom gefundenen entscheidend darzuthun, musste vorher seine pathogene Wirkung nachgewiesen werden. Tommasi-Crudeli forderte mich auf, diesen Beweis zu versuchen und rieth mir, unter den für das Malariaferment empfänglichen Thieren die zahmen Kaninchen auszuwählen, um nicht bei wilden Kaninchen auf das Hinderniss einer erworbenen Widerstandsfähigkeit zu stossen, dank der von der Malaria selbst bei diesen Thieren im Laufe vieler Generationen bewirkten Auswahl. Er rieth mir ferner, den Männchen den Vorzug zu geben, um zu vermeiden, dass die Resultate der Experimente durch den Einfluss von Schwangerschaft, Geburten oder Säugezeit verwirrt würden; auch sollte ich womöglich weisse, weil empfindlicher, wählen. Dann fuhr er etwa so fort<sup>2)</sup>:

„Wenn diese Experimente positive Resultate ergeben sollten, wenn es gelänge, mittelst des Spaltpilzes, den Sie beobachtet, Fieber zu erzeugen, welche alle klinischen und anatomischen Merkmale des Malariafiebers an sich tragen, dann würde man die aetiologische Frage als gelöst betrachten können. In der That ist es unmöglich, reinere Culturen zu erzielen, als Sie zu züchten verstanden. — Vielleicht sind Sie bestimmt, das letzte Wort in der grossen aetiologischen Frage zu sprechen. Wenn Sie viele Reinculturen des Bacillus aufstellen, und sehr empfängliche Thiere impfen, so ist es wahrscheinlich, dass Sie dazu gelangen werden, den uns noch fehlenden endgiltigen Beweis zu liefern.“

Angesichts dessen befand ich mich vor einem grossen Dilemma. Ich musste entweder in meinen Untersuchungen bis auf den Grund vorgehen, oder, wie man sagt, mit Waffen und Gepäck desertiren. Ich zog es vor vorwärts zu gehen. Aber ausserordentliche Schwierigkeiten stellten sich mir in den Weg, wie sie nur ein vielbeschäftigter Arzt in einer kleinen Provinzialstadt zu ermassen vermag. Ich musste unter den grössten Opfern mir ein Mikroskop mit Immersionssystem und Beleuchtungsapparat anschaffen, musste weisse Kaninchen unterhalten und sorgfältig überwachen; ich musste für eine genaue Stundenvertheilung zu den thermometrischen Beobachtungen sorgen, zugleich mir einen Assistenten verschaffen, der mich in den Stunden, in denen ich beruflich beschäftigt war, vertreten konnte. Dies alles schwebte mir

<sup>1)</sup> Sopra un bacillo trovato nelle atmosfere malariche dei dintorni di Pola (Istria) — Rendiconti dell' Accademia dei Lincei, 1886.

<sup>2)</sup> l. c.

einige Zeit hindurch wie ein Gespenst vor den Augen — ein Gespenst, das ich dadurch verscheuchte, dass ich mich sofort an die Arbeit machte.

Der von mir aufgestellte Untersuchungsplan war folgender: Nachdem ich die Kaninchen mit Reinculturen des Malariabacillus geimpft hatte, musste ich Stunde für Stunde die Temperaturen im Rectum ermitteln, diese in einer thermographischen Kurve zusammenstellen und die Grade in eine Tabelle eintragen. Ich musste sodann nach der Methode Marchiafavas und Cellis das Blut meiner Thiere untersuchen, und nach der Methode Tommasi-Crudelis, Cubonis und Marchiafavas die Cultur desselben versuchen. Ferner musste ich genaue Rechnung führen über die Ausdehnung der Milz, ich musste ihren Inhalt und den der Lymphdrüsen mikroskopisch untersuchen. Von dem Gesichtspunkte ausgehend, dass die Plasmodien in den rothen Blutkörperchen keine animalischen Parasiten, sondern einfach Veränderungen in den Blutkörperchen infolge der pathogenen Wirkung des Malariabacillus seien, hoffte ich, auch bei meinen Thieren diese Plasmodien zu finden, wie ich auch hoffte, in den Culturen ihres Blutes die Malariabacillen zu erhalten, in dem nicht gezüchteten Blute dagegen die Sporen dieses Bacillus. Im Falle, dass alles dieses sich bewahrheitete, dass ich thermographische Kurven erhielt, welche für das Malariafieber charakteristisch sind und dass die Thiere ausserdem noch erhebliche Ernährungsstörungen und Vergrößerung der Milz zeigten, so würde ich meine Absicht erreicht und die wirkliche Ursache der Endemie nachgewiesen haben. Nachdem ich mir so den Arbeitsplan aufgestellt hatte, unternahm ich bald die Untersuchungen.

Ich wählte 3 Kaninchen. Zwei waren Albinos; sie hatten also rothe Augen und waren weiss bis auf einige Flecken des Felles und die aschfarbenen Ohren; das dritte war schwarzgelb und wurde als Vergleichsthier in Reserve gestellt. Ich machte bei den beiden ersten subcutane Einspritzungen mit einer Pravaz'schen Spritze aus einer Reincultur von Malariabacillus in Fischleimgelatine und mass die Temperaturveränderungen, indem ich das Thermometer in den Mastdarm einführte. Die Reincultur stammte von Bacillen der Luft auf dem Hügel S. Michele bei Pola. Es folgt die Tabelle der erhaltenen Temperaturen; vergleiche hierzu die Temperaturkurven I auf Seite 259.

#### Kaninchen No. I. (schwarze Ohren).

Tag.	Stde.	Temper.	Tag.	Stde.	Temper.	Tag.	Stde.	Temper.	Bemerkungen.
7. Sept.	11½ v.	39,70	9. Sept.	7 v.	39,80	10. Sept.	5 n.	40,10	Am 7. September Einspritzung von 1 CCm <sup>9</sup> einer Reincultur des Malariabacillus vom Hügel S. Michele. 22. 9. Gangraen an der Impfstelle.
"	3 n.	40,25	"	10½ v.	40,10	"	8 n.	40,10	
"	6,30 n.	40,95	"	12¼ m.	40,05	11. Sept.	7 v.	39,90	
"	8,39 n.	41,00	"	3¼ n.	40,40	"	10½ v.	40,10	
"	10,50 n.	40,90	"	5 n.	40,40	"	3 n.	40,27	
8. Sept.	7 v.	40,45	"	8 n.	40,30	"	5 n.	40,30	
"	12 n.	40,30	"	11½ n.	40,00	"	8½ n.	40,10	
"	2½ n.	40,70	10. Sept.	7 v.	40,00	12. Sept.	7 v.	39,70	
"	5 n.	40,70	"	10½ v.	39,90	"	2 n.	40,05	
"	7½ n.	40,50	"	12¼ m.	40,05	"	5 n.	40,00	
"	10,55 n.	40,25	"	3 n.	40,10	geschlossen.			

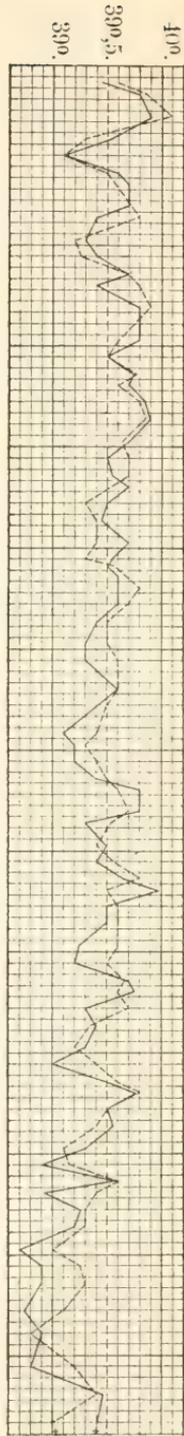
## Kaninchen No. II. (helle Ohren).

Tag.	Stde.	Temper.	Tag.	Stde.	Temper.	Tag.	Stde.	Temper.	Bemerkungen.
16. Sept.	12 m.	39,55	20. Sept.	2 n.	40,30	24. Sept.	10 $\frac{1}{4}$ v.	39,80	Am 16. September Einspritzung von 1CCm <sup>o</sup> Reincultur. — Am 18. 9. ein Abscess an der Impfstelle gefunden. Im käsigem Eiter viele sehr entwickelte Malaria-bacillen und viele Sporen, ferner 2 Fäden eines Schimmelpilzes. — Am 20. 9. eine zweite Injection mit 3 CCm <sup>o</sup> Reincultur. 22. 9. Gangraen an der Impfstelle.
"	3 n.	39,35	"	4 n.	41,00	"	12 m.	40,00	
"	8 $\frac{3}{4}$ n.	40,20	"	6 $\frac{1}{4}$ n.	41,10	"	3 $\frac{1}{2}$ n.	40,00	
17. Sept.	7 $\frac{1}{2}$ v.	39,90	"	8 $\frac{3}{8}$ n.	41,40	"	7 n.	40,00	
"	10 v.	40,05	21. Sept.	7 v.	40,40	25. Sept.	7 v.	39,45	
"	1 $\frac{3}{4}$ n.	40,25	"	10 $\frac{1}{4}$ v.	40,45	"	12 m.	39,75	
"	4 n.	40,10	"	12 m.	40,55	"	2 n.	40,00	
"	6 $\frac{1}{4}$ n.	40,20	"	2 n.	40,40	"	7 $\frac{1}{2}$ n.	39,60	
"	9 n.	40,05	"	4 n.	40,30	26. Sept.	7 v.	39,30	
18. Sept.	7 $\frac{1}{2}$ v.	39,30	"	7 $\frac{3}{4}$ n.	40,40	"	1 $\frac{1}{2}$ n.	39,60	
"	10 v.	39,35	22. Sept.	7 v.	39,90	"	4 n.	39,85	
"	12 m.	39,40	"	10 v.	39,70	"	7 $\frac{3}{8}$ n.	39,70	
"	2 n.	39,70	"	12 m.	40,00	27. Sept.	7 v.	39,40	
"	4 n.	39,70	"	2 n.	40,10	"	12 m.	39,60	
"	6 $\frac{1}{4}$ n.	39,75	"	4 n.	40,00	"	4 n.	39,85	
"	8 $\frac{1}{2}$ n.	39,50	"	8 n.	40,10	"	7 n.	39,50	
19. Sept.	7 $\frac{1}{2}$ v.	39,30	23. Sept.	7 v.	39,50	28. Sept.	7 v.	39,35	
"	12 m.	39,40	"	10 v.	39,90	"	12 m.	39,40	
"	4 n.	39,80	"	12 m.	39,80	"	4 n.	39,50	
"	8 $\frac{3}{8}$ n.	39,40	"	3 n.	39,80	"	8 n.	39,50	
Zweite Injection.			"	7 $\frac{1}{2}$ n.	39,70	29. Sept.	7 v.	39,20	
20. Sept.	12 m.	39,30	24. Sept.	7 $\frac{1}{4}$ v.	39,45	geschlossen.			

Bei beiden Versuchsthieren wurde ein Steigen der Temperatur von  $\frac{3}{4}$  bis zu  $1\frac{1}{2}$  Grad einige Stunden nach der Einspritzung beobachtet und diese Steigerung dauerte fort, indem sie immer um einige Zehntelgrade sich verminderte und an jedem Tage regelmässige Remissionen zeigte. Der Typus des Fiebers jedoch war nicht vorwiegend tertian, sondern vielmehr quotidian. Ueberdies wurde das Experiment durch die Entwicklung von Abscessen an der Injectionsstelle getrübt. Infolge dessen wurden die Thiere, nachdem sie sich von den störenden Folgen dieses Zwischenfalls erholt, ungefähr einen Monat lang, d. h. bis zum 1. November, in Ruhe gelassen, wo die Experimente wieder aufgenommen wurden.

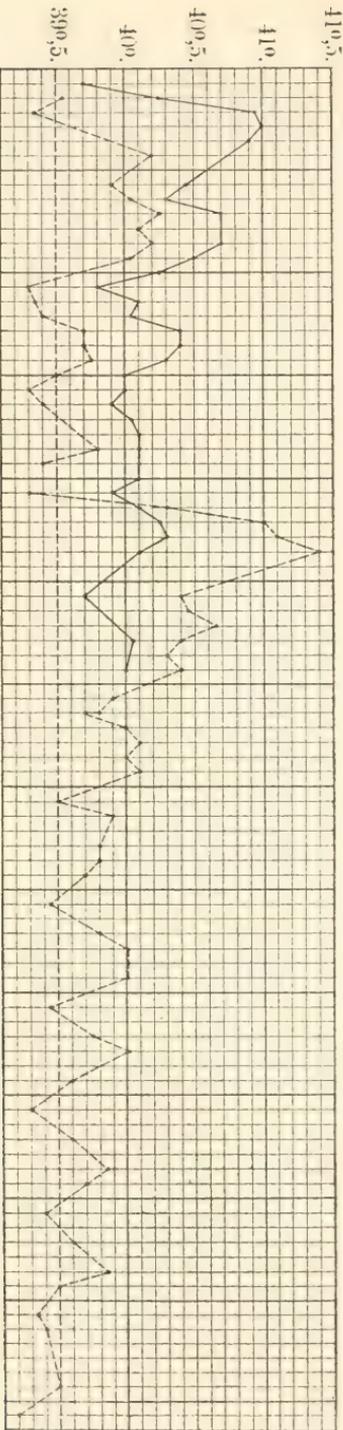
Am 8. September wurde das Blut nach vorheriger Färbung mit Anilin untersucht. Es fand sich keinerlei Veränderung in den rothen Blutkörperchen, während das Blutserum einige Malariabacillen enthielt. In etwas Eiter aus einem der Abscesse, der sich am 18. September geöffnet hatte, fanden sich viele Malariabacillen und viele Sporen. Von diesem Eiter wurde eine kleine Flocke auf einen Tropfen flüssiger Nährgelatine in eine mikroskopische Luftkammer übertragen und mit Kanadabalsam luftdicht verschlossen. Nach 24 Stunden sah ich unter einer homogenen Immersion  $1\frac{1}{5}$ , dass darin viele lebhaft bewegte Malariabacillen gewachsen waren. Am 23. September wurde dem zweiten Kaninchen etwas Blut entnommen, als das Thermometer  $39,8^{\circ}$  C. im Mastdarm zeigte. Als ich einen Tropfen in die Kammer des Mikroskops brachte, zeigte sich, dass zugleich mit den rothen Blutkörperchen im Serum sich einige äusserst kleine Bacillen und runde Körnchen, wie sie Tafel IX. Fig. 6 a und b darstellt, herumbewegten. Ausser den normalen Blutkörperchen fand ich auch missgestaltete, wie wenn sie einen Theil ihres Inhalts verloren hätten (Fig. 6c) und einige, deren centraler Inhalt mehr umgrenzt und glänzender war.

**Ausgezogene Curve** — **Kaninchen No. 1** (schwarze Ohren); **gebrochene Curve** - - - - **Kaninchen No. 2** (helle Ohren).



Curve I.

Die Ordinaten entsprechen den Beobachtungs-Stunden, die stärkeren den Tagen des Experiments, bei Curve I, Kaninchen 1, mit dem 7. Sept. beginnend und mit dem 12. Sept. schliessend; Kaninchen 2, erste Injection, mit dem 16. Sept. beginnend und mit dem 19. Sept. schliessend; zweite Injection 20. Sept. beginnend und 29. Sept. schliessend. Bei Curve II, beide Kaninchen, mit dem 1. November beginnend und mit dem 14. November, wo die Versuchsthiere getödtet wurden, schliessend. Die Abszissen entsprechen Zehnein von Celsiusgraden. Vergleiche die Temperaturzeichnungen auf Seite 257, 258 und 260, 261.



Curve II.

Erste Injection beider Kaninchen 7. Sept.

Zweite Injection des Kaninchen 2 20. Sept.

Untersuchte ich nun das Blut nach der Färbung mit Methylenblau, so fanden sich Blutkörperchen, welche im Innern mehr oder weniger grosse, glänzende blaue Scheibchen, (Fig. 6 d) enthielten. In einem nach derselben Methode hergestellten Präparat beobachtete ich an den Blutkörperchen die seltsamsten Formen (Figur 6e), woraus hervorgeht, dass aus dem Protoplasma des Blutkörperchens eine gesonderte Masse herauszutreten scheint, und indem sie bald die Gestalt einer Scheibe, bald die eines Bisquits annimmt, die Körperchen in jeder Weise entstellt. Diese Figuren entsprechen den früher von Marchiafava und Celli beschriebenen, welche dieselben als charakteristische Merkmale der Malariafieber betrachten.

Am 1. November, nachdem meine Kaninchen sich vollkommen erholt und ausserdem an Umfang zugenommen hatten, machte ich ihnen aufs neue eine subcutane Einspritzung der Reincultur von Malariabacillus, den ich in der Luft über dem Prato grande, dem antiken *campus Martius* von Pola, gesammelt hatte. Dieses Experiment wurde auch nicht durch den geringsten Unfall gestört, dauerte 14 Tage und ergab die besten Resultate. In Betreff der thermographischen Darstellung vergleiche die Curven II auf Seite 259, während unten die aufgezeichneten Temperaturen folgen.

### 1. Kaninchen (helle Ohren).

Tag.	Stde.	Temper.	Tag.	Stde.	Temper.	Tag.	Stde.	Temper.	Bemerkungen.
1. Nov.	12 m.	39,45	5. Nov.	10½ n.	39,70	10. Nov.	12 m.	39,75	Am 1. November Mittag 12 Uhr Einspritzung von 2 C.m.einer Rein- cultur von Mala- riabacillus vom Camp. Marz. ge- macht.  Am 11. Nachmit- tags 3 Uhr zer- brach das Ther- mometer und wurde durch ein anderes ersetzt.
"	2½ n.	39,80	6. Nov.	7 v.	39,55	"	3 n.	39,30	
"	6¼ n.	39,90	"	10¼ v.	39,50	"	6¼ n.	39,40	
"	10½ n.	39,52	"	12½ m.	39,60	"	10 n.	39,30	
2. Nov.	7 v.	39,10	"	3 n.	39,60	11. Nov.	7 v.	39,00	
"	9¾ v.	39,60	"	6¼ n.	39,40	"	10 v.	39,50	
"	12 m.	39,70	"	11 n.	39,30	"	12 m.	39,75	
"	6½ n.	39,40	7. Nov.	7½ v.	39,30	"	3 n.	39,50	
"	10¾ n.	39,30	"	12½ m.	39,60	"	6 n.	39,55	
3. Nov.	7 v.	39,40	"	3 n.	39,40	"	11 n.	39,30	
"	10¼ v.	39,70	"	8 n.	39,10	12. Nov.	7 v.	38,90	
"	12¼ m.	39,40	"	10 n.	39,20	"	10 v.	39,55	
"	3¾ n.	39,80	8. Nov.	7 v.	39,20	"	12 m.	38,90	
"	6½ n.	39,80	"	10 v.	39,40	"	3 n.	39,25	
"	10¼ n.	39,80	"	12 m.	39,80	"	6½ n.	39,20	
4. Nov.	7 v.	39,50	"	3½ n.	39,80	"	10 n.	38,70	
"	10 v.	39,75	"	6½ n.	39,30	13. Nov.	7 v.	38,90	
"	12¼ m.	39,70	"	9¾ n.	39,50	"	10½ v.	38,90	
"	3 n.	39,85	9. Nov.	7 v.	39,40	"	3 n.	38,75	
"	6½ n.	39,90	"	9¾ v.	39,65	"	6 n.	38,90	
"	10¼ n.	39,70	"	12½ m.	39,97	14. Nov.	7 v.	38,80	
5. Nov.	7 v.	39,50	"	3 n.	39,50	"	12 m.	39,45	
"	10¼ v.	39,55	"	6½ n.	39,50	"	5½ n.	39,40	
"	12¼ m.	39,70	"	10 n.	39,25	Abgeschlossen mit dem Tode des Kaninchens durch Verblutung.			
"	3 n.	39,50	10. Nov.	7 v.	39,20				
"	6½ n.	39,45	"	10 v.	39,70				

## 2. Kaninchen (schwarze Ohren).

Tag.	Stde.	Temper.	Tag.	Stde.	Temper.	Tag.	Stde.	Temper.	Bemerkungen.
1. Nov.	12 m.	30,60	5. Nov.	6 $\frac{1}{2}$ n.	39,40	10. Nov.	10 v.	39,69	Am 1. November Einspritzung wie bei No. I.
"	2 $\frac{1}{2}$ n.	39,85	"	10 $\frac{1}{2}$ n.	39,40	"	12 m.	39,60	
"	6 $\frac{1}{2}$ n.	40,10	6. Nov.	7 v.	39,30	"	3 n.	39,70	
"	10 $\frac{1}{2}$ n.	39,30	"	10 $\frac{1}{2}$ v.	39,55	"	6 n.	39,37	
2. Nov.	7 v.	39,10	"	12 $\frac{1}{2}$ m.	39,80	"	10 n.	39,37	
"	9 $\frac{3}{4}$ v.	39,50	"	3 n.	39,70	11. Nov.	7 v.	39,40	
"	12 n.	39,55	"	6 $\frac{1}{4}$ n.	39,50	"	10 v.	39,60	
"	3 n.	39,70	"	11 n.	39,50	"	12 m.	39,80	
"	6 $\frac{1}{2}$ n.	39,80	7. Nov.	7 v.	39,60	"	3 n.	39,50	
"	10 $\frac{3}{4}$ n.	39,20	"	12 $\frac{1}{2}$ m.	39,60	"	6 n.	39,40	
3. Nov.	7 v.	39,25	"	3 n.	39,50	"	11 n.	39,10	
"	10 $\frac{1}{2}$ v.	39,70	"	8 n.	39,40	12. Nov.	7 v.	39,15	
"	12 $\frac{1}{2}$ m.	39,80	"	10 n.	39,30	"	10 v.	39,60	
"	3 $\frac{3}{4}$ n.	39,90	8. Nov.	7 v.	39,40	"	12 m.	39,40	
"	6 $\frac{1}{2}$ n.	39,80	"	10 v.	39,50	"	3 n.	39,25	
"	10 $\frac{1}{4}$ n.	39,60	"	12 m.	39,60	"	6 $\frac{1}{2}$ n.	39,20	
4. Nov.	7 v.	39,50	"	3 $\frac{1}{2}$ n.	39,70	"	10 n.	38,70	
"	10 v.	39,78	"	6 $\frac{1}{2}$ n.	39,55	13. Nov.	7 v.	38,90	
"	12 $\frac{1}{2}$ m.	39,60	"	9 $\frac{3}{4}$ n.	39,40	"	10 $\frac{1}{2}$ v.	38,90	
"	3 n.	39,80	9. Nov.	7 v.	39,55	"	3 n.	38,75	
"	6 $\frac{1}{2}$ n.	39,85	"	9 $\frac{3}{4}$ v.	39,80	"	6 n.	38,90	
"	10 $\frac{1}{2}$ n.	39,65	"	12 $\frac{1}{2}$ m.	39,50	14. Nov.	7 v.	38,80	
5. Nov.	7 v.	39,70	"	3 n.	39,60	"	12 m.	39,45	
"	10 $\frac{1}{4}$ v.	39,70	"	6 $\frac{1}{2}$ n.	39,60	"	5 $\frac{3}{4}$ n.	39,40	
"	12 $\frac{1}{2}$ m.	39,50	"	10 n.	39,60	Das Kaninchen verendet an Verblutung.		Am 11. Nachmit- tags 3 Uhr zerbrach das Thermometer und wurde durch ein anderes ersetzt.	
"	3 n.	39,30	10. Nov.	7 v.	39,50				

Das erste Kaninchen zeigte in den ersten Tagen eine ziemlich unregelmässige thermographische Kurve, bald im quotidianen Typus, mit höheren Temperatur-Erhebungen, bald am vierten, bald am fünften Tage, zuweilen mit tertianem Anfall. Das zweite hingegen hatte fortwährend ein regelmässiges Tertianfieber, zuweilen jedoch von zwei Quotidianen unterbrochen. Bei beiden aber wurden die Anfälle mit dem Vorrücken der Beobachtungstage ausgeprägter, zugleich verringerte sich ihr Gewicht in bemerkenswerther Weise bis zu einer Abnahme von 150 Gr. Am 14. November wurden sie durch Verblutung getötet, in einem Moment wo das Fieber wiederkehrte. Bei der Untersuchung ihres Blutes und nach Behandlung desselben mit Methylen-Blau ergab sich, dass die rothen Blutkörperchen in geringerem Grade die beim ersten Experimente bemerkten Veränderungen aufwiesen; nur hier und da fanden sich einzelne im Innern blau gefärbte und einige missgestaltete Blutkörperchen. Im Blutplasma dagegen fanden sich eine Menge blaugefärbte Körnchen, einige, jedoch ziemlich seltene Stäbchen des Malariabacillus und viele weisse, vollständig blau gefärbte Blutkörperchen, welche dunkles, fast schwarzes Pigment enthielten (Fig. 6).

Um die Natur jener Körnchen im Plasma zu ermitteln, züchtete ich das Blut in mikroskopischen Kammern, die vorher sterilisiert waren, und sah nach 24 Stunden dasselbe von Bacillen wimmeln, die durch Färbung mit Fuchsin sich als wirkliche Malariabacillen erwiesen. Es ging klar daraus hervor, dass die Körnchen nichts anderes waren, als die Sporen des Malariabacillus.

Bei der Untersuchung der Milz und der Vergleichung ihres Gewichts und ihrer Dimensionen ergab sich, dass die eine von grösseren, die andere von kleineren Dimensionen als die von gesunden Kaninchen war, ein Umstand, der im letzten Falle von der geringeren Körpermasse des Kaninchens abhing, da dies etwa 200 Gramm weniger wog als die beiden anderen. Als ich den Milzsaft unter das Mikroskop brachte, fand ich in demselben ausser den normalen Elementen auch dieselben Körnchen, wie im Blutplasma. Züchtete ich ein wenig von diesem Saft in der vorher sterilisirten Gelatine, so erzeugte derselbe eine enorme Entwicklung von Malariabacillen.

Denselben Erfolg, obwohl nicht so ausgeprägt, erreichte ich mit dem Saft der abdominalen Lymphdrüsen.

Aus allem diesem erhellte klar, dass der Malariabacillus sich in allen blutbildenden Organen des Kaninchens fortgepflanzt und in denselben nicht nur die Ernährungsstörungen hervorgerufen hatte, welche das Thermometer als für die Malariainfektion charakteristisch anzeigt, sondern auch innerhalb der rothen Blutkügelchen die Entwicklung jener Veränderungen veranlasst hatte, welche Marchiafava und Celli unter dem Namen „*Plasmodium malariae*“ als animalischen Parasiten und als Ursache der Malaria bezeichneten.

Charakteristisch ist das Vorkommen der Körnchen im Blutplasma, in den Säften der Milz und der Lymphdrüsen, eine Beobachtung, welche vollständig mit der von Cuboni und Marchiafava übereinstimmt, welche dieselben Körperchen nicht nur in den geimpften Thieren, sondern auch in den vom Malariafiebern befallenen Patienten gefunden hatten. Es ist bis zur Evidenz erwiesen, dass dieselben im einen, wie im andern Falle nichts anderes waren als die Sporen des Malariabacillus, die im Blutplasma des lebenden Organismus sich nur spärlich zu Stäbchen entwickeln, nichtsdestoweniger aber die charakteristischen Veränderungen der Malaria hervorrufen, und die in Culturen des Plasma oder der dasselbe enthaltenden Säfte die allerreichlichste Produktion von Malariabacillen ergeben.

Professor Tommasi-Crudeli, dem ich diese meine Beobachtungen mittheilte, bestätigte meine Schlussfolgerungen und sprach sich in der Sitzung vom 8. December 1886 in der Akademie dei Lincei darüber folgendermaassen aus:

„Indem Dr. Schiavuzzi den Apparat von Koch zur mikrophytischen Untersuchung der Luft anwendete, oder einfach die Luft durch ein Probegläschen mit 5 Kubikeentimeter sterilisirter Nährgelatine gehen liess, konnte er sich von der beständigen Anwesenheit des *Bacillus Malariae* in der Atmosphäre aller von ihm erforschten Malariagegenden überzeugen, während er ihn niemals in der Atmosphäre gesunder Gegenden gefunden hat. Er fand ihn auch niemals in den Gewässern des Gebiets von Pola mit Ausnahme der Abzugsgräben zweier notorisch von Malaria infizirter Oertlichkeiten. Dieser Spaltpilz ist aërobisch und entwickelt sich an der Oberfläche der Nährgelatine in Form eines weissen, wenig verflüssigenden und zuweilen ziemlich widerstandsfähigen Belags, wie Sie in diesem Probegläschen sehen können, wo derselbe in Agar-Agar zur Entwicklung gebracht ist. Dr. Schiavuzzi

schickte gleichzeitig ein zweites Probegläschen mit sterilisirter Fischleimgelatine, auf die er eine Reincultur des Bacillus übertragen, und die er nach Gefallen zur Entwicklung bringt, indem er sie 24 Stunden hindurch in einer Temperatur von 35° C. hält. In den Präparaten No. I und II werden Sie die absolute Reinheit dieser Culturen bestätigen können, welche die von Klebs und mir als charakteristisch für das Malariaferment angegebenen Bacillen enthalten.“

„Indem Dr. Schiavuzzi diese Reinculturen auf zwei weisse Kaninchen überimpfte, konnte er bei ihnen intermittirende Fieber von tertianem und quotidianem Typus erzeugen, wie die von ihm auf zwei Tabellen eingezeichneten Temperaturkurven nachweisen. Keines dieser Fieber hatte perniciosen Charakter. Aber dessenungeachtet brachten sie eine Vergrößerung des Volumens der Milz und die Bildung des für die Malariainfektion charakteristischen schwarzen Pigments hervor, welches sich in der Milz (Präparat No. III) und auch in den abdominalen Lymphdrüsen (Präparat No. IV) fand. Ferner wurden in den rothen Blutkörperchen, besonders bei dem einen der geimpften Kaninchen, einige der hauptsächlichsten Veränderungen beobachtet, die gegenwärtig nach den Arbeiten Marchiafavas und Cellis als ein pathognomisches Zeichen der Malariainfektion betrachtet werden. Die Zeichnungen des Dr. Schiavuzzi lassen darüber keinen Zweifel: die von ihm eingesandten Figuren entsprechen genau denen Marchiafavas und Cellis in ihrer letzten Arbeit und ganz besonders der Figur 28, in welcher die durchsichtige Masse, die sich im Protoplasma der rothen Blutkörperchen gebildet hat, im Begriff ist, herauszutreten.“

„Im Blute der Versuchsthiere, in ihrem Milzfleisch und sogar in den abdominalen Lymphdrüsen fand Dr. Schiavuzzi zahlreiche runde Körnchen von dunklen Umrissen, von denen er vermuthete, dass sie die Sporen des Bacillus seien, mittelst dessen er die Malariainfektion erzeugt hatte. Um sich darüber zu vergewissern, machte er eine Reihe von Culturen, die zu wichtigen und entscheidenden Resultaten geführt haben. Von dem Blute, das in einer sterilisirten, hermetisch verschlossenen mikroskopischen Luftkammer sich selbst überlassen wurde, sowie auch von Stückchen der Milz oder den abdominalen Lymphdrüsen, die in Probegläschen mit ca. 150° C. sterilisirter Gelatine gebracht waren, erhielt derselbe stets Vegetationen eines Bacillus, der identisch war mit dem, durch welchen die Impfung geschehen war. Die Präparate No. V, VI und VII zeigen Ihnen denselben. Die Bacillenvegetation war in ihrer Beschaffenheit ganz und gar dieselbe: und die Vergleichung der Bacillen, die sich in diesen drei Präparaten entwickelten, mit den in der Malariaatmosphäre gesammelten (Präparat No. I und II) stellt ihre völlige morphologische Identität ausser Zweifel. Sie werden ferner sehen, dass die Färbung mit Fuchsin bei beiden in gleicher Weise gut gelungen ist. Doch in Bezug auf die Menge ist die Bacillenvegetation nicht völlig dieselbe. Sie war immer spärlich in den Lymphdrüsen-culturen (Präp. No. V), häufig in den Culturen des Blutes (Präp. No. VI), am häufigsten in denen der Milz (Präp. No. VII).“

„Hiernach ist es Dr. Schiavuzzi gelungen zu beweisen:

1. Die beständige Anwesenheit eines Bacillus, der morphologisch mit dem von Klebs und mir unter dem Namen *Bacillus malariae* beschriebenen identisch ist, in der Malariaatmosphäre von Pola und sein Fehlen in von Malaria nicht infizirten Oertlichkeiten.

2. Dass die Reinculturen dieses Bacillus, auf Kaninchen übertragen, Fieber hervorbrachten, welche alle charakteristischen Merkmale (die anatomischen und klinischen) der Malariafieber besitzen.

3. Dass, wenn man das Blut, die Milz und die abdominalen Lymphdrüsen der fiebernden Kaninchen in Verhältnisse bringt, die der Entwicklung dieses Spaltpilzes günstig sind, man eine mehr oder weniger reichliche, in einigen Fällen sehr reichliche Vegetation eines Bacillus erzielt, der morphologisch mit demjenigen identisch ist, der die Ansteckung hervorruft.

4. Dass bei den durch ganz reine Culturen dieses Bacillus geimpften Thieren die rothen Blutkörperchen jene Veränderungen erleiden, welche Marchiafava und Celli als charakteristische Merkmale der Malariainfektion beschrieben haben. Dies dient zur Bestätigung dessen, was ich in meiner letzten Mittheilung an die Akademie (in der Sitzung vom 2. Mai 1886) sagte, nämlich: dass diese Veränderungen der Blutkörperchen nicht der Entwicklung eines animalischen Parasiten in denselben zu verdanken sind (den überdies niemand, weder in der Luft, noch in den Malariagegenden gefunden hat); sondern dass sie im Gegentheil der Effect einer Degeneration der rothen Blutkörperchen sind, welche direct oder indirect der Einwirkung eines krankheitszeugenden Ferments von ganz anderer Beschaffenheit zuzuschreiben ist.“

„Alles dies, im Verein mit obigen Thatsachen, hat Dr. Schiavuzzi veranlasst, anzunehmen, dass der von Klebs und mir im Jahre 1879 beschriebene Malariabacillus in Wahrheit die Ursache der Malaria sei.“ In dem Briefe ferner, den Tommasi-Crudeli unterm 5. December an mich richtete, schrieb er:

„. . . . . Ich habe die sieben Präparate, nachdem ich sie gezeigt, der Akademie zur Aufbewahrung überlassen, weil ich glaube, und mit mir glauben es die competentesten Mitglieder der Akademie, dass Sie die Frage gelöst haben. Alle erkennen an, dass, nach sieben Jahren verschiedener und auseinandergehender Meinungen und seltsamer Widersprüche auf Seiten von Männern, denen grosse Mittel zu Gebote standen, Ihnen das grosse Verdienst gebührt, den richtigen Weg gefunden und ihm mit so grosser methodischer Sicherheit fast bis zum Ende durchlaufen zu haben.“

Die Akademie dei Lincei in Rom hat also meine Vermuthungen bestätigt und glaubt durch mich den Beweis erbracht, dass die alleinige Ursache der Malaria der *Bacillus Malariae* ist, welchen Klebs und Tommasi-Crudeli im Jahre 1879 in der römischen Campagna und später auf Sicilien beim Gorgo Cottone, dem alten Hafen von Selinus<sup>1)</sup>, gefunden haben.

1) Il *Bacillus malariae* nelle terre di Selinonte e di Campobella. — Nota del Socio Corrado Tommaso-Crudeli: Reale Accademia dei Lincei. — Sitzung vom 7. März 1880.

## III.

## Methode der Untersuchung von Luft und Wasser.

Die Untersuchung der Luft wurde folgendermaassen ausgeführt: Ich präparirte Gallerte aus Fischleim (Hausenblase) genügend dicht, welcher ich ein wenig Liebigs Fleischextract hinzufügte; dieselbe wurde durch Natriumkarbonat neutralisirt und durch einen von warmem Wasser umgebenen Trichter filtrirt. Diese Gallerte wurde sodann in Probirgläschen vertheilt, so dass jedes derselben etwa 10 Cem. enthielt; die Gläschen wurden mit Bruns'scher Watte verschlossen und in einem Brütofen einer Hitze bis zu 150° ausgesetzt. Um die Keime der Luft zu sammeln, benutzte ich den Apparat von Koch, bestehend aus einem Glasgefäss, in welches mittelst eines gebogenen Messingstreifen eine kleine Glasschale eingesetzt wurde. Vor der Benutzung wurden diese Gefässe mit einem dichten Wattepfropfen verschlossen und bei 150° im Ofen sterilisirt. Gleichzeitig wurden eben so viele mit Watte verschlossene Gefässe sterilisirt, um später die Pfröpfe der Koch'schen Apparate aufzunehmen. Auf dem Untersuchungsorte wurde der Pfropfen aus dem Apparate gezogen und dieser in das zu seiner Aufnahme bestimmte Gefäss gebracht, welches alsdann mit einem andren Pfropfen verschlossen wurde. Darauf wurde die Glasschale herausgenommen und die durch die Wärme einer Spirituslampe verflüssigte Gallerte hineingegossen, alsdann die Schale in den Apparat zurückgebracht, dieser am Untersuchungsort aufgestellt und 24 Stunden daselbst belassen. Nach Verlauf dieser Zeit wurde der Pfropfen aus dem zu seiner Aufnahme dienenden Gefässe herausgenommen, mit ihm der Apparat verschlossen und sodann dieser in den Vegetationsapparat (Brütofen) gestellt, wo er 48 Stunden einer gleichmässigen Temperatur von 35° C. überlassen blieb. Die Vegetation auf der Gallert ergab auf diese Weise die Keime der Luft.

Im Spätsommer vereinfachte ich die Methode bedeutend, um die wenigen Stunden, die mir am Tage übrig blieben, besser auszunutzen. Ich nahm ein Probirgläschen mit etwa 5 cem. sterilisirter Gallert und liess am Orte des Versuchs etwa 500 Cem Luft durch dieselbe hindurchgehen. Um letzteres zu bewerkstelligen, bediente ich mich eines Kautschukballons von 150 Cem Inhalt, an welchen ein Glasrohr mit Kapillar-Spitze befestigt wurde. An Ort und Stelle angekommen, entfernte ich zuerst die im Ballon enthaltene Luft, pumpte darauf viermal je 150 Cem Luft des Ortes ein und liess sie langsam durch die Gallert gehen. Brachte ich diese bei einer Temperatur von 35° in den Vegetationsapparat, so erhielt ich die Cultur der Luftkeime, welche meist ausschliesslich aus Malariabacillen bestanden.

Das zu untersuchende Wasser wurde in Flaschen gesammelt, welche bei 150° sterilisirt und, nachdem die Verdünnung der darin befindlichen Luft eingetreten, mit einem Korkstöpsel hermetisch verschlossen waren. An Ort und Stelle wurde die Flasche ins Wasser gesenkt, darauf der Stöpsel unter Wasser

herausgezogen, so dass ein Eindringen der äussern Luft verhindert war. Von diesem Wasser wurden genau 1 Cem in ein Probegläschen mit 10 Cem sterilisirter Gallerte gegossen und bei einer Temperatur von 35° zum Vegetiren gebracht. Die Vegetation auf der Gallerte ergab die Keime im Wasser.

#### IV.

#### Ausgeführte Untersuchungen.

Bei der Wahl der verschiedenen Oertlichkeiten ging ich von dem Gedanken aus, durch dieselbe den mikrophytischen Inhalt der gesammten, über dem Gebiet von Pola lagernden oberflächlichen Luftschicht zu bestimmen, weshalb ich die Apparate sowohl auf den die Stadt umgebenden Höhen, als auch in der Ebene, sowie in der Stadt selbst, aufstellte. Die Analyse des Wassers wurde nicht von bestimmtem Plane geleitet, sondern, je nachdem andere Umstände es erforderten, z. B. die Entwicklung der Cholera im Sommer, oder die Vergleichung mit dem Inhalt der Atmosphäre. Um aber dem Zwecke besser zu entsprechen, werde ich jeder Analyse eine kurze Beschreibung der Oertlichkeit vorangehen lassen.

Ich halte es für unnöthig, die Formen des *Bacillus Malariae* zu beschreiben, da die von mir gefundenen Formen den von Klebs und Tommasi-Crudeli<sup>1)</sup> beschriebenen völlig entsprechen. Das Verhalten dieses Mikrophyts, das ich in den Culturen beobachtete, wird sich aus den Beschreibungen ergeben, die ich jedem einzelnen Versuch angereicht habe, während ich am Schlusse eine Uebersicht der Reaktionen beifüge.

#### Das Gebiet von Pola.

Die Gegend, in welcher sich Stadt und Gebiet von Pola befinden, besteht aus kreidigen Kalkschichten, welche dem Cenoman, mit Radiolithenkalk und dem Neocom, mit spärlichen Kalkversteinerungen und zum Theil mit unregelmässigen Dolomitbänken, angehören. Auf diesen Felsen der oberen sekundären Schichten findet sich überall zerstreut die sogenannte rothe Erde (*terra rossa*) in einer mittleren Dicke von 3 Metern, welche nach Taramelli<sup>2)</sup> ein unterseeischer, vulkanischer Schlamm sein soll, der in der Miocänperiode ausgeworfen wurde. Ein älteres vulkanisches Produkt, hervorgegangen aus der Geiserthätigkeit, sind die Nester von staubartigem Quarz, Saldame genannt, welche sich besonders auf den Hügeln im Süden der Stadt finden. Die oro-hydrographische Gestaltung dieser Gegend ist unregelmässig. Thäler von geringer Ausdehnung lagern sich zwischen kleinen Bergkegeln und Ketten, die nach dem Meere zu abfallen oder aus demselben hervorragen und die verschiedenen Inselchen und Klippen bilden, welche die Ostküste

<sup>1)</sup> Siehe das angeführte Werk.

<sup>2)</sup> Taramelli, Descrizione geognostica del Margraviato d'Istria. Milano, Valardi 1878, pag. 10.

der Adria so amnuthig machen. Diese Thäler öffnen sich an einigen Stellen mitten zwischen den Hügeln, während an anderen Orten die Erhebungen des Erdreichs den Abfluss des Regenwassers verhindern, das sich hier in reichlicher Menge sammelt.

Wenn man die Nivellementsskizze, die der vorzüglichen Arbeit von Dr. Jilek<sup>1)</sup>, oberster Arzt der k. k. Kriegsmarine, beigegeben ist, betrachtet, so sieht man z. B. die Valle Acquera und die Valle alle Cave romane auf allen Seiten geschlossen, ebenso auch noch einige andere fast gänzlich ringsum geschlossene Thälchen. Wasserläufe an der Oberfläche der Thalsole giebt es dort nicht; die Flüsse fehlen, durch welche die Gewässer, sobald sie einen Ausweg finden, vermittelst des eigenen Drucks sich entleeren, der mit der Verminderung der Masse sich selbst vermindert. Alle diese Gewässer verschwinden daher nicht, indem sie sich ins Meer ergiessen, sondern ein grosser Theil sickert durch den porösen Untergrund und versinkt in den Höhlen, die sich zahlreich im Gerippe des Bodens vorfinden.

Dieses Gebiet liegt unter dem  $45^{\circ}$  N. B. und  $13,8^{\circ}$  O. L. von Greenwich mit einer Isotherme von  $14,17^{\circ}$  C., einem absoluten Maximum von  $34,6^{\circ}$  C. und einem Minimum von  $-8^{\circ}$  C., einem mittleren Maximum von  $27,97^{\circ}$  und mittleren Minimum von  $+2,75^{\circ}$  C. und mit einer mittleren Insolation, die von  $49,05$  bis zu  $61,63^{\circ}$  steigt.

Da Pola sich in der Region der Aequinoktialregen befindet, so folgt daraus, dass die Menge derselben sehr veränderlich ist. Während das Mittel des Jahres  $937$  mm beträgt, wechselt es in den einzelnen Monaten ganz bedeutend. Im September z. B. schwankt es zwischen  $227$  und  $2$  mm, im October zwischen  $241$  und  $6$  mm, im Februar zwischen  $131$  und  $1$  mm. Nach Lorenz ist der Charakter der Jahreszeiten, insoweit er die Regen in der adriatischen Region betrifft, folgender: Die Regen concentriren sich hauptsächlich auf den Spätherbst, October und November, und auf das Frühjahr, April, ohne dass die Winterregen ausgeschlossen sind. Wenn die Frühjahrregen aufgehört haben, tritt Mitte Mai sofort der wesentlich sommerliche Charakter ein, der dann fünf Monate hindurch, von Trockenheit und Hitze begleitet, andauert. An der adriatischen Küste wechseln während des Winters die ausschliesslich herrschenden und aufeinanderfolgenden Winde, der Sirocco und der Nordwind; im Sommer dagegen wehen diejenigen, welche aus der Vertheilung der Wärme über Festland und Meer entstehen. Die Vegetation ist die der Mittelmeerländer unter Vorherrschen der immer grünen Sträucher, welche weit ausgedehnte Strauchwälder (*macchie*) bilden.

Das sind die tellurischen und atmosphärischen Bedingungen des Gebietes von Pola, welche, und zwar besonders diejenigen, welche auf die Hydrographie Bezug haben, den grössten Einfluss auf die Entwicklung der Malaria haben. Das erwähnte Werk von v. Jilek bietet sehr instructive graphische

<sup>1)</sup> Dr. Aug. Ritter v. Jilek, Ueber das Verhalten des Malariafiebers in Pola. Wien 1881.

Tafeln über die Kurven, welche aus den gefallenem Regemengen sich ergeben, in Vergleich gesetzt mit den Kurven der Herrschaft der Malaria in denselben Epochen, aus denen die Abhängigkeit der Endemie von den gefallenem Wassermengen hervorgeht. Der Verfasser sagt hierüber:

„Nach der vor der heissen Jahreszeit gefallenem Regenmenge regelt sich auch die Höhe der Malariaendemie; wenn es viel Regen giebt, wird es auch viel Fieber geben. Das gilt jedoch nur für den Fall, wo das in kleinen Thälern gesammelte Wasser keinen Abfluss findet; findet dieser Abfluss, und zwar in reichlichem Maasse, statt, dann verringern sich die Fieber bis auf ein Minimum, während sie in demselben Maasse zunehmen, als dieser Abfluss gehemmt wird.“

### I. Versuch. Luft.

**Ort:** Campo Marzio (Prato grande), 2 m über dem Meeresspiegel. SO. der Stadt.

**Zeit:** 4. Februar 1886.

**Meteorologische Daten: Luftdruck:** Mittel: 751.19. Max.: 753.7. Min.: 750.

**Temperatur:** Mittel: 6,38, Max.: 9,2, Min.: 3,2, Min. der Sonnenstrahlen—0,8, Max.: 34,2.

**Richtung und Stärke des Windes:** Um Mitternacht ONO 39. Mittl. Kilom.: 31.8.

**Relative Feuchtigkeit:** Mittel: 56,3, Max.: 71, Min.: 36.

**Dunstdruck:** Mittel: 4,0, Max.: 5,1, Min. 3,0.

**Angaben des Heliographen:** Von 2—4 h = 1,0; Helligkeit der Sonne: 4,3; mögliche Dauer des Sonnenscheins: 9 Stunden 54 Min., Procente des möglichen Sonnenscheins: 43,4.

**Bewölkung:** Mittel: 5.

**Ozon:** (0—14) 8, **Verdunstung:** 1,40.

**Erdtemperatur:**

Tiefe.	2 Uhr Nachm.	9 Uhr Abds.	7 Uhr früh den 5/2.
Oberfläche: frei	10,2	1,6	—0,6
"      bedeckt	7,2	1,0	—0,5
0,025 Meter Tiefe	9,7	3,0	1,1
0,25      "      "	6,3	6,2	4,3
0,50      "      "	8,0	6,8	6,3
1,00      "      "	8,1	7,8	7,0
2,00      "      "	9,3	8,7	9,0

Der Apparat von Koch wurde auf dem Prato grande am 4. Februar um 4 Uhr Nachmittags aufgestellt und bis um 2 Uhr Nachmittags des 5. dort gelassen.

Nach 36 Stunden Cultur entwickelten sich auf der Gelatine zwei kleine weissliche Inselchen. Bei der mikroskopischen Untersuchung des einen ergab sich, dass es fast ausschliesslich aus *Bacillus Malariae* bestand.

Im Präparat verschwanden in Folge von etwas zu starker Ueberfärbung mit Methylenviolett die glänzenden Körnchen oder Sporen, welche bei etwas Reflexlicht wieder erschienen.

Ein Inselchen wurde zur Cultur unter die Glocke gebracht, während die ursprüngliche Gelatine weiter in dem Vegetationsapparate bei 35° belassen wurde. Am 8. Februar war die Gelatine, die bisher fest geblieben war, völlig verflüssigt, da sich darin viel *Bacterium Termo* und *Micrococcus*, die gewiss aus der Luft des Zimmers stammten, entwickelt hatten. Die Culturen unter der Glocke wuchsen langsam. Bei der Untersuchung eines Inselchen davon am 8. Februar, wurden *Bacillus malariae* und die gewöhnlichen *Bacterium Termo* und *Micrococcus* gefunden. Die Malariabacillen waren nur wenig in der Entwicklung vorgeschritten; am 10. Februar fand ich, dass sie nicht mehr vegetirten, da sie fast gänzlich von den anderen Spaltpilzen überwuchert wurden, vermuthlich infolge der niedrigen Temperatur der Umgebung von 17° C.

## II. Versuch. Luft.

**Ort:** Valle S. Pietro (Vallelunga) nahe bei der nördlichen Eisenbahnbrücke, 1/2 m über dem Meeresspiegel.

**Zeit:** 8. Februar 1886.

**Meteorologische Daten: Luftdruck:** Mittel 771,36, Max. 772,9, Min. 768,2.

**Temperatur:** Mittel 5,30, Max. 9,4, Min. 2,0, Min.: der Sonnenstrahlen 0,3, Max. 34,3.

**Richtung und Stärke des Windes:** Um Mitternacht NO 38, mittl. Kilom. in der Stunde 40,6.

**Relative Feuchtigkeit:** Mittel 55,0, Max. 69, Min. 37.

**Dunstdruck:** Mittel 3,6, Max. 4,3, Min. 2,8.

**Angabe des Heliographen:** Von 2—4 Uhr Nachmittags: 1,0, Helligkeit des Sonnenscheins 9,0; mögliche Dauer des Sonnenscheins 10,4; Procente der möglichen Sonnenscheindauer 89,3.

**Bewölkung:** 3.

**Ozon:** 8. Verdunstung: 2,30.

**Erdtemperatur:**

Tiefe.	2 Uhr Nachm.	9 Uhr Abds.	7 Uhr früh den 9/2.
Oberfläche: frei	11,2	2,1	—2,1
"      bedeckt	10,0	2,0	—1,7
0,025 Meter Tiefe	9,8	4,0	0,2
0,25      "      "	4,2	4,9	3,5
0,50      "      "	4,8	4,6	5,6
1,00      "      "	7,1	7,0	6,6
2,00      "      "	9,2	8,9	9,0

Der Apparat wurde um 3 Uhr Nachmittags aufgestellt und bis um 3 Uhr Nachmittag des 9. dort belassen, worauf er in den Vegetationskasten gebracht und darin 48 Stunden gelassen wurde. Die Untersuchung der Gelatine am 11., also nach einer Vegetation von 48 Stunden, ergab, dass sich in ihr der *Bacillus malariae* mit anderen kleineren Spaltpilzen reichlich entwickelt

hatte. Eine Reincultur zu machen gelang mir nicht; es wäre vielleicht besser gewesen, die Gallerte schon am 10. zu untersuchen, als die anderen Spaltpilze noch nicht so vorherrschend waren. — Im übrigen war die Entwicklung des *Bacillus malariae* eine ausserordentlich reichliche. Die Bacillen färbten sich leicht mit Methylenviolett, mit Fuchsin färbten sie sich nur schwach, mit Bismarekbraun oder Vesuvin gar nicht.

### III. Versuch. Luft.

**Ort:** Colle Monvidal hinter dem Ostfort, 40 m über dem Meeresspiegel.

**Zeit:** 13. Februar 1886.

**Meteorologische Daten: Luftdruck:** Mittel 758,98, Max. 759,7, Min. 758,2.

**Temperatur:** Mittel 5,15, Max. 9,4, Min. 1,9, Min. der Sonnenstrahlen 1,3, Max. 38,4.

**Richtung und Stärke des Windes:** Um Mitternacht ONO 30, Mittel in Kilom. in der Stunde 18,2.

**Relative Feuchtigkeit:** Mittel 74,9, Max. 82, Min. 66.

**Dunstdruck:** Mittel 5,0. Max. 6,3, Min. 4,4.

**Angaben des Heliographen:** Von 2—4 Uhr Nachm. — Sonnenhelligkeit 2,3; mögliche Dauer des Sonnenscheins 10,19; % derselben 22,3.

**Bewölkung:** 9.

**Ozon:** 9. **Verdunstung:** 0,60.

**Regen:** Dauer in Stunden: 2, Ablesung des Regennessers um 7 Uhr Vorm. 14,5 m über der Oberfläche: Regenmenge 1,4 mm, 0,7 in der Stunde; 1,3 mm: 2,9 mm, 1,4 in d. Stunde. Um 10<sup>1</sup>/<sub>4</sub> Nachts feiner Regen bis Mitternacht. Am Morgen Reif.

**Erdtemperatur:**

Tiefe.	2 Uhr Nachm.	9 Uhr Abds.	5 Uhr früh 14/2.
Oberfläche: frei	9,6	3,7	2,7
"      bedeckt	9,9	4,7	1,8
0,025 Meter Tiefe	8,4	4,1	2,7
0,25      "      "	4,3	5,5	4,2
0,50      "      "	5,0	4,8	5,0
1,00      "      "	6,5	6,4	6,3
2,00      "      "	8,4	8,8	8,6

Der Apparat wurde Nachmittags um 2 Uhr aufgestellt und am 14. Februar um 3 Uhr Nachmittags abgeholt. Wie aus den meteorologischen Daten hervorgeht, regnete es während der Nacht, in Folge dessen das Gefäss inwendig ein wenig feucht war. Es wurde bald in den Vegetationsapparat gebracht und 48 Stunden darin gelassen. Nach Verlauf derselben ergab die mikroskopische Untersuchung eine schwache Entwicklung von *Bacillus malariae*, ausserdem eine äusserst reichliche eines Bacillus, der um <sup>1</sup>/<sub>4</sub> kleiner ist als jener. Es gelang, zwei Reinculturen zu erzielen, aus denen Präparate des Malariabacillus und der anderen Art hergestellt werden konnten.

Bei weiterer zweitägiger Cultur erhielten sich die Stäbchen des Malaria-bacillus in demselben Stadium, während die des anderen Bacillus sich ver-

mehrten. — Am 20. fanden sich auf der Gallerte weisse Flecke, welche die Gelatine nicht verflüssigten. — 22. Februar. Es werden einige Präparate von den weissen Flecken gemacht; sie bestanden ausschliesslich aus *Bacillus malariae* mit einigen Sporen.

#### IV. Versuch. Luft.

**Ort:** Westlich vom Hospital der K. K. Marine, 26 m über dem Meeresspiegel.

**Zeit:** 17. Februar 1886.

**Meteorologische Daten: Luftdruck:** Mittel 759,26, Max. 760,7, Min. 758,5.

**Temperatur:** Mittel 5,65, Max. 8,6, Min. 1,5, Min. der Sonnenstrahlen —0,6, Max. 20,2.

**Richtung und Stärke des Windes:** Um Mitternacht NO 2, mittl. Kilometerzahl in der Stunde 4,8.

**Relative Feuchtigkeit:** Mittel 86,1, Max. 93, Min. 75.

**Dunstdruck:** Mittel 6,0, Max. 7,0, Min. 5,2.

**Daten des Heliographen:** Von 2—4 Uhr Nachm. Helligkeit der Sonne 0,0, mögliche Dauer des Sonnenscheins 10,31,  $\frac{0}{10}$  der Dauer 0,0.

**Bewölkung:** Mittel 10.

**Ozon:** 6. Verdunstung: 0,20.

**Regen:** Dauer in Stunden:  $7\frac{1}{4}$ . Ablesung des Regenmessers um 7 Uhr früh: 14,5 m über dem Boden, Regenmenge 2,8 mm, in der Stunde 0,4; 1,3 m Menge, 5,7 mm, in der Stunde 0,8. Von  $1\frac{1}{2}$  bis 3 Uhr Nachm. und von  $7\frac{1}{4}$  bis  $9\frac{1}{4}$  Nachm. leichter Regen, ebenso auch von Mitternacht bis um 3 Uhr. Am Morgen Nebel über dem Meere.

**Bodentemperatur:**

Tiefe.	2 Uhr Nachm.	9 Uhr Abds.	7 Uhr früh 18/2.
Oberfläche: frei	10,2	5,5	2,6
"      bedeckt	10,3	5,9	3,1
0,025 Meter Tiefe	8,7	5,7	4,2
0,25      "      "	5,1	5,9	5,4
0,50      "      "	6,3	5,7	5,9
1,00      "      "	6,8	6,8	6,5
2,00      "      "	8,7	8,8	8,4

Der Apparat wurde um 4 Uhr Nachmittags aufgestellt und am 18. ebenfalls um 4 Uhr abgeholt, während welcher Zeit es mässig geregnet hatte, wie man aus den obigen Daten ersieht. Der Apparat wurde in den Vegetationskasten gestellt und bei  $35^{\circ}$  bis zum 20. um 2 Uhr Nachm. darin belassen. Die entstandene Vegetation bestand aus äusserst wenigen *Bacillus malariae* und vielen anderen, verschiedenen Spaltpilzen. Zu weiterer Entwicklung wurden die Culturen an der Temperatur der Luft belassen.

22. Februar: Die Vegetation enthält nur wenige oder beinahe keinen *Bacillus malariae*.

23. Februar: Die Malariabacillen sind verschwunden.

## V. Versuch. Luft.

**Ort:** Stadt, via Portaurea, 2. Stock der Casa Carbuicchio, 10 m über dem Meeresspiegel.

**Zeit:** 20. Februar 1886.

**Meteorologische Daten:** Luftdruck: Mittel 761,07. Max. 761,7. Min. 760,7.

**Temperatur:** Mittel 5,7, Max. 9,8, Min. 0,8; Min. rad. —1,2, Max. rad. 38,0.

**Richtung und Stärke des Windes:** Mitternacht ONO 4, Kilometermittel 1,5.

**Relative Feuchtigkeit:** Mittel 68,4, Max. 76, Min. 58.

**Dunstdruck:** Mittel 4,6, Max. 5,6, Min. 3,9.

**Daten des Heliographen:** Von 2—4 Uhr Nachm. 0,2, Sonnenhelligkeit 0,9, mögliche Sonnenscheindauer 10,39,  $\frac{0}{10}$  der Dauer 8,5.

**Bewölkung:** Mittel 8.

**Ozon:** 8. **Verdunstung:** 0,60.

Am Morgen **Reif** und **Nebel** über dem Meere.

**Bodentemperatur:**

Tiefe.	2 Uhr Nachm.	9 Uhr Abds.	7 Uhr früh 21/2.
Oberfläche: frei	16,6	5,7	3,7
"      bedeckt	15,6	6,2	4,2
0,025 Meter Tiefe	12,1	6,3	4,1
0,25       "      "	5,2	6,1	5,9
0,50       "      "	6,1	5,8	6,0
1,00       "      "	7,2	7,0	7,1
2,00       "      "	8,7	8,9	8,8

Der Apparat wurde am Fenster des freistehenden Hauses aufgestellt um 4 Uhr Nachm., um dieselbe Stunde am 21. weggenommen und bald in den Vegetationsofen gebracht.

23. Februar. Nachdem der Apparat aus dem Brütöfen genommen, zeigte es sich, dass die Gallerte fest und etwas durchscheinend geblieben war. Es hatte sich weder ein Häutchen gebildet, noch strömte sie Geruch aus. Bei der mikroskopischen Untersuchung der kleinen hier und da zerstreuten Wölckchen und der weissen Punkte ergab sich, dass diese zwar ausschliesslich aus *Bacillus malariae* und wenigem *Bacterium Termo* bestanden; die geringe Menge des ersteren wies jedoch auf ein nur spärliches Vorhandensein in der Atmosphäre hin. Es wurden Uebertragungen nach Marpmann versucht, indem in ein Probirgläschen mit sterilisirter Gelatine eine kleine Menge von der Vegetation übertragen und diese Vegetation über die ganze Gallerte durch Schütteln des Probirgläschens vertheilt wurde.

25. Februar. Die Uebertragungen haben Reinculturen ergeben.

27. Februar. Von der ursprünglichen Gallerte werden einige Präparate gemacht, ebenso von den Reinculturen der Uebertragungen.

28. Februar. Die ursprüngliche, von *Bacterium Termo* überwucherte Cultur wird weggeworfen; sie enthielt auch Kolonien des *Bacillus malariae*. Auch die erste Reincultur wird weggeworfen, nachdem bemerkt worden,

dass sie sich erschöpfte. Die zweite vom 27. hält sich und mit ihr werden neue Uebertragungen vorgenommen.

1. März. Die zweite Reincultur hat ihre Reinheit verloren, da sie einige *Bacterium Termo* enthält; sie wird deshalb weggeworfen.

2. März. Die Uebertragungen vom 28. Februar geprüft und rein gefunden.

## VI. Versuch. Luft.

**Ort:** Monte Zaro. 30 m über dem Meeresspiegel.

**Zeit:** 25. Februar 1886<sup>1)</sup>.

**Meteorologische Daten: Luftdruck:** Mittel 762,94. Max. 763,4, Min. 762,6.

**Temperatur:** Mittel 4,29, Max.-8,8, Min. 1,8. Min.rad. 0,0, Max. rad. 37,0.

**Stärke und Richtung des Windes:** Mitternacht O 5, Kilometermittel in der Stunde 8,1.

**Relative Feuchtigkeit:** Mittel 71,3, Max. 86, Min. 50.

**Dunstdruck:** Mittel 4,4, Max. 4,9, Min. 3,8.

**Daten des Heliographen:** Von 2—4 Nachm. 0,2, Sonnenhelligkeit 5,0, mögliche Sonnenscheindauer 10,55, % der Dauer 45,8.

**Bewölkung:** Mittel 3.

**Ozon:** 7. **Verdunstung:** 1,00. Am Morgen des 26. Reif und Nebel.

**Bodentemperatur:**

Tiefe.	2 Uhr Nachm.	9 Uhr Abds.	7 Uhrfrüh 26/2.
Oberfläche: frei.	16,2	0,8	-2,1
" bedeckt.	15,4	2,3	-2,1
0,025 Meter Tiefe.	12,6	3,1	-0,7
0,25 " "	6,1	7,1	4,5
0,50 " "	6,6	6,0	6,1
0,10 " "	7,3	7,1	6,9
2,00 " "	8,7	8,8	8,5

Der Apparat wurde um 2 Uhr Nachm. im SO der Sternwarte unter einem Gebüsch von immergrünen Bäumen (*Pinus*) aufgestellt. Am 26. um dieselbe Zeit wurde er abgeholt und in den Vegetationsapparat gebracht.

28. Februar. Nachdem er aus dem Brütöfen herausgeholt worden, fanden sich wenige *Bacillus malariae* im ersten Stadium der Entwicklung, gemischt mit Micrococcen und Bacterien, vor. Ausser einigen Präparaten werden Uebertragungen in reine Gallerte gemacht, während die Originalcultur fernerhin einer Temperatur von 25° C. ausgesetzt wurde.

1. März. In der Originalcultur (52 Stunden) haben die Malariabacillen keine weitere Entwicklung gezeigt; an einigen Stäbchen bemerkt man Sporen an den Spitzen.

2. März. Die Original- und Sekundärculturen zeigen geringe Vegetation und sind unrein geblieben.

<sup>1)</sup> Ein Apparat wurde auch am 23. Februar aufgestellt, aber während der 24 Stunden gestohlen.

## VII. Versuch. Luft.

**Ort:** Monte Capelleta, 41 m über dem Meeresspiegel, im SO der Quarzsandhöhlen (saldame).

**Zeit:** 1. März 1886.

**Meteorologische Daten: Luftdruck:** Mittel 759,20, Max. 760,0, Min. 757,6.

**Temperatur:** Mittel 1,15, Max. 4,6, Min. -1,5, Min. rad. -2,8, Max. rad. 32,5.

**Richtung und Stärke des Windes:** Mitternacht O 10, Mittel in Kilomet. in der Stunde 14,8.

**Relative Feuchtigkeit:** Mittel 57,4, Max. 78, Min. 40.

**Dunstdruck:** Mittel 2,8, Max. 3,8, Min. 2,2.

**Daten des Heliographen:** Von 2—4 Uhr Nachm. 1,0, Helligkeit des Sonnenscheins 8,6, mögliche Sonnenscheindauer 11,7 St., % derselben 77,3.

**Bewölkung:** Mittel 1.

**Ozon:** 8,5. **Verdunstung:** 1,80.

**Bodentemperatur:**

Tiefe.	2 Uhr Nachm.	9 Uhr Abds.	6 Uhr früh 2/3.
Oberfläche: frei.	14,7	-2,4	-1,9
" bedeckt.	14,9	-1,0	-1,1
0,025 Meter Tiefe.	9,8	0,0	-0,4
0,25 " "	4,1	5,1	3,9
0,50 " "	5,5	5,0	5,7
1,00 " "	7,0	6,8	6,8
2,00 " "	8,7	8,6	8,4

In Folge starken Windes aus OSO mit bedeutendem Fallen des Luftdrucks bis auf 745 mm fielen in den nächsten drei Tagen bedeutende Regenmengen.

Der Apparat wurde um 3 Uhr Nachm. aufgestellt und am 4. März um 11 Uhr abgeholt. In den Vegetationsofen gebracht, ergab er in 48 Stunden eine sehr reichliche Entwicklung von *Bacillus malariae*, gemischt mit anderen kugeligen Körperchen, vielleicht Sporen.

Die Vegetation wurde in der Zimmertemperatur fortgesetzt, dann aber, weil sie sich unrein entwickelte, aufgegeben.

## VIII. Versuch. Luft.

**Ort:** Via Sissano, ausserhalb der Stadt, links. 18 m über dem Meeresspiegel.

**Zeit:** 12. März 1886.

**Meteorologische Daten: Luftdruck:** Mittel 763,27, Max. 765,6, Min. 762,1.

**Temperatur:** Mittel 0,19, Max. 7,2, Min. -5,1, Min. rad. -8,1, Max. rad. 36,0.

**Richtung und Stärke des Windes:** Mitternacht ONO 2, Mittel in Kilom. in der Stunde 7,5.

**Relative Feuchtigkeit:** Mittel 54,7, Max. 72, Min. 24.

**Dunstdruck:** Mittel 2,5, Max. 3,4, Min. 1,8.

**Daten des Heliographen:** Von 2—4 Uhr Nachm. 1,0, Sonnenhelligkeit 9,7, mögliche Sonnenscheindauer 11,40 St., % derselben 83,1.

**Bewölkung:** Mittel 1.

**Ozon:** Mittel 7. **Verdunstung:** 1,40. Am Morgen Frost.

**Bodentemperatur:**

Tiefe.	2 Uhr Nachm.	9 Uhr Abds.	7 Uhr früh 13/3.
Oberfläche: frei	18,4	—2,0	—2,4
" bedeckt	15,7	—1,2	—1,4
0,025 Meter Tiefe	11,3	0,8	1,2
0,25 " "	2,9	4,3	2,5
0,50 " "	4,0	3,8	3,6
1,00 " "	6,2	6,0	5,8
2,00 " "	8,4	7,9	8,1

Der Apparat wird um 2 Uhr Nachmittags aufgestellt, bis zur selben Stunde am 13. März stehen gelassen und dann in den Vegetationsofen gesetzt.

15. März. Aus dem Apparat herausgenommen. Gefunden sehr wenige *Bacillus malariae* und eine ungeheure Menge ganz kleiner Bacillen, gleichen auf Monvidal gefundenen. (Siehe Versuch III.)

17. März. In den Uebertragungen entwickeln sich äusserst wenige *Bacillus malariae* und sehr viele kleine Bacillen.

## IX. Versuch. Luft.

**Ort:** Stadt via Circonvallazione, Hof des Casa Malusà. 2 m über dem Meeresspiegel.

**Zeit:** 7. April 1886.

**Meteorologische Daten:** **Luftdruck:** Mittel 758,48, Max. 762,10, Min. 756,6.

**Temperatur:** Mittel 12,10. Max. 14,9. Min. 7,2. Min. rad. 3,6, Max. rad. 45,4.

**Richtung und Stärke des Windes:** Mitternacht O 51, Mittel in Kilom. i. d. St. 11,3.

**Relative Feuchtigkeit:** Mittel 86,2, Max. 95, Min. 72.

**Dunstdruck:** Mittel 9,1, Max. 10,9, Min. 6,2.

**Daten des Heliographen:** 2—4 Uhr Nachm. 0,5, Helligkeit des Sonnenschein 2,55, mögliche Sonnenscheindauer 13,2 Stdn., % derselben 19,2.

**Bewölkung:** 8 im Mittel.

**Ozon:** 8. **Verdunstung:** 0,20. **Regen:** Dauer in Stunden 1½. Ablesung des Regenmessers bei 14,5 m vom Boden, Menge 0,7 mm, in der Stunde 0,5; bei 1,3 m Menge 1,4, in der Stunde 0,9.

**Bodentemperatur:**

Tiefe.	2 Uhr Nachm.	9 Uhr Abds.	7 Uhr früh 8/4.
Oberfläche: frei	23,5	11,7	9,1
" bedeckt	22,8	12,7	8,9
0,025 Meter Tiefe	19,6	12,6	11,0
0,25 " "	14,7	16,0	12,7
0,50 " "	12,7	12,7	12,8
1,00 " "	10,8	10,8	10,6
2,00 " "	9,8	9,8	9,8

Der Apparat wurde um 2 Uhr Nachm. an das Zimmerfenster gestellt.

8. April. Um 2 Uhr Nachm. weggenommen und in den Vegetationsapparat gebracht.

10. April. Aus dem Vegetationsapparat geholt und untersucht. Es finden sich viele *Bacillus malariae* in *Zooglycaform* und isolirt, ferner andere Bacillen und Baeterien. Die Vegetation wurde fortgesetzt, um eine Reincultur zu erzielen, was indessen nicht gelang.

### X. Versuch. Luft.

**Ort:** Stadt, Via Circonvallazione, Terrasse des Casa Malusa, 6 Meter über dem Meeresspiegel.

**Zeit:** 18. Juni 1886.

**Meteorologische Daten: Luftdruck:** Mittel 753,84, Max. 754,5, Min. 753,2.

**Temperatur:** Mittel 16,78, Max. 22,2, Min. 12,7, Min. rad. 11,6, Maximum rad. 59,0.

**Richtung und Stärke des Windes:** Mitternacht ONO 14, Mittel in Kilometern in der Stunde 14,1.

**Relative Feuchtigkeit:** Mittel 79,3, Max. 97, Min. 49.

**Dunstdruck:** Mittel 11,3, Max. 13,3, Min. 9,3.

**Daten des Heliographen:** Von 2—4 Uhr 0, Sonnenhelligkeit 7,5, mögliche Sonnenscheindauer 15,33 St., % derselben 48,1.

**Bewölkung:** Mittel 7.

**Ozon:** 7. **Verdunstung:** 2,10. **Regen:** Dauer in St.: 13½. Ablesung des Regenmessers: 14,5 m über dem Boden: Menge 3,5 mm, in der Stunde 0,3, Menge 5,8 mm., in der Stunde 0,4.

**Bodentemperatur:**

Tiefe.	2 Uhr Nachm.	9 Uhr Abds.	7 Uhr früh 19/6.
Oberfläche: frei	32,2	17,8	19,7
"      bedeckt	33,5	17,7	20,3
0,025 Meter Tiefe	26,7	19,6	18,6
0,25     "      "	.	.	.
0,50     "      "	21,6	21,1	21,3
1,00     "      "	19,7	19,4	19,5
2,00     "      "	16,9.	16,9	16,9

Aufgestellt wurde der Apparat um 2 Uhr Nachmittags und abgeholt am 19. Juni 2 Uhr Nachmittags. — Es regnete heftig.

19. Juni. Der Apparat wird in den Vegetationskasten gebracht.

21. Juni. Die Vegetation besteht aus sehr vielen Micrococcen und ganz vereinzelt *Bacillus malariae*. Am Boden der Gallerte hat sich Schimmel gebildet.

### XI. Versuch. Wasser.

**Ort:** Prato grande. Abzugsgraben.

**Zeit:** 14. Juli 1886.

**Meteorologische Daten: Luftdruck:** Mittel 757,30, Max. 759,1, Min. 755,2.

**Temperatur:** Mittel 22,97, Max. 28,5, Min. 14,3, Min. rad. 13,03, Max. rad. 61,2.

**Richtung und Stärke des Windes:** Um Mitternacht — ruhig.

**Daten des Heliographen:** 2—4 Uhr Nachm. 1,0, Sonnenhelligkeit 13,0; mögliche Dauer des Sonnenscheins 15,16; % derselben 85,1.

**Bewölkung:** Mittel 2.

**Relative Feuchtigkeit:** Mittel 65,5, Max. 92, Min. 22.

**Dunstdruck:** Mittel 13,7, Max. 20,2, Min. 6,1.

**Ozon:** Mittel 6. **Verdunstung:** 3,47.

**Bodentemperatur:**

Tiefe.	2 Uhr Nachm.	9 Uhr Abds.	7 Uhr früh 15/7.
Oberfläche: frei.	51,1	24,6	22,6
"      bedeckt.	47,9	27,8	21,1
0,025 Meter Tiefe.	41,0	27,7	20,7
0,25      "      "	25,1	27,0	24,1
0,50      "      "	24,3	24,1	24,3
1,00      "      "	22,2	22,0	21,6
2,00      "      "	19,1	19,0	19,0

1. Am 14. Juli dem Abzugsgraben des Prato grande (Campo Marzo) Wasser entnommen. Es wird mit  $\frac{1}{5}$  sterilisierter Gelatine am 15. Juli, Nachmittags 3 Uhr, zum Vegetiren aufgestellt.

2. Am 16. Juli wird die Vegetation untersucht. Untermischt mit vielen Micrococcen und verschiedenen Bakterien finden sich einige *Bacillus malariae*. Es werden fünf Präparate angefertigt, drei aus der Gallerte, zwei aus dem einfachen Wasser, das nur im Vegetationskasten einer Temperatur von  $35^{\circ}$  ausgesetzt worden war. Ich bemerkte, dass sich auf dem Boden des Probirgläschens mit Gelatine mehr Malaria-Bacillen befanden, als in dem übrigen. Ich stellte ein anderes sterilisiertes Probirgläschen mit  $\frac{2}{3}$  Gelatine und  $\frac{1}{3}$  Grabenwasser, welches bereits einer Temperatur von  $35^{\circ}$  C. ausgesetzt gewesen, zur weiteren Vegetation während 48 Stunden auf. Dieses Wasser aber enthielt auch einige Infusorien und Wasserinsekten.

3. Am 18. Juli wurde nach 72stündiger Vegetation die Gelatine des Probirgläschens untersucht und sie fand sich von einer ungeheuren Zahl Micrococcen und nur sehr wenigen Malariabacillen erfüllt. Im Wasser hingegen sind die Bacillen häufiger, jedoch herrscht bei weitem ein Spirillum vor, das sehr dem Kommabacillus Koch's ähnelt, 2—2,5  $\mu$  lang; die s-förmigen erreichen eine Länge von 4  $\mu$ . Da ich die Spirillen nicht in der Gelatine gefunden habe, nehme ich an, dass dieselben darin nicht fortkommen.

Das Wasser wurde weitere 48 Stunden hindurch der Vegetation überlassen.

4. Am 20. Juli fand sich nichts Besonderes; überwiegend Micrococcen, einige Spirillen und sehr wenige *Bacillus malariae*; einige *Diatomaceen*. Es scheint, als habe das Wasser seine Nährkraft für die Spaltpilze erschöpft.

5. Am 22. Juli. Nach 48 Stunden wurde das mit der Gelatine gemischte Wasser untersucht; es fand sich die Vegetation in 3 Schichten getheilt, die vorzugsweise von Micrococcen und anderen kleinen und feinen

Bakterien gebildet wurden. Hier und dort, besonders am Boden, einige *Bacillus malariae*. Das Wasser ohne Gelatine enthält mehr Malaria-Bacillen, einige Spirillen, die sich übrigens in vereinzelt Exemplaren auch in der Gelatine entwickelt haben. Der Bodensatz enthält viele *Diatomaceen* und einige Würmer.

## XII. Versuch. Wasser.

**Ort:** Stadt, Borgo Portaurea. Brunnen der Apotheke Rodinis.

**Zeit:** 19. Juli 1886.

**Meteorologische Daten: Luftdruck:** Mittel 759,96. Max. 760,9, Min. 759,2.

**Temperatur:** Mittel 23,26, Max. 27,4, Min. 17,2; Min. rad. 15,2, Max. rad. 56,2.

**Richtung und Stärke des Windes:** Um Mitternacht ruhig.

**Daten des Heliographen:** 2—4 Uhr Nachm. 1,0, Sonnenhelligkeit 13,9, mögliche Sonnenscheindauer 15,7 St., % derselben 91,9.

**Bewölkung:** Mittel 1.

**Relative Feuchtigkeit:** Mittel 80,8, Max. 94, Min. 69.

**Dunstdruck:** Mittel 16,9, Max. 20,5, Min. 13,1.

**Ozon:** Mittel 4. **Verdunstung:** 2,47.

**Bodentemperatur:**

Tiefe.	2 Uhr Nachm.	9 Uhr Abds.	7 Uhr früh 20/7.
Oberfläche: frei.	48,2	24,3	23,8
"      bedeckt.	47,4	27,0	23,6
0,025 Meter Tiefe.	35,0	26,8	21,9
0,25      "      "	25,9	27,3	24,6
0,50      "      "	24,4	24,5	24,5
1,00      "      "	22,0	22,0	21,8
2,00      "      "	19,0	19,6	18,7

1. Am 19. Juli entnahm ich mit einem sterilisirten Fläschchen 100 gr. dieses fauligen und trüben Wassers, in welchem Fragmente von fauligen Pflanzenstoffen herumschwammen. Der Brunnen war seit mehreren Jahren geschlossen und das Wasser wurde gar nicht, nicht einmal zum Waschen, benutzt. Sein Spiegel liegt ungefähr 7 Meter unter der Oberfläche des Bodens.

2. Am 20. Juli wurde die Vegetation im Wasser untersucht, nachdem es 24 Stunden einer Temperatur von 35° C. ausgesetzt gewesen. Ich fand ausser vielen Kalksalzen verschiedene Bakterien, einige Spirillen, viele Micrococcen, viele Infusorien (*Anisonema sulcata*). — Das Wasser wird mit Gelatine versetzt und 48 Stunden der Vegetation überlassen.

3. Am 22. Juli wurde in der Gelatine eine reichliche Vegetation von feinen Bakterien gefunden, kürzer als die der Malaria. Von letzteren beinahe keine. Dasselbe war aber auch im reinen Wasser der Fall.

### XIII. Versuch. Wasser.

**Ort:** Brunnen in Casa Malusa, No. 38 auf der Via Circonvallazione.

**Zeit:** 25. Juli 1886.

**Meteorologische Daten: Luftdruck:** Mittel 754,59, Max. 755,6, Min. 753,5.

**Temperatur:** Mittel 26,87, Max. 32,2, Min. 20,4; Min. rad. 17,5, Max. rad. 61,6.

**Richtung und Stärke des Windes:** Um Mitternacht ruhig. Mittel in Kilom. i. d. Stde. 7,3.

**Daten des Heliographen:** 2—4 Uhr Nachm. 1,0, Helligkeit des Sonnenschein 14,1; mögliche Sonnenscheindauer 14,55, % derselben 94,5.

**Bewölkung:** 0.

**Relative Feuchtigkeit:** Mittel 61,3, Max. 78, Min. 50.

**Dunstdruck:** Mittel 16,1, Max. 22,4, Min. 12,5.

**Ozon:** Mittel 5. **Verdunstung:** 2,24.

**Bodentemperatur:**

Tiefe.	2 Uhr Nachm.	9 Uhr Abds.	7 Uhr früh 26/7.
Oberfläche: frei.	57,1	27,3	28,9
"      bedeckt.	54,0	30,3	28,6
0,025 Meter Tiefe.	43,8	31,6	25,1
0,25       "      "	29,0	30,7	27,5
0,50       "      "	26,2	26,3	27,4
1,00       "      "	23,5	23,0	23,3
2,00       "      "	19,4	19,8	19,4

1. Am 25. Juli wurde um 11 Uhr Vormittag das Wasser in ein sterilisiertes Fläschchen gefüllt. Ein Kubikcentimeter hiervon wurde mit 3 cbcm Gelatine in ein Probegläschen gebracht und das Ganze im Vegetationskasten einer Temperatur von 35<sup>o</sup> ausgesetzt. Das Wasser ist klar und sehr frisch, und der Brunnen ist sehr tief.

2. Am 27. Juli Nachmittag 2 Uhr nach etwa 48 Stunden wurde Gelatine und Wasser untersucht. In der Gelatine bemerkte ich eine ungeheure Entwicklung von *Bacterium termo* und einige *Bacillus malariae*, ausserdem Micrococcen. — Das Wasser ohne Gelatine enthält nur einige *Bacillus malariae* und eine ungeheure Menge Körperchen (Sporen?) von zweifelhafter Zugehörigkeit; ausserdem viele verschiedenen Gattungen angehörige Infusorien.

### XIV. Versuch. Wasser.

**Ort:** Cisterne in demselben Hause.

**Zeit:** 28. Juli 1886.

**Meteorologische Daten: Luftdruck:** Mittel 756,65.

**Temperatur:** Mittel 23,98, Max. 27,2, Min. 22,0; Min. rad. 18,6, Max. rad. 56,6.

**Richtung und Stärke des Windes:** Mitternacht NO. 23. Mittel in Kilom. i. d. Stde. 17,5.

**Daten des Heliographen:** 2—4 Uhr Nachm. 1,0, Helligkeit des Sonnenschein 14,0, mögliche Sonnenscheindauer 14,49, % derselben 94,6.

**Bewölkung:** Mittel 2.

**Relative Feuchtigkeit:** — (fehlte wegen Störungen des Hydrographen.)

**Dunstdruck:** Ebenso.

**Ozon:** Mittel 8. **Verdunstung:** 3,05. — Am Abend Blitzen im 3. und 4. Quadranten.

**Bodentemperatur:**

Tiefe.	2 Uhr Nachm.	9 Uhr Abds.	7 Uhr früh 29/7.
Oberfläche: frei.	48,0	23,3	22,3
"      bedeckt.	41,8	27,6	22,6
0,025 Meter Tiefe.	39,7	27,9	22,8
0,25 "      "	29,0	29,9	27,7
0,50 "      "	27,0	27,1	27,1
1,00 "      "	24,1	23,9	23,9
2,00 "      "	20,5	20,4	20,2

1. Am 28. Juli um 2 Uhr Nachmittag wurde das Wasser, welches klar und frei von jeder Verunreinigung war, geschöpft. Zwei Cem wurden in ein Probegläschen mit  $\frac{1}{2}$  Gelatine gebracht. Die Cisterne befindet sich im Innern des Hauses und ist vollständig erneuert. Um 4 $\frac{1}{2}$  Nachmittag in den Vegetationskasten gebracht.

2. Am 31. Juli nach ungefähr 48 Stunden Vegetation wurde die Gelatine trübe gefunden, in ihr findet sich eine Unzahl von Micrococcen.

## XV. Versuch. Wasser.

**Ort:** Der Hafen von Pola.

**Zeit:** 31. Juli 1886.

**Meteorologische Daten:** Luftdruck: Mittel 756,95, Max. 759,3, Min. 754,3.

**Temperatur:** Mittel 22,56, Max. 26,6, Min. 14,4; Min. rad. 15,6, Max. rad. 62,8.

**Richtung und Stärke des Windes:** Mitternacht OSO. 18. Mittel in Kilom. 12,2.

**Daten des Heliographen:** 2—4 Uhr Nachm. 1,0, Helligkeit des Sonnenschein 11,5, mögliche Sonnenscheindauer 14,42, % derselben 78,2.

**Bewölkung:** Mittel 2.

**Relative Feuchtigkeit:** Mittel 60,6, Max. 75, Min. 38.

**Dunstdruck:** Mittel 12,4, Max. 17,0, Min. 8,3.

**Ozon:** Mittel 6. **Verdunstung:** 2,19. **Regen,** Dauer 2 Stdn. Ablesung des Regenmessers: bei 1,3 m über dem Boden, Menge 6,4 mm, in der Stunde 3,2; Nebel über dem Meere.

**Bodentemperatur:**

Tiefe.	2 Uhr Nachm.	9 Uhr Abds.	7 Uhr früh 1/8.
Oberfläche: frei.	47,3	24,8	21,6
"      bedeckt.	43,9	28,2	21,8
0,025 Meter Tiefe.	37,7	28,2	21,9
0,25 "      "	27,2	28,3	26,6
0,50 "      "	26,5	26,2	26,2
1,00 "      "	24,2	24,0	23,7
2,00 "      "	20,6	20,6	20,5
			19*

1. Am 31. Juli, Nachmittag 4 Uhr, wurde das Wasser in der halben Entfernung zwischen dem Damm und dem Bade von Pola geschöpft, dasselbe war vollkommen klar und es bewegte sich eine grosse Zahl Infusorien darin.

2. Am 1. August, um 4 Uhr Nachmittag wurde ein Ccm dieses Wassers mit 3 Ccm Gelatine in Kultur gesetzt.

3. Am 3. August, um 4 Uhr Nachmittag, wurde die Gelatine untersucht und eine überaus reiche Vegetation, an der Oberfläche bestehend aus etwas länglichen und ganz reinen Micrococcen, am Boden mit einigen äusserst feinen Bacillen gemischt, gefunden. Das Wasser ohne Gelatine hatte nur wenige Micrococcen und Bacillen, bedeutend mehr Infusorien (*Anisonema acinus*) und einige andere Mikroorganismen.

## XVI. Versuch. Luft.

**Ort:** Prato grande (Campo Marzio) 2 m über dem Meeresspiegel.

**Zeit:** 4. August 1886.

**Meteorologische Daten:** Luftdruck: Mittel 757,09, Max. 757,7, Min. 756,0.

**Temperatur:** Mittel 20,48, Max. 24,1, Min. 16,4; Min. rad. 12,5, Max. rad. 56,4.

**Richtung und Stärke des Windes:** Mitternacht ONO 19, Mittel in Kilom. 18,6.

**Daten des Heliographen:** 2—4 Uhr Nachm. 0,5; Helligkeit des Sonnenschein 6,7; mögliche Sonnenscheindauer 14,33, % derselben 46,0.

**Bewölkung:** Mittel 6.

**Relative Feuchtigkeit:** Mittel 81,6, Max. 90, Min. 68.

**Dunstdruck:** Mittel 14,5, Max. 17,0, Min. 12,5.

**Ozon:** Mittel 7. **Verdunstung:** 1,63. **Regen:** Dauer  $\frac{3}{4}$  Stdn.; Ablesung des Regenmessers: in 14,5 m Höhe über dem Boden: Menge 6,2 mm, in der Stde. 7,4; in 1,3 m Höhe: Menge 8,9 mm, in der Stde. 10,7. — Von  $3\frac{1}{2}$ —6 Uhr früh Gewitter mit starkem Regen von SW;  $7\frac{1}{2}$ —9 Uhr früh dasselbe; ebenso noch bis 10 Uhr früh.

**Bodentemperatur:**

Tiefe.	2 Uhr Nachm.	9 Uhr Abds.	7 Uhr früh 5/8.
Oberfläche: frei.	32,4	20,8	19,4
"      bedeckt.	31,0	20,6	19,6
0,025 Meter Tiefe.	28,5	21,7	18,7
0,25      "      "	25,0	25,5	23,5
0,50      "      "	25,7	25,5	25,2
1,00      "      "	23,3	23,3	23,3
2,00      "      "	20,7	20,7	20,6

1. Am 4. August um  $7\frac{1}{2}$  Uhr Nachm. liess ich etwa 500 Ccm Luft auf dem Prato grande durch ein Probegläschen mit 5 Ccm Gelatine gehen. Um  $9\frac{1}{2}$  Uhr Abds. wurde das Probegläschen in den Vegetationskasten gebracht und dort ungefähr 48 Stunden gelassen.

2. Am 6. August um 2 Uhr Nachm. wurde die Gelatine untersucht und gefunden, dass darin fast ausschliesslich in grösster Zahl *Bacillus malariae*

und nur sehr wenige andere Spaltpilze, ferner eine Schimmelbildung vegetirten. Die Vegetation wurde fortgesetzt.

3. Bei der am 7. August, Nachm. 3 Uhr, erfolgten Untersuchung ergibt sich, dass der *Bacillus malaria* noch bedeutend an Masse zugenommen hat. Da sich jedoch eine beträchtliche Menge von *Bacterium termo* ausgebreitet hatte, die die Vegetation verunreinigten, so wird die Gelatine weggeworfen.

### XVII. Versuch. Luft.

**Ort:** Strasse nach Siana, rechts, Wiese nahe bei den Häusern, 8 m über dem Meeresspiegel.

**Zeit:** 7. August 1886.

**Meteorologische Daten: Luftdruck:** Mittel 761,19, Max. 763,0, Min. 759,8.

**Temperatur:** Mittel 20,13, Max. 24,8, Min. 14,9; Min. rad. 12,0, Max. rad. 55,0.

**Richtung und Stärke des Windes:** Um Mitternacht ruhig.

**Daten des Heliographen:** 2—4 Nachm. 1,0, Helligkeit der Sonne 13,5, mögliche Sonnenscheindauer 14,26 Stunden, % derselben 93,5.

**Bewölkung:** Mittel 1.

**Relative Feuchtigkeit:** Mittel 12,1, Max. 16,3, Min. 8,2.

**Ozon:** Mittel 6, **Verdunstung:** 0,55.

**Bodentemperatur:**

Tiefe.	2 Uhr Nachm.	9 Uhr Abds.	7 Uhr früh 8/8.
Oberfläche: frei.	40,0	20,3	20,3
" bedeckt.	38,8	23,0	19,0
0,025 Meter Tiefe.	31,3	23,7	18,2
0,25 " "	21,7	24,0	22,1
0,50 " "	23,0	23,1	23,2
1,00 " "	22,9	22,7	23,3
2,00 " "	20,7	20,6	20,6

1. Am 7. August um 6 Uhr Nachm. liess ich durch die Gelatine in einem Probegläschen ungefähr 500 Ccm Luft gehen. Darauf wurde die Gelatine 48 Stunden hindurch bei 35° C. zur Vegetation aufgestellt.

2. Am 9. August, Nachm. 2½ Uhr, wurde die Vegetation untersucht; nur sehr wenige und vereinzelte *Bacillus malariae* darin gefunden.

In grösster Anzahl fanden sich andere bedeutend feinere Bacillen und Micrococcen, sowie viele Sporen eines Schimmels, der vollkommen entwickelt, sich als *Mucor rhizopodiformis* Lichthein. herausstellte.

3. Da bei fortgesetzter Vegetation die Gelatine durch *Bacterium termo* verunreinigt war, wurde sie weggeworfen.

### XVIII. Versuch. Wasser.

**Ort:** Abzugsgraben der Wiesen und des Feldes rechts von der Via Siana.

**Zeit:** 7. August 1886.

**Meteorologische Daten:** Siehe Versuch XVII.

1. Am 7. August 1886 wurde mit einer sterilisirten Flasche Wasser aus dem Abzugsgraben geschöpft. Ich bemerke, dass es am 4., besonders aber am 5. heftig regnete, etwa 11,1 mm in der Stunde (14,5 m über dem Boden). Das Wasser war trübe, gemischt mit einigen Pflanzenresten und enthielt viele Mückenlarven. Ein Cem davon wird mit 3 Cem Gelatine zum Vegetiren in den Apparat gebracht.

2. Am 9. August Nachm. 2½ Uhr wurde die Vegetation untersucht. Gefunden wurden viele *Bacillus malariae*, viele Micrococcen und einige Spirillen, ferner andere feine Bakterien. Infusorien fehlten gänzlich.

Im Wasser ohne Gelatine fanden sich wenig entwickelte *Bacillus malariae* und Infusorien in sehr geringer Menge; dagegen Micrococcen in grösster Anzahl und andere Bakterien.

3. 28. August. Da die Vegetation zu unrein geworden, wurde sie weggeworfen. In dem Spülwasser des Bodensatzes wurden viele Infusorien und *Bacillus malariae* gefunden. Der Bodensatz besteht ausschliesslich aus Thon.

### XIX. Versuch. Luft.

**Ort:** Links von der Via Sissano ausserhalb der Stadt auf der Landstrasse jenseits der Wiese, 20 m über dem Meeresspiegel.

**Zeit:** 10. August 1886.

**Meteorologische Daten:** Luftdruck: Mittel 757,95. Max. 759,8. Min. 756,4.

**Temperatur:** Mittel 23,89, Max. 28,9, Min. 17,8; Min. rad. 14,7, Max. rad. 58,0.

**Richtung und Stärke des Windes:** Um Mitternacht —

**Daten des Heliographen:** 2—4 Uhr Nachm. Helligkeit des Sonnenschein 13,3, mögliche Sonnenscheindauer 14,18 Stdn., % derselben 93,0.

**Bewölkung:** 0.

**Relative Feuchtigkeit:** Mittel 74,2, Max. 89, Min. 44.

**Dunstdruck:** Mittel 16,1, Max. 18,9, Min. 12,6.

**Ozon:** Mittel 6, **Verdunstung:** 2,45. — Nebel. — Reif.

**Bodentemperatur:**

Tiefe.	2 Uhr Nachm.	9 Uhr Abds.	7 Uhr früh 11/8.
Oberfläche: frei.	49,4	24,9	23,9
bedeckt.	47,1	27,0	23,4
0,025 Meter Tiefe.	37,9	28,2	21,7
0,25       "       "	25,4	25,1	25,1
0,50       "       "	24,6	25,3	25,0
1,00       "       "	22,7	22,5	22,4
2,00       "       "	20,7	20,7	20,6

1. Am 10. August, Abds. 7 Uhr, liess ich ungefähr 500 Cem Luft durch ein Probegläschen mit 4 Cem Gelatine gehen. 48 Stunden zur Vegetation aufgestellt.

2. Am 12. August, Nachm. 2 Uhr, wurde die Vegetation untersucht und gefunden, dass sie fast ausschliesslich aus *Bacillus malariae*, und zwar in grösster Menge, bestand. Ausserdem hat sich ein Schimmel entwickelt.

3. Am 13. August wurden Uebertragungen auf gekochte Kartoffeln gemacht.

4. 14. August. Die Vegetation in der Gelatine ist schon mit anderen Mikrophyten gemischt und wird weggeworfen. Von den Uebertragungen auf Kartoffeln bestehen einige aus *Bacillus malariae* mit sehr vielen fremden feineren Bacillen, andere hingegen fast ausschliesslich aus den ersteren. Diese Vegetationen haben eine gelbröthliche Färbung. Der Schimmel bringt Fructification von dunkelgrauer Färbung, die etwas ins Grünliche spielt, mit runden Sporen hervor. Es scheint *Mucor rhizopodiformis* zu sein.

Charakteristisch ist die Vegetation des *Bacillus malariae* auf den Kartoffeln; er breitet sich hier aufs beste aus, indem er Kolonien von gelbrosa Farbe, die etwas ins Violette spielt, bildet, und unterscheidet sich dadurch von dem ähnlichen *Bacillus anthracis*, dessen Kolonien auf den Kartoffeln weiss sind. Die Entwicklung der Kolonie beschränkt sich auf die Uebertragungsstelle und nimmt die Form derselben an. Die Bacillen aber verlängern sich und tragen an den Spitzen die leicht unterscheidbaren Sporen, die man dann hier und da überreichlich auf dem Gesichtsfelde zerstreut sieht.

5. 18. August. Die Vegetation auf den Kartoffeln hat eine Abnahme in der Dicke des *Bacillus malariae* hervorgebracht, da die reproduzierten Individuen um die Hälfte dünner und kürzer sind, als die des ursprünglichen Versuchs. Wo sich die Malariabacillen in ihrer natürlichen Grösse finden, sind die Kolonien gelbrosa; wo sie kleiner sind, nehmen die Flecken eine blass kirschrothe Färbung an.

## XX. Versuch. Luft.

**Ort:** Einige Schritte oberhalb der Barriere auf dem Monte Ghiro gegen das Meer hin, 24 m über dem Meeresspiegel.

**Zeit:** 12. August 1886.

**Meteorologische Daten: Luftdruck:** Mittel 754,69, Max. 758,5, Min. 752,8.

**Temperatur:** Mittel 22,29, Max. 27,6, Min. 17,7; Min. rad. 15,6, Max. rad. 62,4.

**Richtung und Stärke des Windes:** Um 6 Uhr Nachm. ONO. 40, Mittel in Kilom. 13,7.

**Daten des Heliographen:** Um 6 Uhr Nachm. 0,7, Helligkeit des Sonnenschein 5,4, mögliche Sonnenscheindauer 14,11 % derselben 38,1.

**Bewölkung:** Mittel 7.

**Relative Feuchtigkeit:** Um 6 Uhr Nachm. 76, Max. 90, Min. 54.

**Dunstdruck:** Um 6 Uhr Nachm. 12,7, Max. 19,6, Min. 8,9.

**Ozon:** Mittel 8, **Verdunstung:** 2,4. Um 2¼ Uhr Nachm. leichtes Gewitter aus NW. mit einigen Tropfen Regen.

**Bodentemperatur:**

Tiefe.	2 Uhr Nachm.	9 Uhr Abds.	7 Uhr früh 13/8.
Oberfläche: frei.	35,9	18,9	19,0
"      bedeckt.	35,9	20,8	19,0
0,025 Meter Tiefe.	30,2	22,0	18,8
0,25       "      "	26,9	25,5	23,7
0,50       "      "	26,0	25,7	25,3
1,00       "      "	23,0	22,7	22,8
2,00       "      "	20,6	20,6	20,5

1. Am 12. August, 6 Uhr 20 Min. Nachm., während eines ziemlich starken Windes aus ONO. liess ich an einer Stelle etwas oberhalb des Weges, welcher von der Poststrasse nach dem Monte Ghiro führt, etwa 50 Schritte hinter den letzten Häusern auf der Seite nach dem Meere zu, ungefähr 500 Cem Luft durch etwa 4 Cem Gelatine gehen. Letztere wurde 48 Stunden zur Vegetation gestellt.

2. 14. August, Nachm. 2 Uhr. Gefunden wurden überaus viele feinste Bacillen in verschiedenen Grössen, einige vereinzelt *Bacillus malariae* und Micrococcen, vielleicht Sporen.

3. 16. August, Nachm. 2 Uhr. Die Malariabacillen haben sich vermehrt, aber sie haben nicht die gewöhnliche Länge, sondern sie sind kürzer und dicker. Die anderen feineren Bacillen haben an Zahl abgenommen und neben ihnen bemerkt man Micrococcen (Sporen?) in reichlicher Menge.

4. 18. August, Nachm. 2 Uhr. Vorherrschend sind die *Bacillus malariae*, aber immer in der dickeren Form. Die Vegetation ist durch gewöhnliche Fäulnissbakterien unrein geworden.

## XXI. Versuch. Luft.

**Ort:** Luft auf dem Monte Capelletta, links von den Militärgefängnissen, 20 m über dem Meeresspiegel.

**Zeit:** 14. August 1886.

**Meteorologische Daten:** Luftdruck: Mittel 757,61. Max. 758,7. Min. 756,8.

**Temperatur:** Mittel, 20,94, Max. 26,0, Min. 13,7; Min. rad. 13,2, Max. rad. 54,2.

**Richtung und Stärke des Windes:** Um Mitternacht: Ruhe.

**Daten des Heliographen:** 2—4 Uhr Nachm. 1,0, Helligkeit des Sonnenschein 13,4, mögliche Sonnenscheindauer 14,5 Stdn., % derselben 95,2.

**Bewölkung:** 0.

**Relative Feuchtigkeit:** Mittel 66,4, Max. 80, Min. 43.

**Dunstdruck:** Mittel 12,0, Max. 16,4, Min. 9,3.

**Ozon:** Mittel 6, Verdunstung: 2,40.

**Bodentemperatur:**

Tiefe.	2 Uhr Nachm.	9 Uhr Abds.	7 Uhr früh 15/8.
Oberfläche: frei.	45,0	20,3	21,6
"      bedeckt.	44,1	23,0	21,9
0,025 Meter Tiefe.	31,9	23,9	20,4
0,25 "      "	24,3	24,3	24,1
0,50 "      "	24,7	24,5	24,8
1,00 "      "	23,0	22,9	22,7
2,00 "      "	20,6	20,7	20,4

1. Am 14. August 1886, Nachm. 7 Uhr, liess ich durch 4 Cem Gelatine etwa 500 Cem Luft auf dem Monte Capelletta ungefähr auf der Hälfte des Hügels gehen. Das Probegläschen wird in den Vegetationsapparat gebracht und 48 Stunden darin gelassen.

2. 16. August, Nachm. 2 Uhr. Die Vegetation, die gestern durch Zufall eine Stunde lang einer Temperatur von  $65^{\circ}$  C. ausgesetzt war, ist vollkommen rein hervorgegangen und besteht ganz ausschliesslich aus *Bacillus malariae*, in reichlichen Mengen und von verlängerten Formen, die auch in Ketten gereiht sind.

3. 18. August. Die *Bacillus malariae* sind von anderen Spaltpilzen überwuchert, weshalb die Gelatine weggeworfen wird.

## XXII. Versuch. Luft.

**Ort:** Luft auf Monvidal auf der nördlichen Seite des Hügels nach Siana hin, 28 m über dem Meeresspiegel.

**Zeit:** 16. August 1886.

**Meteorologische Daten: Luftdruck:** Mittel 758,17, Max. 759,5, Min. 756,5.

**Temperatur:** Mittel 22,96, Max. 27,8, Min. 19, Min. rad. 12,7, Sonnenmax. 60,0.

**Richtung und Stärke des Windes:** NNO. 12. Kilom. in der Stunde 20,9.

**Daten des Heliographen:** 2—4 Uhr Nachm. 1,0. Helligkeit des Sonnenschein 13,4, mögliche Sonnenscheindauer 14,0, % derselben 95,7.

**Bewölkung:** Mittel 2.

**Relative Feuchtigkeit:** Mittel 57,5, Max. 75, Min. 32.

**Dunstdruck:** Mittel 11,9, Max. 16,0, Min. 8,5.

**Ozon:** Mittel 7, **Verdunstung:** 5,44.

**Bodentemperatur:**

Tiefe.	2 Uhr Nachm.	9 Uhr Abds.	7 Uhr früh 17/8.
Oberfläche: frei.	47,2	26,8	23,5
"      bedeckt.	47,9	24,8	22,9
0,025 Meter Tiefe.	36,0	25,7	21,5
0,25      "      "	25,7	24,6	24,7
0,50      "      "	25,3	24,8	24,9
1,00      "      "	23,3	22,7	22,8
2,00      "      "	20,7	20,6	20,7

1. 16. August 1886. Um  $7\frac{1}{2}$  Uhr Nachm. liess ich auf Monvidal, einige Schritte von der Campagna Glavich, auf der halben Höhe des Hügels etwa 500 Ccm Luft durch 4 Ccm Gelatine gehen. Diese wurde 48 Stunden zum Vegetiren aufgestellt.

2. 18. August 1886. Um 2 Uhr Nachm. wurde die Vegetation untersucht und auf einem Streifen derselben eine dichte Zoogloea gefunden, bestehend aus *Bacillus malariae*, die aber feiner, als gewöhnlich und lang waren und unter einander gleichförmige dichte Knäuel bildeten. Leicht gelingt ihre Färbung mit Methylviolett, schwer mit Fuchsin. — In der Gelatine selbst findet sich eine überaus reichliche Vegetation von Micrococcen.

3. 20. August. Die Cultur wird weggeworfen, weil durch verschiedene andere Mikrophyten unrein geworden.

## XXIII. Versuch. Luft.

**Ort:** Luft auf dem Hügel S. Michele hinter dem Fort östlich nach dem Prato grande zu, 32 m über dem Meeresspiegel.

**Zeit:** 28. August 1886.

**Meteorologische Daten: Luftdruck:** Mittel 758,72, Max. 759,6, Min. 758,2.

**Temperatur:** Mittel 24,67, Max. 28,2, Min. 21,4; Min. rad. 14,9, Max. rad. 61,2.

**Richtung und Stärke des Windes:** Mitternacht NO. 4, Mittel in Kilom. i. d. Stde. 14,5.

**Daten des Heliographen:** 2—4 Uhr Nachm. 1,0, Helligkeit des Sonnenschein 8,45, mögliche Sonnenscheindauer 13,25, % derselben 62,6.

**Bewölkung:** Mittel 5.

**Relative Feuchtigkeit:** Mittel 63,6, Max. 82, Min. 43.

**Dunstdruck:** Mittel 14,6, Max. 20,6, Min. 12,1.

**Ozon:** Mittel 6, **Verdunstung:** 5,34.

**Bodentemperatur:**

Tiefe.	2 Uhr Nachm.	9 Uhr Abds.	7 Uhr früh 29/8.
Oberfläche: frei.	43,2	22,3	22,1
"      bedeckt.	38,0	24,0	21,0
0,025 Meter Tiefe.	32,9	24,7	20,3
0,25      "      "	23,6	25,4	23,2
0,50      "      "	23,3	23,3	23,4
1,00      "      "	21,7	21,3	21,3
2,00      "      "	20,7	20,4	20,4

1. 28. August 1886. Um 7 Uhr Abds. liess ich während eines leichten Windes aus NO. durch 5 Ccm Gelatine etwa 500 Ccm Luft gehen. Sie wurde 48 Stunden zum Vegetiren aufgestellt.

2. 30. August. In der Gelatine wurde eine überaus reichliche Entwicklung von *Bacillus malariae*, ausserdem andere kleine Bacillen und Micrococcen gefunden, ferner eine Schimmelbildung.

3. 31. August. Die *Bacillus malariae* bilden eine sehr dichte Zoogloea an der Oberfläche der Gelatine; dieselbe ist vollkommen rein. Die übrige Gelatine enthält verschiedene andere Bacillen und Micrococcen.

4. Aus einem Theil der Zoogloea des Malariabacillus ist eine völlig reine Kultur erzielt worden, und mit dieser werden die Injectionen der Kaninchen (S. 256) ausgeführt.

## XXIV. Versuch. Luft.

**Ort:** Luft auf dem Colle Capitolino in Pola, 30 m über dem Meeresspiegel, in der Richtung SO.

**Zeit:** 6. September 1886.

**Meteorologische Daten: Luftdruck:** Mittel 761,16, Max. 761,7, Min. 760,6.

**Temperatur:** Mittel 23,08, Max. 27,3, Min. 18,3; Min. rad. 14,5, Max. rad. 53,6.

**Richtung und Stärke des Windes:** Mitternacht N. 3, Mittel in Kilom. 11,7.

**Daten des Heliographen:** 2–4 Uhr Nachm. 1,0, Helligkeit des Sonnenschein 9,5, mögliche Sonnenscheindauer 12,59; % derselben 73,2.

**Bewölkung:** Mittel 1.

**Relative Feuchtigkeit:** Mittel 80,00, Max. 90, Min. 66.

**Dunstdruck:** Mittel 16,9, Max. 20,5, Min. 13,7.

**Ozon:** Mittel 6, **Verdunstung:** 2,05.

**Bodentemperatur:**

Tiefe.	2 Uhr Nachm.	9 Uhr Abds.	7 Uhr früh 7/9.
Oberfläche: frei.	41,0	22,3	21,0
"      bedeckt.	41,9	24,6	21,1
0,025 Meter Tiefe.	34,8	25,3	20,1
0,25      "      "	25,7	26,1	24,7
0,50      "      "	25,3	25,0	25,0
1,00      "      "	22,8	22,5	22,2
2,00      "      "	20,5	20,6	20,5

1. Am 6. September 1886, 7½ Uhr Abds., liess ich von der Luft des oben genannten Ortes ungefähr 500 cbcm durch 5 cbcm sterilisirter Gelatine gehen und in der Zimmertemperatur vegetiren.

2. 8. September, Nachm. 2 Uhr, wurde die Kultur untersucht und gefunden, dass sie aus nur sehr wenigen *Bacillus malariae* und sehr vielen Micrococcen bestand.

3. Am 10. September, Nachm. 2 Uhr, bestand die Kultur aus vielen *Bacillus malariae*, Micrococcen oder Sporen und vielen Schimmelpilzsporen.

## XXV. Versuch. Luft.

**Ort:** Luft auf der Wiese westlich vom Hügel S. Michele.

**Zeit:** 29. September 1886.

**Meteorologische Daten: Luftdruck:** Mittel 767,13. Max. 768,3. Min. 765,9.

**Temperatur:** Mittel 16,20, Max. 21,5, Min. 10,2; Min. rad. 3,8, Max. rad. 51,4.

**Richtung und Stärke des Windes:** Um Mitternacht Ruhe.

**Daten des Heliographen:** 2–4 Uhr Nachm. 1,0, Helligkeit des Sonnenschein 8,6, mögliche Sonnenscheindauer 11,47 Stdn., % derselben 73,0.

**Bewölkung:** Mittel 2.

**Relative Feuchtigkeit:** Mittel 83,0, Max. 90, Min. 60.

**Dunstdruck:** Mittel 11,4, Max. 15,6, Min. 6,2.

**Ozon:** Mittel 6, **Verdunstung:** 1,44.

**Bodentemperatur:**

Tiefe.	2 Uhr Nachm.	9 Uhr Abds.	7 Uhr früh 30/9.
Oberfläche: frei.	29,8	14,3	15,8
"      bedeckt.	29,4	15,3	15,1
0,025 Meter Tiefe.	25,4	16,8	15,5
0,25      "      "	17,7	19,7	17,9
0,50      "      "	19,1	19,0	19,1
1,00      "      "	19,8	19,5	19,6
2,00      "      "	20,3	20,3	20,5

Am 29. September um 7 Uhr Abds., liess ich durch 10 Cem Gelatine 500 Cem Luft gehen; sie wurde am 30. September, 11 Uhr Vorm. 48 Stunden lang bei 35° zum Vegetiren aufgestellt und zeigte am 2. Oktober überaus reichliche Vegetation, doch fehlte die Zeit zur mikroskopischen Untersuchung; diese konnte erst am 13. Oktober angestellt werden; es fanden sich Bacillen, 3,4 micromm. lang und 0,8 micromm. breit, die aber nicht Malariabacillen waren.

## XXVI. Versuch. Luft.

**Ort:** Villa Nölting, in der Nähe des Marinehospitals, 28 m über dem Meeresspiegel.

**Zeit:** Mitte November.

**Meteorologische Daten:** Unbestimmbar, da der Beobachtungstag nicht genau verzeichnet wurde; doch war es ein schöner, mässig heisser Tag.

Der Versuch wurde mit den Koch'schen Apparaten ausgeführt, die im Garten, auf dem Erdboden und in einem anstossenden Hofe auf das Dach eines einige Meter hohen Gebäudes aufgestellt wurden. Die Apparate wurden 24 Stunden stehen gelassen und ergaben eine überaus reichliche Entwicklung des *Bacillus malariae*, abgesehen von anderen Mikrophyten.

Dieses Resultat ist von besonderer Wichtigkeit, weil es an einem Orte erzielt wurde, wo sich einige Monate früher die Malariabacillen nur sehr vereinzelt vorgefunden hatten. (Siehe Versuch IV.) Aber heute herrschte die Malaria an diesem Orte, am Tage des IV. Versuch war der Ort immun.

## Schlussfolgerungen.

Diese Versuche, die sowohl in der Luft, als auch in den verschiedenen Wasserläufen des Gebietes von Pola ausgeführt wurden, ergeben als Resultat: dass der Malariabacillus vorzugsweise in der Luft vorkommt.

dass er sich selten in Gewässern, besonders wenn sie starkes Gefälle haben, findet;

dass die von ihm bevorzugten Gegenden diejenigen sind, wo sich feuchter, aber nicht mit Wasser bedeckter Boden befindet;

dass mit dem Wachsen der Temperatur der Luft und des Bodens auch seine Keime sich vermehren.

## Figuren-Erklärung.

### Tab. IX. *Bacillus Malariae* Klebs et Tomm. Crud.

Fig. 1—3. Photogramme des *Bacillus Malariae*, angefertigt in Breslau von F. Schmidt nach Präparaten von Dr. Schiavuzzi in Pola. Vergr. 1:1000.

Fig. 1. u. 2. Bacillen: Fig. 1 auf hellem, Fig. 2 auf dunklem Grunde.

Fig. 3. Sporen von einer während des Sommers 1887 in Breslau auf *Agar Agar* übertragenen und bei 35° fortgezüchteten Reincultur des *Bacillus Malariae*, welche Dr. Schiavuzzi Mitte Juni aus Pola eingesendet hatte.

Fig. 4. Entwicklungszustände des *Bacillus Malariae*, gezeichnet nach den bei Fig. 3 erwähnten in Breslau auf *Agar Agar* gezüchteten Reinculturen. Der *Bacillus* bildete auf *Agar Agar* eine dünne, sich weit ausbreitende weissgraue Schleimschicht; die Stäbchen, welche theilweise in längere Fäden auswachsen, bleiben bei niederer Temperatur steril; bei Temperaturen über 30° entwickeln sich sehr reichlich ovale, stark lichtbrechende Sporen in der Mitte der Stäbchen; sind diese kettenartig in Fäden gereiht, so finden sich die Sporen in grösserer Zahl in weiteren oder kürzeren Abständen im Verlauf der Fäden. Bei gehemmtem Wachsthum sind die Fäden geschlängelt, in Schlingen wellig gebogen und selbst knäuelartig umeinander gewunden. Nach einiger Zeit zerfallen die Fäden vollständig unter Freilassen der Sporen, wie Fig. 4 zeigt. Gelatine wird durch den *Bacillus* verflüssigt, der dann eine ein Paar mm dicke Schicht auf der Gelatine bildet.

Fig. 5. Veränderungen der Blutkörperchen eines mit *B. Malariae* injicirten Kaninchen (S. 257 u. 259), gezeichnet von Dr. Schiavuzzi. Im Blutserum finden sich einige sehr kleine Bacillen (a) und andere Körperchen (b). Ausser den normalen rothen Blutkörperchen finden sich auch verunstaltete (c), als hätten sie einen Theil ihres Inhalts verloren. Bei der Färbung mit Metylenblau fanden sich Blutkörperchen, welche in der Mitte grössere oder kleinere, stärker lichtbrechende, blau gefärbte Scheiben enthielten (d). In andern Präparaten hatten die Blutkörperchen sonderbare Formen angenommen (e), das Protoplasma bildete in denselben eine gesonderte, Plasmodienartige Masse bald in Form einer Scheibe, bald eines Biscuits, welche herauszutreten schien.



# Die Entwicklung der Sporangien bei den Saprolegnieen.

Ein Beitrag zur Kenntniss der freien Zellbildung.

Von

W. Rothert in Strassburg i./Els.

Hierzu Tafel X.

## Verzeichniss der zu citirenden Arbeiten.

1. DE BARY: Beitrag zur Kenntniss der *Achlya prolifer* (Bot. Ztg., 1852, pag. 473—479, 489—496, 505—511).
2. " " Einige neue *Saprolegnieen* (Pringsh. Jahrb., Bd. II., pag. 169 bis 192, besonders pag. 170—175).
3. " " Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Pilze, von A. DE BARY und M. WORONIN. 4. Reihe. Untersuchungen über die *Peronosporeen* und *Saprolegnieen* und die Grundlagen eines natürlichen Systems der Pilze. (Separatabdruck aus Abhandl. d. Senckenb. naturf. Gesellsch., Bd. XII., 1881.) Kapitel 7, 9, 15.
4. " " Zu PRINGSHEIM'S Neuen Beobachtungen über den Befruchtungsakt der Gattungen *Achlya* und *Saprolegnia*. (Bot. Ztg. 1883, pag. 38—46, 44—60.)
5. " " Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze etc. 1884, pag. 79—80, 87—88.
6. BRAUN. ALEX: Betrachtungen über die Erscheinung der Verjüngung etc., 1849—1850, pag. 197—199, 286—289.
7. BÜSGEN: Die Entwicklung der Phycomyceten-Sporangien. Inaug. Dissert. (Separatabdruck aus Pringsh. Jahrb., Bd. XIII, 1882.)
8. CORNU: Causes qui déterminent la mise en liberté des corps agiles (zoospores, anthérozoïdes) chez les végétaux intérieurs. (Comptes rendus, 5. Nov. 1877.)
9. LEITGEB: Neue *Saprolegnieen* (Pringsh. Jahrb., Bd. VII., pag. 357—389.
10. MARSHALL WARD: Observations in *Saprolegnieae*. (Quart. Journ. Micr. Sc., new ser., vol. XXIII, pag. 271—290.)
11. PFEFFER: Pflanzenphysiologie, Bd. II., pag. 398.

12. PFEFFER: Locomotorische Richtungsbewegungen durch chemische Reize. (Untersuchungen aus dem botanischen Institut zu Tübingen. Bd. I, Heft III, 1884, pag. 363—483. Besonders Kapitel X und XI, pag. 449—468.)
13. PRINGSHEIM: Die Entwicklungsgeschichte der *Achlya prolifera*. (Nova Acta Acad. C.-L. C., vol. XXIII, pars 1, 1851, pag. 397 bis 460. Besonders pag. 400—409.)
14. : Ueber Cellulinkörner, eine Modification der Cellulose in Körnerform. (Berichte d. d. bot. Gesellsch., Bd. I, 1883, pag. 288 bis 308.)
15. SCHMITZ: Ueber die Zellkerne der Thallophyten. (Separatabdruck aus Sitzungsber. d. niederrh. Gesellsch. f. Natur- und Heilkunde in Bonn, 4. August 1879.)
- 16, 17. STRASBURGER: Zellbildung und Zelltheilung. 1. Auflage, 1875, pag. 101—102, 158—160, 161; 2. Auflage, 1876, pag. 103 bis 104, 168—170, 171—172. (Darstellung in beiden Auflagen übereinstimmend.)
18. : Zellbildung und Zelltheilung. 3. Auflage, 1880, pag. 56—59, 61, 220.
19. THURET: Recherches sur les zoospores des algues. (Ann. d. sc. nat., Botan., sér. III t. 14, 1850, pag. 214—260.)
20. UNGER: Einiges zur Lebensgeschichte der *Achlya prolifera*. (Linnaea, 1843, pag. 129—152.)
21. WALZ: Ueber die Entleerung der Zoosporangien. (Bot. Ztg. 1870, pag. 689—691, 703—707.)

## Historisches. Gang der Untersuchung.

Die Sporangien der *Saprolegnien* haben schon früh die Aufmerksamkeit der Botaniker auf sich gezogen; von den vierziger Jahren an haben Forscher wie UNGER, AL. BRAUN, PRINGSHEIM, DE BARY u. a. sie zum Gegenstande ihrer Untersuchungen gemacht. Die Arbeiten derselben sind, wenn sie auch einander mehrfach widersprechen, auch jetzt noch von bedeutendem, mehr als historischem Werth, denn manches ist in ihnen richtiger dargestellt, als in den späteren Arbeiten<sup>1)</sup>. Sie befassen sich aber meist nicht oder nur wenig mit den feineren Details der Sporendifferenzirung: jenen älteren Forschern kam es nämlich wesentlich nur darauf an, den Entwicklungsgang der *Saprolegnien* kennen zu lernen.

Aber auch vom Standpunkt der Zellenbildungslehre bieten die *Saprolegnien*-Sporangien ein hervorragendes Interesse dar, da sie ein exquisit

<sup>1)</sup> Eine eingehende und, wie ich mich überzeugt habe, vollständige Zusammenfassung dieser älteren Literatur findet sich in BUSGEN'S Dissertation (7, pag. 2—7); ich kann hier den Leser um so eher darauf verweisen, als ich im Verlaufe meiner Abhandlung mehrfach näher auf die Literatur einzugehen haben werde.

günstiges Object sind, um die freie Zellbildung an lebendem Material direct zu beobachten und die Details des Vorganges zu verfolgen. Von diesem Gesichtspunkt aus haben in neuerer Zeit STRASBURGER (16 und 17, zuletzt 18) und BUSGEN (7) dieselben von neuem der Untersuchung unterworfen, die Resultate der Vorgänger zum Theil bestätigend und manche neue Beobachtungen hinzuzufügend. Seitdem hat sich nur hoch MARSHALL WARD (10) mit diesem Gegenstande beschäftigt, aber abgesehen von der viel geringeren Genauigkeit der Darstellung, weichen seine Resultate nicht von denjenigen BUSGEN'S ab. Auch die Darstellung in dem letzten Werke DE BARY'S (5, pag. 79—80) fusst auf der Arbeit BUSGEN'S. Die Arbeiten STRASBURGER'S (und zwar die Darstellung in der dritten Auflage seines Werkes, die sich von derjenigen in den beiden ersten wesentlich unterscheidet) und BUSGEN'S repräsentiren somit den gegenwärtigen Stand unserer Kenntnisse in der vorliegenden Frage und seien daher ihre wesentlichen Resultate hier kurz angeführt.

In dem Sporangium von *Saprolegnia* nimmt das Protoplasma nach STRASBURGER allmählig eine netzförmige Struktur an und wird alsbald durch Zellplatten, die aus unregelmässig angeordneten, ungleich grossen Körnern bestehen, in annähernd gleiche Portionen gesondert; es sind das dieselben Körner, die vorher gleichmässig im Plasma vertheilt waren. Die Zellplatten quellen alsdann zu einer farblosen Zwischensubstanz auf, die zunächst schmale, dann breitere Streifen bildet. Damit ist die Differenzirung der Sporen vollendet. Sie runden sich nunmehr ab, beginnen sich gegeneinander zu bewegen und schwärmen bald darauf aus, nachdem durch Quellung und schliessliche Lösung eines Membranstückes am Scheitel des Sporangiums eine Oeffnung sich gebildet hat.

Diese kurzen Angaben STRASBURGER'S werden von BUSGEN in ausführlicherer Darstellung für eine grössere Zahl von *Saprolegnieen* im wesentlichen bestätigt, bis auf die je nach der Gattung wechselnde Art und Weise der Entleerung; nur *Aphanomyces* verhält sich nach beiden Forschern abweichend. — BUSGEN fügt aber ferner, ausser einigen Details, eine wichtige, für alle von ihm untersuchten *Saprolegnieen* giltige Beobachtung hinzu: in einem gewissen Zeitpunkt nämlich quellen die schon völlig getrennten Sporen plötzlich auf und verschmelzen mit einander, so dass das Sporangium nunmehr ganz von Protoplasma ausgefüllt wird, welches feinkörniger und durchsichtiger als früher geworden ist („homogener Zustand“); alsbald treten wechselnde kleine Vacuolen auf, die nach kurzer Zeit schwinden. Dann wird das Protoplasma abermals in Sporen getheilt und zwar ganz in derselben Weise wie das erste mal. Die Zellplatten oder „Körnerlinien“, wie B. sie nennt, treten an den Orten der früheren Trennungslinien auf, aber meist nicht alle auf einmal, sondern das Protoplasma wird zuerst in grössere Portionen zerlegt, die sich dann weiter theilen. — Es findet somit nach BUSGEN eine zweimalige Differenzirung der Sporen statt, eine vorläufige und eine definitive.

Hiermit schien nun die Frage endgiltig gelöst zu sein. Als ich indessen gelegentlich einer Untersuchung von *Saprolegnia Thureti* auch die Entwicklung einiger Sporangien verfolgte, fiel es mir auf, dass diese Species sich nicht ganz conform den mitgetheilten Angaben BÜSGEN'S verhielt. Zu der Zeit nämlich, wo der „homogene Zustand“ zu erwarten gewesen wäre, quollen die Sporen zwar beträchtlich und bis zur gegenseitigen Berührung auf, blieben aber durch scharfe Trennungslinien von einander abgegrenzt. Auch bemerkte ich, dass die Sporen vor dem Aufquellen nicht isolirt sind, vielmehr durch einen zarten, das ganze Sporangium auskleidenden Wandbeleg mit einander zusammenhängen. Durch die Feststellung dieser letzteren Thatsache war die Richtigkeit der Beschreibung, welche STRASBURGER und BÜSGEN übereinstimmend von den Vorgängen der (nach BÜSGEN vorläufigen) Sporendifferenzirung geben, in Frage gestellt und die Nothwendigkeit gegeben, die ganze Sporangienentwicklung von Anfang an bis zu Ende einer genauen Nachuntersuchung zu unterziehen. Ich beobachtete zu diesem Zwecke eine grosse Anzahl — reichlich mehrere Hundert — Sporangien von *Saprolegnia Thureti*, von verschiedenster Grösse und Gestalt; und da sich hierbei nicht nur meine ersten Beobachtungen bestätigten, sondern auch einige fernere neue Thatsachen aufgefunden wurden, so sah ich mich veranlasst, die Untersuchung auch auf andere Saprolegnieen auszudehnen. Es wurden folgende Arten — mit im wesentlichen gleichem Resultat — mehr oder weniger eingehend untersucht: *Saprolegnia Thureti*, *S. monoica*, *S. monilifera*, zwei nicht bestimmte *Saprolegnia*-Arten, *Achlya polyandra*, *Dictyuchus clavatus*. Letztere Art ist bei BÜSGEN (7, pag. 9—13) beschrieben; *S. Thureti*, *S. monoica* und *A. polyandra* sind hier in der Fassung verstanden, welche DE BARY (3, pag. 49—50, 100—104) diesen Species gegeben hat; *S. monilifera* ist von DE BARY (4, pag. 56) zwar bereits genannt, aber noch nicht beschrieben worden, da indessen diese Species in der vorliegenden Arbeit nur eine sehr unbedeutende Rolle spielt, so halte ich es für überflüssig, hier einer Beschreibung derselben durch ihren Autor vorzugreifen.

An die Erforschung der Sporangienentwicklung schloss sich eine vergleichsweise Untersuchung der Oogonienentwicklung, sowie eine Reihe von Versuchen behufs Feststellung der Ursachen der Entleerung der Zoosporen aus dem Sporangium, die jedoch zu einer völligen Aufklärung der Frage nicht führten.

Cultivirt wurden die *Saprolegnieen* auf Mehlwürmern (Larven von *Tenebrio molitor*), die auf der Oberfläche ausgekochten Wassers schwammen. Von diesen aus wurden Stücke von Fliegenbeinen inficirt und direct im Hängetropfen zur Untersuchung verwandt. Die in solchen Fliegenbeinculturen gebildeten Sporangien bleiben jedoch meist klein und erreichen nie die Dimensionen derjenigen, welche in den Mehlwurmculturen entstehen. Um auch diese in bequemer Weise untersuchen zu können, verfuhr ich folgendermaassen. Es wurden einzelne ausgewählte Sporangien, meist aber ganze Rasenstücke nahe am Substrat abgeschnitten, auf ein Deckglas vorsichtig

übertragen und hier in einem möglichst flachen Hängetropfen ausgebreitet, so dass das ganze Material auch für starke Systeme <sup>1)</sup> zugänglich war. Es stellte sich heraus, dass bereits abgegrenzte Sporangien von dem Durchschneiden des Tragfadens nicht im geringsten afficirt wurden, vielmehr sich durchaus normal und ungestört weiter entwickelten. Uebrigens schliessen sich die durchschnittenen Fäden alsbald wieder, wachsen weiter und bilden neue Sporangien, so lange bis fast das gesammte Protoplasma des abgeschnittenen Materials in Zoosporen übergeführt ist. Es ist somit das Abschneiden geradezu ein Mittel, um künstlich eine ausserordentlich reichliche Sporangienbildung zu erzielen; ein grösseres abgeschnittenes Rasenstück kann, geeignet aufbewahrt, mehrere Tage hindurch Material zu ununterbrochener Untersuchung liefern. Man erhält so in demselben Präparat Sporangien von sehr verschiedener Grösse und Beschaffenheit, die aber vollkommen normal sich entwickeln; nur sind sie, besonders die später gebildeten, häufig ungewöhnlich protoplasmaarm, dadurch aber gerade sehr günstig, weil solche einen besonders klaren Einblick in manche sonst schwer wahrnehmbare Details gestatten. Es ist also das abgeschnittene Material, wo verwendbar, den Fliegenbeinculturen in mancher Hinsicht bedeutend vorzuziehen und ich habe, als ich das einmal bemerkt hatte, vorwiegend mit demselben gearbeitet.

Die vorstehende Arbeit wurde vom December 1885 bis Juni 1886 im botanischen Institut zu Strassburg ausgeführt. Ich ergreife mit Freuden die Gelegenheit, um dem Leiter desselben und meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. DE BARY, der mich vielfach mit seinem werthvollen Rath unterstützte und mich mit Material und Literatur in der liebenswürdigsten Weise versah, an dieser Stelle meinen wärmsten Dank auszusprechen.

Diese Arbeit erschien in polnischer Sprache in „Rozprawy i Sprawozdania Akademii Umiejętności, Wyzd. mat.-przyr., t. XVII pag. 1, 1887“ (Verhandlungen und Berichte der Krakauer Akademie der Wissenschaften, math.-naturw. Klasse). Die vorstehende deutsche Ausgabe ist ausser einigen kleineren Veränderungen und Zusätzen, um den Anfang des III. Kapitels sowie um einen Nachtrag vermehrt worden.

## Kapitel I.

### *Saprolegnia Thureti*, *S. spec. 1*<sup>2)</sup> und *S. monoica*.

Die Untersuchung dieser drei Arten, von denen allen sehr zahlreiche Sporangien zur Beobachtung gelangten, bildet gewissermaassen den Grundstock der vorliegenden Arbeit. Sie verhalten sich in Bezug auf den Bau

1) Ich beobachtete durchgängig mit Wasserimmersion VII und Ocular O von Seibert, also bei einer als 460-fach angegebenen Vergrösserung.

2) Mit dem Namen *Saprolegnia spec. 1* bezeichne ich hier eine Form, die auf Fischeiern aus dem Schwarzwald aufgetreten war und die, obgleich völlig parasiten-

und die Entwickelung der Sporangien dermassen gleich, dass sie hier zusammen abgehandelt werden können; die wenigen Differenzen sind nur graduell.

Die Bildung eines Sporangiums wird dadurch eingeleitet, dass ein gewöhnlicher Faden sein Spitzenwachsthum verlangsamt und schliesslich einstellt, während die überwiegende nach der Spitze gerichtete Plasmaströmung in vielleicht verstärktem Maasse fort dauert, was zu einer beträchtlichen Ansammlung dichten Protoplasma's in dem, gewöhnlich schwach keulenförmig anschwellenden Fadenende führt. Wenn letzteres schon zur baldigen Abgrenzung als Sporangium bereit zu sein scheint, sieht man fortwährend noch reichliches Protoplasma in zahlreichen Strömchen demselben zueilen und darin aufgehen; dies dauert ununterbrochen so lange, bis das Auftreten der Hyaloplasmascheibe (siehe unten) den Zutritt abschneidet. Auch das im Fadenende angesammelte Protoplasma ist noch in fortwährender, wenn auch langsamer Bewegung begriffen und erfährt zuweilen sehr beträchtliche Umlagerungen. So sah ich in Fadeneenden, die vollständig mit Plasma ausgefüllt waren, dieses sich derart umlagern, dass es nur mehr einen dicken Wandbeleg bildete, einen schmalen centralen Hohlraum freilassend — und dass es sich dafür auf eine längere Strecke nach unten hin ausbreitete; und umgekehrt. — An ihrer Basis geht die Protoplasmaansammlung zunächst ganz allmählig in den dünnen Wandbeleg des Tragfadens über; später zieht sich hier das Protoplasma mehr zurück, der Uebergang wird ein plötzlicher, die Grenze zwischen dem für das Sporangium bestimmten Protoplasma und dem Wandbeleg des Tragfadens wird sehr deutlich (vgl. Fig. 1a und besonders 1b).

Nun steht die Querwandbildung nahe bevor. Plötzlich beginnt die dichte Plasmaansammlung an ihrer Basis eine matte hyaline Substanz auszuseiden (dieselbe besteht, wie noch gezeigt werden soll, aus Hyaloplasma), welche in dünner Schicht die Membran unmittelbar unter der dichten Plasmaansammlung auskleidet, hier den gewöhnlichen Plasmawandbeleg verdrängend und ver tretend. In dem Maasse als ihre Ausscheidung fort dauert, breitet sich diese Substanz sehr schnell eine kurze (Fig. 1b.) oder längere Strecke weit entlang der Membran nach der Basis des Fadens zu aus. Schliesslich hört die Ausbreitung auf, an dem unteren Endpunkt derselben staut sich das immer noch hinzuströmende Hyaloplasma und sammelt sich hier zunächst in Form eines Ringwulstes an (Fig. 1b.,  $\rho$ .), welcher an seinem freien Rande fortwächst und zuletzt in der Axe des Fadens zu einer continuirlichen Querscheibe zusammenschliesst, die feinen in longitudinaler Richtung das Zelllumen durchsetzenden Plasmaströmchen durchschneidend (Fig. 1c.,  $\rho$ .). Die fertige Hyaloplasmascheibe ist nach dem Tragfaden zu scharf abgesetzt und von einer

---

frei und obgleich ich sie über ein halbes Jahr zu den verschiedensten Jahreszeiten und unter den verschiedensten Bedingungen cultivirt habe, nicht zur Oogonienbildung gebracht werden konnte. Hiervon abgesehen, verhält sie sich besonders der *Saprolegnia monoica* so ähnlich, dass sie möglicherweise mit ihr identisch ist. Doch könnte sie auch eine selbständige, völlig oogonienlose Form sein, etwa wie *Leptomitus lacteus*.

ebenen Fläche begrenzt; nach dem Sporangium zu ist sie unregelmässig begrenzt und weniger scharf abgesetzt, an ihrer Peripherie geht sie allmählig in das dichte körnige Protoplasma des Sporangiums über; von dieser Seite her wird ihre Substanz noch eine Zeitlang vermehrt und die Scheibe kann zuletzt dicker werden als der Faden an der betreffenden Stelle breit ist. — Der ganze Vorgang findet sehr rapide statt und dauert höchstens wenige Secunden.

Nicht lange (wohl  $\frac{1}{2}$  Minute) darauf tritt an der Basis der Hyaloplasmascheibe simultan die Querwand auf, anfangs sehr verwaschen, bald aber scharf contourirt (Fig. 1c., q.). — In günstigen Fällen konnte ich noch folgendes Detail beobachten: Bald nach der Bildung der Hyaloplasmascheibe nimmt eine ziemlich breite basale Zone derselben etwas stärkere Lichtbrechung an; diese Zone wird immer schmaler und glänzender, sie hebt sich immer schärfer gegen das übrige Hyaloplasma ab, und sie ist es, die sich schliesslich zu der Querwand verdichtet. Daraus erklärt sich auch, warum die Querwand zunächst nicht scharf contourirt ist. Die Möglichkeit der Bildung der Membran aus einer aus Körnern bestehenden Zellplatte<sup>1)</sup> ist hier jedenfalls völlig ausgeschlossen.

Noch verdient folgender Umstand Beachtung. An der Basis des künftigen Sporangiums häuft sich eine auffallend grosse Menge von Cellulinkörnern<sup>2)</sup> an (c, Fig. 1a). Von dem Hyaloplasmaring werden dieselben in zwei Gruppen getheilt (Fig. 1b), deren eine in dem Tragfaden verbleibt, deren andere dem Sporangium zufällt. Während nun die erstere unverändert an Ort und Stelle bleibt, konnte ich von der anderen nach Fertigstellung der Hyaloplasmascheibe nichts mehr wahrnehmen (Fig. 1c); was aus ihnen wird, gelang mir nicht zu entscheiden. Möglich dass sie in das dichte Protoplasma des Sporangiums aufgenommen und dadurch der Wahrnehmung entrückt werden. Mir erscheint aber die andere Annahme durchaus nicht unwahrscheinlich (sie wird auch durch einen unten mitzutheilenden Fall gestützt), dass die Cellulinkörner von dem Hyaloplasma aufgenommen und hier aufgelöst werden, dass aus ihnen jene lichtbrechende Substanz und somit indirect die Querwand hervorgeht. Die Cellulinkörner sind ja eine besonders leicht lösliche Modification der Cellulose (sie lösen sich momentan in mässig concentrirter Schwefelsäure und in Chlorzinkjod, welche Agentien gewöhnliche Cellulose nur langsam resp. gar nicht angreifen), — ihre momentane Lösung in dem Hyaloplasma hätte somit nichts auffallendes. Andererseits liegt es a priori nahe zu vermuthen, dass die Cellulinkörner in Beziehung zu der Membranbildung stehen und diese Vermuthung wird gestützt durch das Verhalten der grossen Cellulinkörner bei *Leptomitus*, wo sie, sich in die Stricturen einzwängend, dieselben verschliessen, und wo sie insbesondere, nach der Angabe PRINGSHEIMS (14, pag. 303), in der nämlichen Weise die

1) STRASBURGER, 16, pag. 101—102 und 17, pag. 103—104.

2) Vgl. über dieselben PRINGSHEIM (14).

Sporangien abgrenzen. — Um aber auf den vorliegenden Fall zurückzukommen, so müssen die Cellulinkörner im Sporangium, sowohl die eben besprochenen, als auch die schon früher zusammen mit dem Protoplasma eingewanderten, jedenfalls entweder aufgelöst werden oder in sehr kleine Stückchen zerfallen, denn in späteren Entwicklungsstadien der Sporangien sind sicher keine als solche erkennbare Cellulinkörner in deren Inhalt vorhanden.

Die oben gegebene Schilderung der Bildung der Hyaloplasmascheibe gilt für diejenigen Sporangien, deren Protoplasma einen Wandbeleg bildet und ein axiles Lumen freilässt. Bei den ganz mit Protoplasma erfüllten Sporangien hingegen haben wir drei Fälle zu unterscheiden.

1. Die Ausscheidung des Hyaloplasmas und alles übrige geschieht ebenfalls ganz in der oben beschriebenen Weise; es bildet sich also eine zellsaftgefüllte Vacuole zwischen der Hyaloplasmascheibe und dem Protoplasma des Sporangiums.

2. Das Hyaloplasma wird simultan an der ganzen basalen Fläche des Protoplasmas ausgeschieden. Es bildet sich also keine Vacuole und wir haben es nicht mit einer Hyaloplasmascheibe zu thun, sondern mit einer Hyaloplasmaschicht, die in ihrer ganzen Ausdehnung unmittelbar mit dem körnigen Protoplasma des Sporangiums zusammenhängt und in dieses übergeht. Der eine Theil der Cellulinkörneranhäufung wird von dem Hyaloplasma während dessen Ausscheidung direct aufgenommen, umhüllt und aufgelöst, wie ich in diesem Fall unmittelbar beobachten konnte. — Dieser Modus scheint bei ganz gefüllten Sporangien der häufigste zu sein.

3. Das Hyaloplasma wird ebenfalls simultan ausgeschieden, aber noch innerhalb der dichten Plasmaanhäufung, sodass eine basale Portion der letzteren ausserhalb des Sporangiums bleibt und dem Tragfaden zufällt. Die feineren Details sind in diesem für die Beobachtung ungünstigsten Falle nicht zu verfolgen. Cellulinkörner werden hierbei nicht aufgenommen; wenn also die Querwand indirect aus Cellulinkörnern hervorgeht, so müssen in diesem Falle früher eingewanderte, schon in der dichten Protoplasmaansammlung enthaltene zu der Bildung derselben verbraucht werden.

Die während der Querwandbildung stattfindende Verkürzung des ganzen Fadens kann erst weiter unten besprochen werden.

Die früheren Beobachter machen meist gar keine Angaben über die Details der Querwandbildung. Nur STRASBURGER giebt eine kurze Schilderung des Vorganges (16, pag. 101—103; 17, pag. 103—104; 18, pag. 220); seine letzte Darstellung stimmt im wesentlichen gut mit der vorliegenden überein.

Mit der Bildung der Querwand ist das Sporangium als solches constituirt. Betrachten wir zunächst seinen Bau in diesem Stadium. Die gewöhnlichen, normal gestalteten Sporangien sind lang cylindrisch, im Durchschnitt etwa 6—10mal so lang als dick, übrigens von sehr wechselndem Verhältniss der

Dimensionen; in der Mitte sind sie meist nur wenig oder nicht angeschwollen, an der Spitze abgerundet. Daneben kommen aber auch alle möglichen anderen Gestalten vor: lang fadenförmige, keulenförmige, kugelige, in verschiedener Weise gekrümmte, eingeschnürte, gegabelte etc.; zumal in Fliegenbeinculturen und in abgeschnittenem Material finden sich manchmal geradezu phantastische Formen, die sich aber nichtsdestoweniger durchaus normal entwickeln. — Gewöhnlich sind die Sporangien terminal, doch sind auch intercalare, zumal in abgeschnittenem Material, keine Seltenheit. — Die Grösse der Sporangien ist ebenfalls ungemein variabel; einen Maassstab dafür kann die Zahl der gebildeten Sporen abgeben, da diese keine merklichen Grössendifferenzen zeigen: während die grössten auf Mehlwürmern entstehenden Sporangien reichlich viele Hunderte Sporen enthalten, bilden sich in den kleinsten Fliegenbeinsporangien deren weniger als 10; wiederholt habe ich zweiseporige Sporangien beobachtet, einsporige dürften möglicherweise auch vorkommen. — Die Membran der Sporangien ist sehr dünn, nicht merklich dicker als diejenige der vegetativen Fäden; vor der Trennung der Sporen ist sie nur schwer wahrzunehmen (in den Figuren ist sie nur durch einfachen Contour angedeutet). Sie ist zunächst von ringsum gleichmässiger Beschaffenheit, abgesehen von der meist derberen und deutlich doppelt contourirten Querwand.

Der Inhalt besteht aus gleichmässig körnerreichem Protoplasma. Wir haben zu unterscheiden zwischen solchen Sporangien, die vollkommen mit Protoplasma erfüllt sind (gefüllte Sporangien will ich sie nennen), und solchen wo das Protoplasma nur einen Wandbeleg bildet und einen axilen zellsafterfüllten Hohlraum frei lässt, den ich fortan mit STRASBURGER als Lumen<sup>1)</sup> des Sporangiums bezeichnen werde. Dieses Lumen ist gewöhnlich in transversaler Richtung durchsetzt von zahlreichen zarten, geraden oder geschlängelten Hyaloplasmafäden, sowie von körnerführenden Plasmasträngen; nicht selten auch ist es durch dünnere oder dickere Protoplasmaplatten in mehrere Etagen getheilt.

Gefüllt pflegen namentlich die ganz kleinen und die sehr schmalen Sporangien zu sein; die grossen und mittelgrossen Sporangien hingegen enthalten mit seltenen Ausnahmen ein Lumen. Unter diesen nicht gefüllten Sporangien haben wir ferner zwei Specialfälle zu unterscheiden: Entweder ist nämlich der Protoplasmawandbeleg dünn, meist beträchtlich dünner als die Höhe der späteren Sporenanlagen; diese Sporangien bezeichne ich als inhaltsarme<sup>2)</sup>, sie finden sich häufig in abgeschnittenem Material, sonst nur ausnahmsweise. Oder aber der Wandbeleg ist dick, und zwar hat er eine ziemlich constante, der Höhe der späteren Sporenanlagen gleiche Dicke, so dass mit dem Durchmesser der Sporangien nur die Weite des Lumens,

1) Dieser Ausdruck ist zwar genau genommen falsch, aber er ist kurz und bequem und schliesst Missverständnisse und Verwechslungen aus, was z. B. der Ausdruck Vacuole nicht thut.

2) Der Kürze wegen, statt des genaueren Ausdrucks „protoplasmaarme.“

nicht aber die Dicke des Wandbeleges variirt; diese Sporangien, die ich normale nennen will, sind die bei weitem häufigsten, bei kräftiger Entwicklung auf günstigem Substrat fast die einzig vorkommenden.

Ich unterscheide diese drei Kategorien von Sporangien, normale, inhaltsarme und gefüllte, weil dieselben in ihrer späteren Entwicklung eine nicht unwesentliche Verschiedenheit zeigen. Uebrigens braucht es wohl kaum besonders hervorgehoben zu werden, dass diese Kategorien nicht ganz scharf von einander getrennt sind, sondern dass vielfache Uebergänge oder richtiger Combinationen zwischen ihnen vorkommen. So gibt es z. B. Sporangien, die zwar grösstentheils gefüllt sind, an einer oder mehreren Stellen aber kleine Lumina enthalten; solche, die einen dünnen Wandbeleg führen, an ihrem Ende aber in einen ganz mit Protoplasma erfüllten schmalen Faden auslaufen; andere, deren Wandbeleg zwar grösstentheils dick ist, aber nach dem einen Ende zu sich verschmälert; etc. In diesen, übrigens seltenen, gemischten Sporangien lassen sich die oben genannten Bezeichnungen für die einzelnen Particellen des Sporangiums verwenden, so dass man z. B. von einem gefüllten, nur an der Basis normalen Sporangium reden kann.

Nachdem wir uns so über die Beschaffenheit des Materials orientirt haben, mit dem wir operiren werden, können wir zur Verfolgung der in dem soeben abgegrenzten Sporangium auftretenden Veränderungen übergehen.

Die ersten Veränderungen werden in der basalen Partie bemerklich. Wo das Hyaloplasma in seiner ganzen Breite direkt an das körnige Plasma angrenzt und in dasselbe übergeht, wandern die Körner allmählig in ersteres ein, so dass bald das ganze Sporangium von gleichmässig körnigem Protoplasma erfüllt ist. — Anders in den nicht gefüllten Sporangien. Hier zieht sich zunächst die Hauptmasse des Protoplasma's weiter von der Querwand zurück und bleibt mit der dicken, der Querwand anliegenden Hyaloplasmaschicht nur durch einen ganz dünnen hyaloplasmatischen Wandbeleg sowie durch einige zarte, longitudinal verlaufende Plasmafäden verbunden; das Lumen ist also jetzt an der Basis des Sporangiums sehr breit, in dem übrigen Theil desselben verschmälert es sich beträchtlich. Nun treten in der Hyaloplasmaschicht einige Vaeuolen auf, die sich beträchtlich vergrössern und zuletzt mit dem Lumen in offene Communication treten; dabei wird die Hyaloplasmaschicht allmählig immer dünner und bildet schliesslich nur noch einen Wandbeleg, der nicht dicker ist als derjenige an den angrenzenden Theilen der Seitenwände. Darauf beginnt die Hauptmasse des Protoplasma's wieder nach der Querwand zurückzukehren, der Wandbeleg in dem basalen Theil des Sporangiums wird dicker, sowohl an den Seitenwänden als an der Querwand, und zwar nimmt er hier dieselbe Beschaffenheit an wie anderswo, indem Körner in das Hyaloplasma einwandern. Diese letztere Bezeichnung, die wir bisher für die „matte hyaline Substanz“ vorweggenommen haben, wird jetzt gerechtfertigt erscheinen. Die Thatsachen, dass in ihr Vaeuolen auftreten und dass sie durch Einwanderung von Körnern wieder in gewöhnliches Protoplasma verwandelt wird, beweisen die hyaloplasmatische Natur dieser Substanz.

Ungefähr zu Beginn dieser Vorgänge wird die Querwand in den Tragfaden vorgewölbt. Es geschieht das nicht stets; zumal in kleinen Sporangien bleibt die Querwand häufig plan oder wird gar in das Sporangium hineingewölbt (vgl. Fig. 11, 13). Grössere Sporangien aber, besonders die normalen, haben fast ausnahmslos eine mehr oder weniger convex, bis zu halbkugelig vorgewölbte Querwand (*q*, Fig. 1 d).

Wenn die Querwand bereits vorgewölbt und das Hyaloplasma verschwunden ist, ist das Protoplasma in dem Sporangium noch keineswegs ganz gleichmässig angeordnet. Es hat ein streifiges oder wolkig-flockiges Aussehen, was auf einer ungleichmässigen Vertheilung der Körnchen beruht, und bildet in nicht gefüllten Sporangien einen unregelmässigen Wandbeleg, der in verschiedenen Theilen des Sporangiums verschieden dick ist. Es finden auch noch fortwährende langsame Bewegungen und Umlagerungen des Protoplasma statt, die eine längere, im übrigen nicht genau bestimmte Zeit dauern und zuletzt dahin führen, dass das Protoplasma in seiner ganzen Masse ein homogen körniges Aussehen annimmt und in den nicht gefüllten Sporangien einen Wandbeleg von ringsum gleicher oder doch fast gleicher Dicke bildet (Fig. 1 d).

Die älteren Autoren, UNGER (20), BRAUN (6, pag. 287), PRINGSHEIM (13, pag. 401—402), DE PARY (1, pag. 477) behaupten, dass das Sporangium nach seiner Abgrenzung stets ganz gefüllt ist und dass erst nachträglich ein Lumen in ihm entsteht. Nach BRAUN treten der Axe entlang mehrere Vacuolen auf, die dann sich zu einem axilen Hohlraum vereinigen. UNGERS Angabe über das Auftreten einer Areola, die sich bald wieder zu verkleinern beginnt und ausser der dann „einige ähnliche Flecke“ entstehen, ist unverständlich. — Ueberdies geben UNGER und PRINGSHEIM an, dass das Sporangium nach seiner Abgrenzung noch wachse. STRASBURGER und BUSGEN berühren diese Punkte nicht.

Ich kann diese beiden Angaben der älteren Autoren im allgemeinen nicht bestätigen. Nur ein einziges mal finde ich in meinen Notizen die nachträgliche Bildung eines Lumens angegeben und zwar in der von BRAUN beschriebenen Weise. Sonst fand ich in denjenigen nicht gefüllten Sporangien, die ich von Anfang der Entwicklung an beobachtet habe, stets das Lumen schon vor deren Abgrenzung ausgebildet. In Fällen, wo das später zu einem nicht gefüllten Sporangium werdende Fadenende ganz mit Protoplasma erfüllt war, fand, wie schon oben beschrieben, zuerst eine zur Bildung eines Lumens führende Umlagerung, dann erst die Abgrenzung durch eine Querwand statt. Die nachträgliche Bildung des Lumens dürfte somit zu den seltenen Ausnahmen gehören. — Und was das Wachstum der Sporangien betrifft, so zeigten mir zahlreiche Messungen, dass ein nachweisbares (ca.  $\frac{1}{2}$  % der ursprünglichen Länge übersteigendes) Wachstum nach der Abgrenzung überhaupt nicht stattfindet, wenn man von der Vorwölbung der Querwand und der gleich zu besprechenden Bildung des Fortsatzes absieht;

eine Verlängerung der Seitenwände des Sporangiums findet nicht statt; Ausnahmen hiervon fand ich nur bei *Saprolegnia spec. 2* (siehe unten). — Diese beiden Regeln gelten nicht nur für die hier besprochenen *Saprolegnia*-Arten, sondern allgemein für die von mir untersuchten *Saprolegnien*.

Die Bildung des Fortsatzes (Fig. 2) findet gewöhnlich kurz vor dem Beginn der Differenzirung der Sporenanlagen statt, mitunter aber auch schon früher (einmal sah ich ihn sogar noch vor der Querwandbildung entstehen), oder später, gleichzeitig mit der Differenzirung. Derselbe bildet sich normaler Weise am Scheitel des Sporangiums, seltener an einer beliebigen anderen Stelle. Seine Bildung wird damit eingeleitet, dass an dem abgerundeten Scheitel des Sporangiums (Fig. 2a) sich Hyaloplasma ansammelt, zuerst nur in dem Mittelpunkt an einer kleinen scharf umschriebenen Stelle auftretend, hier die Membran ein klein wenig spitz vorwölbend. In dem Maasse als sich die Hyaloplasma-Ansammlung zunächst ausbreitet und dann in die Dicke wächst, treibt sie auch die Membran mehr und mehr vor (Fig. 2b.), bis zuletzt der Fortsatz die Gestalt eines an der Spitze etwa halbkugelig zugerundeten Cylinders angenommen hat, der fast ganz von Hyaloplasma ausgefüllt wird (Fig. 2c); dann steht das Wachstum still. Die Dimensionen des Fortsatzes sind sehr variabel; seine Breite schwankt zwischen etwa  $\frac{1}{3}$  bis zu über  $\frac{3}{4}$  des Sporangiumdurchmessers, seine Länge zwischen etwa  $\frac{1}{5}$  bis zum doppelten seiner Breite. Schmale Fortsätze pflegen lang, breite kurz zu sein; Fig. 2c stellt einen mittleren Fall dar. Die Membran des Fortsatzes, besonders die Endwand, ist matt, weniger scharf contourirt als die übrige Sporangienmembran, ihre Abgrenzung gegen das Protoplasma ist ziemlich undeutlich. Es besteht offenbar hier ein viel innigerer Zusammenhang zwischen Membran und Protoplasma als im übrigen Sporangium; behandelt man auf diesem oder einem beliebigen späteren Stadium (vor der Trennung der Sporen) mit starker Rohrzucker- oder Kochsalzlösung, so zieht sich alsbald der Plasmawandbeleg weit von der Membran zurück, nur an der Endwand des Fortsatzes haftet er mit grosser Beharrlichkeit. — Nach der Fertigstellung des Fortsatzes beginnen Körner in das Hyaloplasma einzuwandern, bis sein Inhalt wieder dieselbe Beschaffenheit wie das übrige Protoplasma angenommen hat (Fig. 2d); meist bleibt nur eine ganz dünne kaum merkbare Hyaloplasmaschicht zwischen Endwand und Körnerplasma; mitunter bleibt diese Schicht aber auch dicker, und sehr kurze Fortsätze können sogar ganz von Hyaloplasma erfüllt bleiben.

Bei *Saprolegnia Thureti* pflegt der Fortsatz im allgemeinen kürzer als bei *S. monoica* und *S. spec. 1* zu sein, doch ist dies kein durchgreifender Unterschied.

Ist der Protoplasma wandbeleg gleichmässig geworden und der Fortsatz gebildet, so beginnen alsbald die Vorbereitungen zur Differenzirung der Sporenanlagen. Jetzt zeigt sich eine Verschiedenheit in dem Verhalten der

drei oben unterschiedenen Kategorien von Sporangien; betrachten wir zunächst die normalen. Die Vorbereitungen zur Differenzirung bestehen hier darin, dass in dem Protoplasma wandbeleg schmale und tiefe, aber nicht bis zur Membran durchgehende senkrechte Spalten auftreten: dieselben sind, wie die Oberflächenansicht zeigt, von verschiedener Ausdehnung, hängen nicht miteinander zusammen und verlaufen in verschiedenen Richtungen, ohne eine bestimmte Regelmässigkeit in ihrer Anordnung zu verrathen. Sie entstehen nicht durch allmählig zunehmende Einschnürung des Wandbeleges von dem Lumen aus, sondern treten, soweit sich feststellen lässt, sofort in ihrer definitiven Tiefe auf. Diese Spalten sind nicht stabil, sie verschwinden vielmehr bald und neue treten an denselben oder anderen Stellen wieder auf, welches Spiel eine Zeitlang andauert. Endlich schliessen die Spalten zu einem ziemlich regelmässigen Netz zusammen, das nunmehr stabil bleibt und den Protoplasma-Wandbeleg in ungefähr gleich grosse polygonale Portionen zerklüftet. Das Zustandekommen der netzförmigen Anordnung geschieht im ganzen Sporangium gleichzeitig und so plötzlich, dass sich der Uebergang von den unregelmässigen isolirten Spalten zu dem netzförmigen Stadium nicht verfolgen lässt. So viel glaube ich indessen mit Sicherheit constatirt zu haben, dass der Wandbeleg nicht etwa zuerst in grössere Portionen zerklüftet wird, die sich dann weiter spalten; das Netzwerk tritt vielmehr simultan in seiner definitiven Anordnung auf.

Das anfänglich etwas undeutliche und nicht scharf contourirte Spalten-Netzwerk tritt bald deutlicher und schärfer hervor, und damit ist die Differenzirung der Sporenanlagen beendet. Die Spalten erscheinen jetzt im optischen Längsschnitt meist ganz deutlich als vom Lumen ausgehende, die Membran nicht erreichende Einschnürungen des protoplasmatischen Wandbeleges. Die Fig. 3 und 4 stellen Theile von Sporangien in diesem Stadium dar, erstere in der Oberflächenansicht, letztere im optischen Längsschnitt.

Die anfängliche unvollkommene Deutlichkeit und Schärfe des die Sporenanlagen umgrenzenden Netzwerkes beruht darauf, dass die dasselbe bildenden Spalten nicht continuirlich sind, sondern dass sie durch zahlreiche schmale von einer Sporenanlage zur anderen laufende Plasmaverbindungen unterbrochen und in eine Reihe von Punkten und Strichen aufgelöst werden; bald aber verschwinden diese Plasmaverbindungen grösstentheils, indem sie in die Sporenanlagen eingezogen werden, es persistiren meist nur wenige; die Reihen von Punkten und Strichen vereinigen sich zu nur stellenweise unterbrochenen Linien, und nunmehr tritt das Netzwerk von Spalten (oder Grenzlinien, als welche die Spalten in der Oberflächenansicht erscheinen) scharf und auf den ersten Blick erkennbar hervor. — Diese Thatsachen hatte ich bei *Saprolegnia* anfangs übersehen und bemerkte sie zuerst bei *Achlya*; in günstigen Sporangien von *Achlya polyandra* trat das beschriebene Verhalten durchaus klar hervor; eine wiederholte Untersuchung zeigte, dass *Saprolegnia* sich im wesentlichen ebenso verhält, dass aber das Vorhandensein und spätere Schwinden der Plasmaverbindungen hier schwerer

zu constatiren ist, weil sie weniger zahlreich und weniger regelmässig angeordnet sind, überhaupt die ganze Erscheinung weniger auffallend ist. — Aber noch ein zweiter Umstand kann es sein, welcher die anfängliche Unklarheit des Bildes bewirkt. Die Sporenanlagen werden nämlich nicht immer durch einfache Spalten von einander abgegrenzt, sondern es kann sich auch noch Protoplasma zwischen ihnen befinden; wir sehen alsdann zwischen zwei Sporenanlagen zunächst beiderseits je eine (unterbrochene) Grenzlinie, und zwischen diesen einen breiteren oder schmäleren Streifen Protoplasma, das erst später bis auf geringe Reste in die Sporenanlagen eingezogen wird. Kleinere Mengen Protoplasma bleiben übrigens fast allgemein ausserhalb der Sporenanlagen; auch in dem zuerst beschriebenen Falle einfacher Grenzlinien befinden sich gewöhnlich stellenweis, besonders in den Ecken zwischen mehreren Sporenanlagen, einzelne Plasmakörner (vgl. Fig. 3) oder grössere Plasmastückchen ( $\rho$ , Fig. 4), die bis zur Trennung der Sporen persistiren können.

Die Zeit von der Abgrenzung des Sporangiums bis zur vollendeten Differenzirung der Sporenanlagen dauert in der Regel ziemlich genau eine Stunde.

In im Grunde wenig abweichender Weise geht Sporenanlagen-Differenzirung in gefüllten Sporangien vor sich. Der Unterschied ist nur der, dass die Grenzlinien nicht von einem Lumen ausgehende, einen Wandbeleg zerklüftende Einschnürungen, sondern mitten in dem Protoplasma auftretende, allseitig von diesem umgebene Spalten sind. In sehr schmalen Sporangien (Fig. 14) bildet sich gewöhnlich eine Spalte, die im optischen Längsschnitt als eine mehr oder weniger regelmässige, zusammenhängende Wellen- oder Zickzacklinie erscheint, die das Protoplasma in zwei alternirende Reihen von Sporenanlagen zerklüftet. Seltener entsteht nur eine Reihe von Sporenanlagen, die den Querschnitt des Sporangiums ganz ausfüllende Protoplasmagürtel darstellen; in diesem Falle treten isolirte, senkrecht oder etwas schräg zur Längsachse des Sporangiums stehende Spalten auf. In etwas breiteren Sporangien sieht man eine gerade längsverlaufende Spalte sich bilden, von der aus beiderseits ungefähr senkrecht ausgehende Abzweigungen die Sporenanlagen trennen. — In den grossen und dicken gefüllten Sporangien, welche ausser einer wandständigen Schicht noch eine oder mehrere centrale Reihen von Sporenanlagen enthalten, sind die Vorgänge schwer mit Sicherheit zu verfolgen; man sieht, dass die wandständigen Sporenanlagen ebenso gebildet werden, als ob das Innere des Sporangiums von einem Lumen eingenommen wäre, d. h. sie werden durch senkrecht zur Membran verlaufende, bis in die Nähe dieser reichende Spalten getrennt; was dagegen in den inneren Schichten geschieht, das entzieht sich durchaus der Beobachtung. Man kann aber mit einer an Gewissheit grenzenden Wahrscheinlichkeit annehmen, dass der Vorgang hier derselbe ist: dass ein gleichartiges zusammenhängendes Spaltensystem das ganze Sporangium durchsetzt, dass also die inneren

Sporenanlagen allseitig von Spalten umgeben sind und nur durch die (weld in grösserer Zahl als in normalen Sporangien persistirenden) Plasmaverbindungen mit den benachbarten Sporenanlagen zusammenhängen.

Während in den bisher betrachteten Fällen die Sporenanlagen übereinstimmend dadurch differenzirt werden, dass das Protoplasma durch zellsafterfüllte Einschnürungen oder Spalten zerklüftet wird, spielt sich der entsprechende Vorgang in anderer Weise in den inhaltsarmen Sporangien ab, in denen die Dicke des Wandbeleges beträchtlich geringer ist als die Höhe der zu bildenden Sporenanlagen. Diese entstehen hier durch lokale Anhäufung des Protoplasma's; das Protoplasma sammelt sich allmählig an mehreren, manchmal beträchtlich von einander entfernten Centren an, hier kleine Erhebungen bildend, während an den dazwischenliegenden Stellen der Wandbeleg dünner wird. Diese Erhebungen sind zunächst wechselnd, sie verschwinden und treten an anderen Stellen wieder auf; endlich werden sie stabil, wachsen nun beträchtlich auf Kosten des übrigen Wandbeleges und nehmen die Gestalt flacher bis halbkugelförmiger Anschwellungen des Protoplasmandbeleges an; der Inhalt des Sporangiums hat nunmehr im optischen Längsschnitt ein wellenförmiges Aussehen. Dieses Stadium stellen die Fig. 11 und 12 dar, erstere im optischen Längsschnitt, letztere in der Oberflächenansicht. Diese Figuren zeigen, dass auch hier Plasmaverbindungen zwischen den Sporenanlagen vorhanden sind, und dass nicht alles Protoplasma (ganz abgesehen von dem Wandbeleg) in die Sporenanlagen aufgeht, sondern dass auch hier kleinere oder grössere Plasmastückchen ausserhalb der Sporenanlagen verbleiben.

Ungefähr zu derselben Zeit, wo die wechselnden Spalten in dem Protoplasma resp. (in inhaltsarmen Sporangien) die wechselnden Erhebungen aufzutreten beginnen, bemerkt man, am deutlichsten in normalen Sporangien, rundliche, körnerfreie, also hellere Stellen, die ziemlich regelmässig in der äusseren Schicht des Protoplasma's vertheilt sind, und die bis dahin nicht unterschieden werden konnten. In ihrem Innern sind mit grosser Wahrscheinlichkeit die Kerne zu vermuthen; mitunter gelingt es sogar in einigen derselben bei einer gewissen schiefen Lage je einen matten, sehr undeutlich contourirten Körper zu erkennen. Diese präsumptiven Kerne durch Färbungsmittel (Haematoxylin oder Karminpräparate) deutlich hervortreten zu lassen gelang mir jedoch nicht, denn wenn bei allmählicher Einwirkung des Farbstoffes die Kerne in den Tragfäden noch gar keinen oder doch nur sehr wenig davon aufgenommen hatten, war das dichte Protoplasma der Sporangien stets schon in seiner ganzen Masse intensiv gefärbt<sup>1)</sup>.

1) Dagegen sind in vegetativen Fäden mit zartem Plasmawandbeleg die Kerne auch ohne Tinction meist unschwer zu sehen. Sie erscheinen als rundliche oder spindelförmige Gebilde von mattem Aussehen; nur die Peripherie und ein glänzendes Korn im Centrum, von der Grösse gewöhnlicher Plasmakörnchen, treten deutlich

Die Kernflecke, wie ich die genannten hellen Stellen wohl bezeichnen darf, bleiben, wenn einmal sichtbar geworden, stabil und persistiren unverändert bis zur Trennung der Sporen. Wenn die Differenzirung der Sporenanlagen beendet ist, so kommt je ein Kernfleck in der Mitte jeder Sporenanlage zu liegen, was, verglichen mit den in der Anmerkung angeführten Angaben von SCHMITZ und STRASBURGER, die Annahme fast zur Gewissheit erhebt, dass diese Flecke die Kerne enthalten. — Sie liegen nahe der Membran, nur durch eine dünne körnerführende Schicht von ihr getrennt, und sind dementsprechend in der Oberflächenansicht am besten zu sehen (vgl. Fig. 3, 12 und die ein späteres Stadium darstellende Fig. 5); im optischen Längsschnitt treten sie, wegen der stärkeren Verdeckung durch Körnerplasma, weniger deutlich hervor, man erkennt hier nur, dass die centrale Partie der Sporenanlagen heller und ärmer an Körnern ist als der innere und seitliche Theil der Peripherie (vgl. Fig. 11 und 14); in dicken Sporangien sind die Kernflecke im optischen Längsschnitt überhaupt nicht erkennbar (vgl. Fig. 4).

Der Vorgang der Differenzirung der Sporenanlagen ist von den verschiedenen Beobachtern in sehr verschiedener Weise beschrieben worden. UNGER (20) lässt sie dadurch zu Stande kommen, dass sich eine homogene gallertartige Substanz in Gestalt eines dunklen Netzes aus dem Plasma abscheidet und die Sporen von einander trennt. Nach BRAUN (6, pag. 287) nimmt der Wandbeleg eine wellenförmige Oberfläche an, die Vertiefungen schneiden immer tiefer ein und dringen zuletzt bis zur Wand vor; es bilden sich so flach der Wand ansitzende Halbkugeln. PRINGSHEIM (13) macht keine näheren Angaben über den Differenzirungsvorgang, aus seinen Abbildungen geht aber hervor, dass er ihm in ähnlicher Weise beobachtet hat, wie BRAUN: das Vorhandensein der UNGER'schen Gallerte wird von PRINGSHEIM ausdrücklich negirt. DE BARY (1, pag. 477—478) geht auf die Details des Vorganges nicht ein, sondern verweist auf UNGER. BRAUN und PRINGSHEIM; die Sporen sind nach ihm (bei *Achlya*) in eine amorphe durchsichtige Masse eingebettet, die ein Secret der eben gebildeten Sporen sein muss. THURET (19, pag. 230) sagt nur: „La matière granuleuse se coagule en petites masses, qui deviennent de plus en plus nettes et finissent par former autant de zoospores.“ Auf eine ähnliche kurze Angabe beschränkt sich auch der letzte Beobachter, MARSHALL WARD (10). STRASBURGER (18, pag. 56—57; die frühere Darstellung in 16 und 17 ist etwas abweichend) und BUSGEN (7) geben übereinstimmend an, dass zuerst ein Netzwerk von hervor; der Raum zwischen beiden sieht wie substanzleer aus, doch werden durch Jod die fraglichen Gebilde in ihrer ganzen Masse braun gefärbt.

SCHMITZ (15, pag. 14) und STRASBURGER (18, pag. 58) geben an, dass in dem abgegrenzten Sporangium die Zellkerne zunächst sich durch Zweitheilung vermehren, darauf sich regelmässig in dem Sporangium vertheilen, so dass jede der sich bildenden Sporen einen Kern erhält, der in ihrem Centrum liegt. BÜSGEN (7, pag. 31—32) wies bei *Leptomitia lacteus* den Nucleingehalt der Kerne nach, lässt aber die regelmässige Anordnung derselben erst zur Zeit der „zweiten Differenzirung“ zu Stande kommen.

Körnerplatten auftritt, dass darauf durch Quellung mindestens eines Theiles der Körner eine hyaline Zwischensubstanz entsteht, welche anfangs schmale, bald breiter werdende Streifen zwischen den Sporen bildet. STRASBURGER hat übrigens auch beobachtet, dass in sehr inhaltsarmen Sporangien die Sporen sich in messbaren Entfernungen von einander und ohne deutliche Zellplatten bilden können.

Man sieht, dass die angeführten Beschreibungen der Autoren mehr oder weniger wesentlich von der oben gegebenen Darstellung sich unterscheiden. Es dürfte überflüssig sein, auf die Differenzen aufmerksam zu machen; auf einige wichtigere Punkte muss ich hier indessen noch näher eingehen. Zunächst sei hervorgehoben, dass fast sämtliche Autoren die Sache so darstellen, als finde eine vollständige Sonderung statt, als gingen die Trennungslinien bis zur Membran durch, und sie reden dementsprechend bereits von Sporen oder Schwärmern. Nur PRINGSHEIM bemerkt ausdrücklich, dass die Sporen zunächst noch an der Wand miteinander zusammenhängen, und versetzt ihre Trennung in ein späteres, wenn auch immerhin noch zu frühes Stadium; diese Beobachtung PRINGSHEIMS ist aber später ganz verloren gegangen; auch BUSGEN in seiner sonst genauen Literaturzusammenstellung erwähnt ihrer gar nicht. — Dem gegenüber lege ich einen besonderen Nachdruck darauf, dass die oben beschriebene Differenzirung keine vollständige Sonderung der Sporen ist, dass wir es vielmehr blos mit Sporen-Anlagen zu thun haben, die einem das ganze Sporangium auskleidenden ununterbrochenen körnigen Protoplasma-Wandbeleg aufsitzen. Dieser ist freilich dünn und gleich nach vollendeter Differenzirung, so lange die Sporenanlagen sehr dicht bei einander stehen, nicht leicht zu sehen. Doch kann man sich jetzt schon, zumal in dünneren normalen Sporangien, bei genauer Betrachtung des optischen Längsschnittes meist mit hinreichender Sicherheit überzeugen, dass die Grenzlinien nicht bis zur Membran durchgehen (vgl. Fig. 4). Deutlicher ist der Plasmawandbeleg in den inhaltsarmen Sporangien, sowohl im optischen Längsschnitt (Fig. 11), als auch in der Oberflächenansicht, wo man bei richtiger Einstellung die Wand zwischen den Sporenanlagen von einer continuirlichen Körnerschicht ausgekleidet sieht (Fig. 12). Auch in schmalen gefüllten Sporangien, wo die Grenzlinien eine Wellenlinie bilden (Fig. 14), ist der Sachverhalt sehr klar.

Den zweiten zu besprechenden Punkt bildet die Frage nach den Körnerplatten, aus denen die Zwischensubstanz hervorgehen soll. Veranlasst durch die übereinstimmenden Angaben STRASBURGERS und BUSGENS richtete ich auf dieselben meine ganz besondere Aufmerksamkeit, und als Resultat kann ich nicht umhin, das Vorhandensein dieser Körnerplatten auf das entschiedenste zu bestreiten. Es fragt sich nur, wie die sicherlich auf irgendwelchen tatsächlichen Betrachtungen beruhenden Angaben der beiden genannten Forscher zu erklären sind. Zwei Thatsachen könnten hier herbeigezogen werden. Erstens befinden sich an der Peripherie der Sporenanlagen grössere Körner als in deren Centrum (vgl. Fig. 3); diese ungleiche Vertheilung derselben

ist schon vor der Differenzirung angedeutet, so dass an den Orten der späteren Grenzlinien das Protoplasma etwas grobkörniger ist als dazwischen; doch ist diese Anordnung der grösseren Körner sehr wenig auffallend, sie bilden keineswegs distincte Linien, sondern sind sehr unregelmässig angeordnet und nehmen eine Zone von einer gewissen Breite ein, die ganz allmählig in das angrenzende feinkörnige Plasma übergeht. Es würde schon nach dem blossen Aussehen sehr gezwungen erscheinen, diese Zonen mit unregelmässig zerstreut liegenden Körnern als Zellplatten aufzufassen. Und vor allem schwinden diese Körner weder noch quellen sie auf, sondern vertheilen sich beim Auftreten der Grenzlinie auf die Peripherie der beiden benachbarten Sporenanlagen.

Nichts destoweniger dürften auf das eben beschriebene vielleicht die Körnerplatten STRA-BÜRGER zurückzuführen sein, um so eher als nach seiner Angabe (18, pag. 56—57) „die Grenzschichten sehr unregelmässig entwickelt, aus ungleich grossen Kügeln gebildet“ sind. BUSGEN hingegen, nach dem (7, pag. 10) „die Platten aus ziemlich gleich grossen Körnern bestehen“, und der sie als sehr regelmässige Körnerlinien zeichnet (7, Taf. XII, Fig. 3, 4), dürfte durch einen anderen Umstand getäuscht worden sein, nämlich dadurch dass, wie oben beschrieben, die Grenzlinien bei ihrem ersten Auftreten durch mehr oder weniger zahlreiche Plasmaverbindungen unterbrochen sind und in eine Reihe von Punkten und Strichen aufgelöst erscheinen. Nun ist zwar ganz zweifellos, dass diese Punkte und Striche (die bei zu hoher Einstellung allerdings dunkel erscheinen) keine Körner, sondern Hohlräume sind, und dass auch die sie trennenden Plasmaverbindungen nicht aus grösseren Körnern, sondern aus gewöhnlichem feinkörnigem Protoplasma bestehen; dennoch könnte diese Erscheinung BUSGEN um so eher einen Anlass zur Täuschung gegeben haben, als derselbe seine Untersuchung in erster Linie an einem sehr ungünstigen Material ausgeführt hat, nämlich an den dicken gefüllten Sporangien von *Dictyuchus claratus*, wo es fast ein Ding der Unmöglichkeit ist, die feineren Details bei dem complicirten Vorgang der Differenzirung der Sporenanlagen mit Sicherheit zu erkennen; und bekanntlich ist man gewöhnlich unwillkürlich geneigt, die an dem ersten untersuchten Object gewonnenen Anschauungen auch auf die folgenden zu übertragen. — Die beiden angeführten Figuren BUSGEN's, besonders die Fig. 4, sind übrigens sicher schematisirt; solche Bilder erhält man auch bei *Dictyuchus* nie. Freilich sind die Schwierigkeiten einer naturgetreuen Wiedergabe des betreffenden Stadium's so gross, dass ich nach mehreren misslungenen Versuchen mich zu meinem Bedauern genöthigt sah, auf die Veranschaulichung desselben durch eine Zeichnung zu verzichten.

Die beiden mehrfach genannten Forscher wären wohl zu einer anderen Auffassung der Sache gelangt, wenn sie nicht — wie sich aus ihren Figuren ergibt — bei einer zu geringen, etwa 200—300fachen Vergrösserung gearbeitet hätten. Ferner dürfte — so vermuthe ich — auf ihre Auffassung des Geschehenen die Analogie mit anderen Fällen freier Zellbildung, z. B. der

Endospermibildung, von Einfluss gewesen sein. Diese Analogie war gerechtfertigt, so lange man glaubte, dass die Grenzlinien bis zur Membran durchgehen; jetzt wird sie aber hinfällig, da sich gezeigt hat, dass letzteres nicht der Fall ist; Zellplatten, die das Protoplasma nicht völlig theilen, sondern nur einschnüren, würden ohne alle Analogie dastehen.

Es erübrigt noch, zu der „Zwischensubstanz“ dieser und einiger älteren Autoren (vgl. pag. 306) Stellung zu nehmen. Es hat niemand die Gründe klar ausgesprochen, die ihn zu der Annahme der Zwischensubstanz veranlasst haben, und es scheinen mir thatsächlich solche Gründe gar nicht vorzuliegen. Sehen kann man die Zwischensubstanz nicht; die directe Beobachtung lässt es unentschieden, ob die Räume zwischen den Sporenanlagen von einer glashellen gallertigen Substanz oder von gewöhnlichem flüssigem Zellsaft ausgefüllt werden; irgend welche Grenze oder ein Unterschied des Lichtbrechungsvermögens zwischen diesen Räumen und dem doch jedenfalls von flüssigem Zellsaft erfüllten Lumen ist nicht vorhanden. Mit Jod. Carmin, Haematoxylin färbt sich die hypothetische Zwischensubstanz nicht, durch Alkohol, Kochsalzlösung, Rohrzuckerlösung, Glycerin wird sie nicht sichtbar gemacht. — Auch theoretische Gründe lassen sich zu Gunsten der Zwischensubstanz, soweit ich sehe, nicht anführen; insbesondere kann eine in diesem Stadium auftretende Zwischensubstanz in keinerlei Beziehung zu der Entleerung der Sporen gebracht werden, denn sie müsste doch während der Quellung der Sporen in diese aufgenommen werden, würde also gar nicht bis zur Entleerung persistiren. Wohl aber sprechen einige unten näher zu besprechende Thatsachen gegen die Zwischensubstanz. Erstens die leichte Verschiebbarkeit der Sporenanlagen. Zweitens das Verhalten gefüllter Sporangien während der Trennung der Sporen; in letzterem Stadium findet nämlich, wie noch gezeigt werden soll, eine Verkürzung der Sporangien und eine Ausstossung von Zellsaft aus denselben statt; da nun die gefüllten Sporangien diese Erscheinung ebenfalls zeigen, so müssen sie Zellsaft enthalten, und dieser kann sich nirgends anders als in den die Sporenanlagen trennenden Spalten befunden haben, denn aus den Sporenanlagen selbst, die gleichzeitig nicht nur sich nicht contrahiren, sondern beträchtlich aufquellen, kann der ausgeschiedene Zellsaft unmöglich herkommen; sind also die Spalten mit Zellsaft erfüllt, so ist damit die Möglichkeit der Zwischensubstanz ausgeschlossen. — Nach alledem erscheint also die Annahme einer gallertigen „Zwischensubstanz“ als eine mindestens unbegründete und überflüssige Hypothese, und ich\* nehme keinen Anstand, das Vorhandensein derselben einfach zu negiren.

Doch kehren wir zur Verfolgung der weiteren Entwicklung zurück. Die gleich nach der Differenzirung der Sporenanlagen sehr schmalen Grenzlinien verbreitern sich allmählig etwas, wobei die noch vorhandenen Plasmaverbindungen theils zerrissen, theils zu Fäden ausgezogen werden; der Plasmawandbeleg wird allmählig noch etwas dünner. Diese Vorgänge beruhen darauf, dass die Sporenanlagen sich ein wenig contrahiren. Nach einiger

Zeit aber, kurz vor der Trennung, beginnt eine schnelle und starke Contraction der Sporenanlagen, so dass dieselben nunmehr durch Zwischenräume getrennt werden, die in normalen Sporangien den Sporenanlagen selbst an Breite gleichkommen können (Fig. 5), in inhaltsarmen Sporangien manchmal noch weit grösser sind. Die Sporenanlagen verändern dabei ihr Aussehen, sie werden glänzender und schärfer contourirt als früher. Bis dahin hatten sie nämlich an ihren freien Seiten weiche, etwas unregelmässige Contouren, die grösseren Körner reichten bis unmittelbar an die Peripherie oder ragten selbst ein wenig vor; jetzt werden alle Unebenheiten ausgeglichen, der Contour wird sehr scharf und glatt; allem Anschein nach wird jetzt an den freien Seiten der Sporenanlagen eine dichtere Plasmahaut gebildet, ein Zeichen der bevorstehenden Individualisirung. Das ganze Sporangium erhält in Folge dieser Veränderungen ein eigenthümliches, sehr characteristisches Aussehen<sup>1)</sup>. — Die Sporenanlagen befinden sich von Anfang an und auch jetzt noch nicht in Ruhe, sondern verändern langsam ihre gegenseitige Lage; behält man einige von ihnen im Auge, so kann man beobachten, dass sie sich bald einander nähern, bald wieder etwas auseinanderweichen, bald seitlich an einander verschieben. Auf diese Weise können sie allmählig nicht unbeträchtliche Ortsveränderungen ausführen, es kann z. B. eine der Querwand ansitzende Sporenanlage auf die Seitenwand hinüberwandern oder eine den Fortsatz ausfüllende ganz aus ihm hinausrücken.

Auch im Stadium der grössten Contraction der Sporenanlagen ist der Protoplastwandbeleg, wenn auch sehr dünn, noch intact vorhanden; man kann sich sogar jetzt besonders leicht von seiner Anwesenheit überzeugen. Stellt man nämlich genau auf die Oberfläche des Sporangiums ein, so sieht man den Raum zwischen den Sporenanlagen von einem sehr dünnen, nur eine einfache lockere Körnenschicht führenden Plasmahütchen ausgekleidet (vgl. Fig. 5); die Körner können sogar stellenweise ganz fehlen, man kann alsdann das Plasmahütchen nicht direct sehen, es ist aber dennoch ununterbrochen vorhanden. Die letzten Zweifel an dem Bestehen eines das ganze Sporangium continuirlich auskleidenden Wandbeleges lassen sich durch directen Versuch beseitigen. Lässt man auf ein Sporangium im Stadium grösster Contraction der Sporenanlagen (oder auch in einem beliebigen früheren Stadium) starke Rohrzucker- oder Kochsalzlösung oder Glycerin einwirken, so löst sich alsbald der ganze protoplasmatische Inhalt in continuo von der Wand ab (nur an der Endwand des Fortsatzes bleibt er, wie schon erwähnt, haften), und der zarte Protoplastwandbeleg zwischen den Sporenanlagen tritt auf's deutlichste in die Erscheinung. — In dem Fortsatz, wenn derselbe nicht gerade von einer Sporenanlage eingenommen wird, pflegt der Wandbeleg dicker zu sein als anderswo, man kann ihn also hier im optischen Längsschnitt sehr leicht wahrnehmen.

1) In den Beginn dieses Stadiums scheint PRINGSHEIM, soweit sich aus seinen kurzen Angaben (13, pag. 402) und seinen Abbildungen (Taf. 46, Fig. 7) entnehmen lässt, die definitive Trennung der Sporen zu verlegen, welche er allmählig vor sich gehen lässt.

Ausser der Schicht feiner Körnchen führt der Wandbeleg stellenweise auch einige grössere Körner oder in das Lumen vorspringende kleine Plasmaanhäufungen zwischen den Sporenanlagen (Fig. 5); überdies verlaufen theils im Wandbeleg selbst, theils quer und schräg durch das Lumen von einer Sporenanlage zur anderen, mehr oder weniger zahlreiche Protoplasmafäden, die von wechselnder Dicke, körnerführend oder hyalin sind.

Das Stadium der grössten Contraction der Sporenanlagen dauert nur kurze Zeit, kaum mehr als 1, höchstens 2 Minuten. Plötzlich, 25 Minuten nach vollendeter Differenzirung der Sporenanlagen, tritt das Stadium ein, welches BREXEN den homogenen Zustand nennt, das aber richtiger als das Stadium der Trennung oder der grössten Quellung der Sporen zu bezeichnen ist. Es ist das Resultat des Zusammenwirkens mehrerer Vorgänge, in denen wir uns erst allmählig orientiren werden; zunächst sei beschrieben, was man auf den ersten Blick sieht. Dies ist folgendes. Die Sporenanlagen quellen plötzlich auf bis zu gegenseitiger Berührung, so dass das Sporangium, zumal bei schwächerer Vergrösserung, oft ganz von homogenem Plasma erfüllt erscheint, welches ein eigenthümliches, viel helleres und durchsichtigeres Aussehen angenommen hat, als es bisher hatte. Das Lumen des Sporangiums verschwindet hierbei ganz oder bis auf geringe Reste. Gleichzeitig wird die bisher convexe Querwand concav, sie wird in das Sporangium hinein gewölbt und der Fortsatz erfährt eine auffällende Formänderung, seine gewölbte Endwand wird nämlich plötzlich plan, sodass er die Gestalt eines fast mathematisch genauen Cylinders annimmt. Alles dies geschieht fast momentan. In dem homogenen Protoplasma treten alsbald zahlreiche kleine Vacuolen auf; sie vergrössern sich, schwinden dann plötzlich, und neue treten an denselben oder an anderen Stellen auf, welches Spiel eine Zeitlang andauert. Diese wechselnden Vacuolen zeigen die Fig. 6 und 7; die veränderte Gestalt des Fortsatzes veranschaulicht Fig. 2e verglichen mit Fig. 2d, die Einwärtswölbung der Querwand Fig. 1e verglichen mit 1d (in Fig. 1e und 2e ist der Sporangieninhalt nicht gezeichnet).

Indem wir zu der Besprechung der nur bei stärkerer Vergrösserung erkennbaren Details dieses Stadiums übergehen, beschränken wir uns vorläufig auf normale und gefüllte Sporangien von *Saprolegnia Thuretii*. Man bemerkt zunächst, dass die sämtlichen grösseren Körner verschwunden sind und das Protoplasma in seiner ganzen Masse gleichmässig feinkörnig geworden ist (vgl. die Fig. 6, 7 und 8 mit den Fig. 3, 4 und 5), wodurch eben sein auffallend helleres und durchsichtigeres Aussehen bedingt wird. Ferner constatirt man, dass die Sporen nicht etwa völlig mit einander verschmolzen sind; sie haben sich zwar einander dermaassen genähert, dass sie durch den gegenseitigen Druck polygonal geworden sind, aber in den weitaus meisten Fällen bleiben sie völlig scharf begrenzt, durch sehr deutliche schmale Zwischenräume von einander getrennt (Fig. 6). Nicht selten sind

die Zwischenräume noch breiter als in Fig. 6 und es kommt sogar vor, dass die Sporen nicht vollkommen polygonal werden, sondern an den Ecken mehr oder weniger abgerundet bleiben. — Nicht immer indessen sind die Grenzen der Sporen so deutlich. Manchmal nämlich geht das Aufquellen der Sporen weiter, bis zur unmittelbar gegenseitigen Berührung; in diesem Falle werden sie nur durch einfache, gerade, schwarz erscheinende Linien getrennt, die entweder noch völlig scharf oder aber etwas verwaschen bis ziemlich undeutlich sind (Fig. 7). Ja die Undeutlichkeit der Trennungslinien kann soweit gehen, dass man sie nur noch bei angestrengtester Aufmerksamkeit wahrnehmen kann<sup>1)</sup>. In letzterem Falle ist es ein Ding der Unmöglichkeit die wahre Beschaffenheit der Trennungslinien sicher zu erkennen. Bald erscheinen sie als dunkle, bald als helle Linien, manchmal möchte man glauben, dass sie aus Körnern zusammengesetzt sind; doch ist das nie unzweifelhaft; zudem wechselt das Bild bei der geringsten Aenderung der Einstellung. — Derartig undeutliche Trennungslinien finden sich indessen bei *Saprolegnia Thureti*, auch in den für die Beobachtung sehr ungünstigen dicken gefüllten Sporangien, nur als seltene Ausnahmen.

Etwas abweichend verhalten sich die beiden anderen Species, *Saprolegnia monoica* und *S. spec. 1*. Zwar kommt es auch bei ihnen häufig vor, dass zwischen den gequollenen Sporen Zwischenräume von merklicher Breite erhalten bleiben, allein der gewöhnlichere Fall ist hier doch der, dass die Sporen bis zur dichten Berührung aufquellen und nur durch einfache Trennungslinien von verschiedener Deutlichkeit geschieden werden; und insbesondere sind hier die Trennungslinien gar nicht selten so undeutlich, dass sie nur bei angestrenzter Aufmerksamkeit gesehen werden können. Ja bei *Saprolegnia monoica* habe ich einige mal trotz aller Cautelen die Trennungslinien nicht sehen können, sie schienen vollständig der Wahrnehmung zu entschwinden (auf die Frage, ob man daraus auf ein thatsächliches völliges Verschwinden derselben zu schliessen berechtigt ist, soll unten noch eingegangen werden). Dem gegenüber sei hier aber hervorgehoben, dass ich bei der weitaus überwiegenden Mehrzahl der Sporangien von *S. monoica* und bei allen denjenigen von *S. spec. 1* und *S. Thureti*, die ich während des Stadiums der Quellung der Sporen ununterbrochen und mit den erforderlichen Cautelen beobachtet habe, die Trennungslinien unabhängig von dem Grade ihrer Deutlichkeit mit voller Gewissheit persistiren sah;

<sup>1)</sup> Um in diesem Fall sich von der Persistenz der Trennungslinien zu überzeugen, muss man schon vor der Trennung scharf auf die Oberfläche des Sporangiums einstellen, hier einen bestimmten Complex von Sporenanlagen fixiren und die Trennungslinien ununterbrochen im Auge behalten, bis sie anfangen wieder deutlich zu werden. Diese Cautelen sind deshalb nöthig, weil im Inneren des Sporangiums wegen des die Einstellungsebene überdeckenden Plasma's alles viel undeutlicher ist und weil es die Beobachtung sehr erleichtert, wenn man den Ort der Trennungslinien genau kennt. Auch muss man nur genau senkrecht stehende Trennungslinien zur Beobachtung wählen, denn es braucht wohl nicht auseinander gesetzt zu werden, dass solche unter sonst gleichen Umständen viel schärfer zu sehen sind, als geneigt verlaufende.

und da die Zahl der in dieser Weise untersuchten Sporangien jeder der drei Species eine sehr erhebliche ist, so glaube ich behaupten zu können, dass das anscheinend völlige Schwinden der Trennungslinien bei *S. monoica* nur als seltene Ausnahme, bei *S. Thuretii* und *S. spec. 1* aber überhaupt nicht vorkommt.

Das Verhalten der Trennungslinien lässt sich an dicken Sporangien meist nur in der Oberflächenansicht verfolgen; im optischen Längsschnitt ist dies aus dem Grunde nicht möglich, weil die ihm überlagernde Plasmaschicht trotz ihrer relativen Durchsichtigkeit die Beobachtung sehr erschwert und die Erkennung feinerer Strukturverhältnisse fast unmöglich macht. In dünneren Sporangien aber (sowie auch in dickeren, falls die Trennungslinien breit und scharf genug sind) erkennt man im optischen Längsschnitt, dass die Trennungslinien jetzt bis zur Membran durchgehen (noch augenfälliger wird diese Thatsache auf einem etwas späteren Stadium, wenn die Sporen sich an den Ecken abzurunden beginnen, vgl. Fig. 8). Es hat somit während des Aufquellens der Sporenanlagen eine Theilung des Protoplasma-Wandbeleges stattgefunden: das Sporangium hat aufgehört eine Zelle zu sein, die Sporenanlagen haben sich getrennt und sind zu isolirten Sporen geworden. Es bildet also das Stadium der Quellung den Höhe- und Wendepunkt in der Entwicklung des Sporangiums.

Eine sehr auffallende Erscheinung ist bisher noch nicht erwähnt worden. Befinden sich nämlich in dem Beobachtungstropfen Bacterien, was fast stets der Fall ist, so sammeln sich häufig während des Aufquellens der Sporen oder sehr bald nach vollendeter Quellung plötzlich schwärmende Bacterien, die früher höchstens in geringer Menge in der Nähe zu sehen waren, um das Sporangium an, um hier eine Zeitlang äusserst lebhaft sich zu bewegen und schliesslich sich wieder zu zerstreuen. Die Menge der sich ansammelnden Bacterien ist bald kleiner, bald grösser, manchmal geradezu erstaunlich gross; einmal sah ich sie um ein Sporangium eine Schicht bilden, deren Dicke ungefähr dem doppelten Durchmesser des Sporangiums gleich kam, und die so dicht war, dass sie eine Beobachtung der Vorgänge im Sporangium unmöglich machte. Einige wenige mal sah ich auch anstatt der Bacterien *Saprolegnia*-Zoosporen in grosser Zahl um Sporangien umherschwärmen. — Derartige Ansammlungen von Schwärmzuständen können nur darin ihren Grund haben, dass irgend eine Substanz aus dem Sporangium ausgeschieden wird, die eine anziehende Wirkung auf dieselben ausübt. Man könnte zunächst an Sauerstoff denken; allein abgesehen davon, dass ein Grund für eine plötzliche reichliche Sauerstoffausscheidung gar nicht einzusehen ist, könnte sie nur die Ansammlung von Bacterien, nicht aber diejenige von *Saprolegnia*-Zoosporen erklären, da auf letztere, wie weiter unten gezeigt werden soll, einseitiger Sauerstoffzutritt gar keinen Richtungsreiz ausübt. Zweitens wäre an die Ausscheidung einer Flüssigkeit zu denken, die Substanzen in Lösung enthält, welche für Bacterien und *Saprolegnia*-Schwärm-sporen gute Nährstoffe sind; es hat ja PFEFFER (12) gezeigt, dass beiderlei

Organismen sich nach Orten hinbewegen, von denen aus eine beliebige für dieselben als Nahrung brauchbare Substanz hindurchdiffundirt, wenn sie gewisse Concentrationsgrenzen innehält — und dass auch die Beweglichkeit dieser Organismen in einer solchen Nährlösung erhöht wird. Die Bedeutung einer solchen Nährlösung könnte hier der Zellsaft des Sporangiums haben, von dem mit Wahrscheinlichkeit angenommen werden muss, dass er ausser anorganischen Salzen auch verschiedene organische Substanzen gelöst enthält. Falls nun thatsächlich Zellsaft aus dem Sporangium austritt, und zwar in Quantitäten, welche im Stande sind grosse Mengen schwärmender Bacterien von entfernten Orten herbeizuziehen, so muss das eine nicht unbedeutliche Verminderung des gesammten Sporangieninhaltes, eine Volumenabnahme des Sporangiums zur Folge haben. Die uns bereits bekamte, durch die Einwärtswölbung der Querwand und das Planwerden der Endwand des Fortsatzes bedingte geringe Volumenabnahme genügt nicht, um das Austreten offenbar grosser Zellsaftmengen zu erklären; es ist ausserdem eine Contraction der ganzen Sporangienwand zu erwarten. Und diese Erwartung bestätigt sich vollkommen. Misst man die Länge eines Sporangiums kurz vor dem Aufquellen der Sporen und alsbald nach demselben, so ergibt sich eine merkliche Verkürzung, die zwischen 1—4 Procent der Sporangienlänge schwankt, gewöhnlich aber ca. 2<sup>o</sup> derselben beträgt. Lässt man das Micrometer liegen und beobachtet durch dasselbe hindurch, so sieht man während des Aufquellens der Sporen die Verkürzung des Sporangiums unter seinen Augen sehr schnell, fast momentan, vor sich gehen. Die Messung wurde an sehr zahlreichen Sporangien der drei *Saprolegnia*-Arten ausgeführt und ergab überall positive Resultate, auch in den Fällen, wo keine Bacterien- oder Schwärmosporen-Ansammlung statt fand. Gemessen wurde notabene nur die Strecke von dem Ansatz der Querwand bis zum Ansatz der Endwand des Fortsatzes, so dass die oben angeführten Zahlen nur die Contraction der Seitenwände angeben; würde man die durch die Einwärtswölbung der Querwand und die Gestaltänderung des Fortsatzes bewirkte Verkürzung mit in Anschlag bringen, so würden sich die Zahlen noch merklich erhöhen. — Auf Messung der Breite der Sporangien musste verzichtet werden, denn diese ist zu gering, als dass eine Abnahme derselben um wenige Procente mittels eines gewöhnlichen mit der Hand verschiebbaren Ocularmicrometers (nur ein solches stand mir zur Verfügung) nachgewiesen werden könnte; es ist aber nicht daran zu zweifeln, dass auch die Breite in demselben Maasse wie die Länge abnimmt. Nehmen wir also an, dass alle drei Dimensionen des Sporangiums sich gleich stark verkürzen, so würde sich bei einer Verkürzung von 4<sup>o</sup> eine Volumenabnahme desselben um über 11,5<sup>o</sup> ergeben <sup>1)</sup>; addiren wir dazu die durch die Einwärtswölbung der Querwand hervorgebrachte Volumenabnahme, die auf mindestens 1,5<sup>o</sup> veranschlagt werden kann (die durch die Formänderung des Fortsatzes bewirkte

<sup>1)</sup>  $100 \left( \frac{100^3 - 96^3}{100^3} \right) = 11,5 \dots \dots$

ist hiergegen fast verschwindend klein), so ergibt sich eine Gesamt-  
abnahme des Sporangienvolumens um über 13%; es wird also Zellsaft im  
Betrage von über 13% des Volumens des ganzen Sporangiums während des  
Aufquellens der Sporen ausgeschieden. Bei einer Verkürzung um 2% resp.  
1% ergibt die gleiche Rechnung eine Volumenabnahme von 7½% resp.  
4½%; das Quantum ausgeschiedenen Zellsaftes ist also immerhin noch  
erklecklich<sup>1) 2)</sup>.

Wir haben jetzt die Frage nach den Ursachen der Veränderungen zu  
beantworten, die mit der Sporangienmembran vor sich gehen. Die Ursache  
der Contraction der Seitenwände liegt nahe. So lange der Protoplasma-  
wandbeleg des Sporangiums intact ist, befindet sich letzteres im Zustande  
des Turgors, die Membran ist also gespannt. Wenn sich nun der Wand-  
beleg theilt, so wird der Turgor plötzlich aufgehoben, die Spannung der  
leicht permeablen Cellulosemembran kann ausgeglichen werden; sie contrahirt  
sich also bis zum spannungslosen Zustand, indem sie die überschüssige  
Menge Zellsaft, die in dem verkleinerten Sporangium keinen Platz mehr

1) Da selbst im Minimalfalle die Zellsaftausscheidung noch so beträchtlich ist,  
so könnte es befremdend erscheinen, dass die Bacterienansammlung ohne erkennbaren  
Grund häufig ganz ausbleibt. Dies lässt sich aber mit Hilfe der Resultate PFEFFER'S (12)  
in durchaus plausibler Weise erklären. PFEFFER hat festgestellt, dass 1. die anziehende  
Wirkung der gelösten Substanz erst bei einer bestimmten Minimalconcentration (Reiz-  
schwelle) auftritt; 2. dass von der Reizschwelle an die Wirkung zunächst mit der  
Concentration steigt, dass aber bei einer gewissen (meist noch geringen) Maximal-  
concentration eine abstossende Wirkung sich geltend macht, welche der Anziehung  
das Gleichgewicht hält; 3. dass die Bacterien dem sogenannten WEBER'Schen psycho-  
physischen Gesetz unterliegen, dass also die Reizschwelle von der Concentration der  
umgebenden Flüssigkeit abhängig und zwar ihr direct proportional ist (es genügt  
also eine geringe Steigerung der Concentration im Hängetropfen, um eine erhebliche  
Erhöhung der Reizschwelle zu bewirken); 4. dass verschiedene Bacterienarten specifisch  
sehr verschieden reizbar sind, und 5. dass die Reizbarkeit auch von der Temperatur  
abhängt. — Wenn wir nun bedenken, dass die Concentration des Zellsaftes wohl  
sicherlich variabel ist, dass die Concentration im flachen Hängetropfen schnell geringe  
Änderungen erleiden kann, dass in verschiedenen Culturen verschiedene Bacterien  
vorhanden sind und dass sie auch in demselben Hängetropfen nie gleichmässig ver-  
theilt sind etc., so verliert der variable Grad der Bacterienansammlung und ihr  
häufiges Ausbleiben alles auffallende.

2) Ein ähnlicher Vorgang findet noch zu einer anderen Zeit statt. Ich hatte an  
einigen Sporangien von *Dictyochus clavatus* bemerkt, dass während der Querwand-  
bildung schwärmende Bacterien sich ansammelten, jedoch nur in einer schmalen Zone  
unmittelbar an der Querwand. Daraufhin nahm ich Messungen an einigen Fliegen-  
heinsporangien von *Saprolegnia Thuretii* vor und fand, dass thatsächlich manchmal  
(aber wie es scheint, nicht immer) eine merkliche wenn auch nur geringe Verkürzung  
des ganzen Fadens während der Querwandbildung stattfindet. Diese Erscheinung ist  
wohl so zu erklären, dass bei der Bildung entweder der Hyaloplasmascheibe oder  
der Querwand selbst der Protoplasma wandbeleg an der Grenze zwischen Tragfaden  
und Sporangium eine momentane Continuitätsstrennung erfährt — was den Austritt  
einer bestimmten Menge Zellsaft zur Folge hat — und dass er darauf an der Spitze  
des Tragfadens wieder zusammenschliesst.

hat, hindurchfiltriren lässt. — Die Spannung der Seitenwand muss schon vor der Abgrenzung des Sporangiums in gleichem Grade vorhanden gewesen sein, denn das abgegrenzte Sporangium wächst nicht mehr; die Volumenveränderungen, die es erfährt, bestehen nur in der Bildung des Fortsatzes und in der convexen Vorwölbung der Querwand. Daraus geht hervor, dass die Querwand sich durch eine grössere Dehnbarkeit auszeichnet als die Seitenwand. Wenn der Turgor des Sporangiums aufgehoben wird, würde sie spontan nur die Spannung ausgleichen und plan werden; da sie aber zugleich von der anderen Seite dem Druck des Tragfadeneinhalts ausgesetzt ist (welcher bisher nur deshalb nicht zur Geltung kam, weil er von dem Turgor des Sporangiums überwogen wurde), so wird sie sofort von diesem gedehnt und in das Sporangium hineingewölbt. — Auch die auf den ersten Blick räthselhaft erscheinende Formänderung des Fortsatzes ist nur eine einfache Folge der Aufhebung des Turgors. Es wurde schon erwähnt, dass die Endwand des Fortsatzes von Anfang an blasser und weniger scharf contourirt ist als die übrige Sporangienwand, insbesondere auch als die Seitenwand des Fortsatzes; dem entspricht auch eine grössere Dehnbarkeit der Endwand und dieser Eigenschaft verdankt dieselbe die gewölbte Form, die sie im turgescenzen Sporangium hat. Mit der Aufhebung des Turgors hört auch die Dehnung auf und die Endwand nimmt die ihr natürlich zukommende plane Gestalt an; die starren Seitenwände des Fortsatzes dagegen waren durch den Turgor nicht afficirt worden und bleiben daher auch jetzt unverändert. Dass dem so ist, davon kann man sich leicht durch einen Versuch überzeugen. Plasmolysirt man ein Sporangium in einem beliebigen früheren Stadium, so erleidet der Fortsatz ganz die nämliche Veränderung wie während der Trennung der Sporen; entfernt man darauf die plasmolysirende Lösung und ersetzt sie durch Wasser, so kehrt die Endwand wieder zu ihrer früheren gewölbten Gestalt zurück.

Wir haben nunmehr diejenigen Vorgänge kennen gelernt, die man in gewöhnlichen Sporangien während des Trennungsstadiums theils direkt sieht, theils erschliessen kann. Weit mehr sieht man aber in den inhaltsarmen Sporangien, wie sie in abgesehenem Material nicht selten auftreten. An diesen Sporangien, wo sich die Sporenanlagen in beträchtlichen Entfernungen von einander befinden, kann man nämlich im optischen Längsschnitt beobachten, wie sich der zarte Protoplasmawandbeleg zwischen je zwei Sporenanlagen von der Membran abhebt, sich in der Mitte theilt und wie die beiden Hälften desselben in die nunmehr isolirten Sporen eingezogen werden; auch die das Lumen durchsetzenden feinen Plasmafäden werden, zum Theil schon etwas früher, durchrissen und in die Sporen eingezogen. Gleichzeitig mit dem Abheben des Wandbeleges von der Membran findet die Gestaltsänderung des Fortsatzes und die Einwärtswölbung der Querwand statt. Ebenfalls zu derselben Zeit treten in den Sporen zahlreiche sehr kleine Vacuolen auf; in dem Maasse als dieselben sich vergrössern, sieht man die

Sporen langsam aufquellen bis zur definitiven Grösse, und das Protoplasma feinkörnig werden. Es ist hier vollkommen klar, dass die beiden Processe der Vacuolenbildung und des Aufquellens der Sporen Hand in Hand gehen. Die Erscheinung des Aufquellens erklärt sich sehr einfach, wenn wir die eigentlich selbstverständliche Annahme machen, dass das Protoplasma der Sporen das Bestreben hat Wasser aufzunehmen. Diesem Bestreben konnte bis jetzt nicht Genüge geleistet werden, weil die anzunehmende continuirliche Hautschicht die Endosmose hinderte; indem sich aber der Wandbeleg theilt, wird die Hautschicht an den Trennungsstellen unterbrochen, und bevor sie reconstituirt werden kann, wird Zellsaft in das Protoplasma der Sporen aufgenommen, was das Aufquellen der Sporen zur Folge hat. Der aufgenommene Zellsaft resp. ein Theil desselben wird im Innern der Sporen alsbald in Form der wechselnden Vacuolen abgeschieden. Hiernach sind also Quellung und Vacuolenbildung zwei gleichzeitig eintretende Folgen einer gemeinsamen Ursache, der Zellsaftaufnahme in die Sporen. — Die Quellung der Sporen kann auch hier bis zu naher gegenseitiger Berührung und polygonaler Abplattung gehen; häufig aber kommen die Sporen gar nicht zur Berührung, sondern bleiben völlig frei liegen, gerundete Formen beibehaltend; so in Fig. 13, die durchaus noch keinen extremen Fall darstellt. Uebrigens kommt es auch in normalen Sporangien ab und zu vor, dass die Sporen im Zustande maximaler Quellung mehr oder weniger gerundet bleiben; wie denn überhaupt ein directes Verhältniss zwischen der Nähe der Berührung und dem disponiblen Raum nicht besteht, weil der Grad des Aufquellens nicht völlig gleich zu sein braucht.

So beträchtlich auch die Unterschiede in dem Verhalten gefüllter und normaler Sporangien einerseits und inhaltsarmer andererseits auf den ersten Blick scheinen, so sind sie doch nur eine Folge der in beiden Fällen verschiedenen Entfernung der Sporenanlagen von einander. Der geringe seitliche Abstand der Sporenanlagen in den gefüllten und normalen Sporangien macht es unmöglich, die Abhebung und Theilung des Wandbeleges zu sehen; man kann sich aber indirect überzeugen, dass dieser Vorgang auch hier das primäre ist. Wenn man nämlich auf die Aufeinanderfolge der Veränderungen genau achtet, so findet man, dass die Gestaltänderung des Fortsatzes und die Einwärtswölbung der Querwand der Quellung der Sporen vorausgehen, erstere sind aber schon die Folge der Aufhebung des Turgors, also der Theilung des Protoplasma wandbeleges. Ferner constatirt man bei genauer Beobachtung, dass auch hier zu Beginn des Aufquellens der Sporen sehr kleine Vacuolen in ihnen auftreten, die sich mit zunehmendem Aufquellen vergrössern; da aber die Sporen hier viel näher bei einander liegen als in den inhaltsarmen Sporangien, so ist auch das Maximum ihres Volumens viel schneller erreicht als dort, nämlich bevor noch die Vacuolen ihre definitive Grösse erreicht haben; dadurch wird der Anschein hervorgerufen, als seien Quellung der Sporen und Vacuolenbildung zwei ganz unabhängige Processe, von denen der zweite erst nach Vollendung des ersten eintritt.

Fassen wir noch einmal die beschriebenen Vorgänge kurz zusammen. Der bisher das ganze Sporangium auskleidende zarte protoplasmatische Wandbeleg hebt sich zwischen den Sporenanlagen von der Membran ab, wird durchrissen und in die nunmehr isolirten Sporen eingezogen. Hierdurch wird der Turgor des Sporangiums aufgehoben: infolgedessen wird die gewölbte Endwand des Fortsatzes plan, die convexe Querwand wird concav in das Sporangium hineingewölbt, die gedehnte Seitenwand contrahirt sich und ein beträchtlicher Theil des Zellsaftes filtrirt durch die Membran hinaus. Der übrige Theil des Zellsaftes wird ganz oder grösstentheils in die aufquellenden Sporen, deren Protoplasma gleichzeitig gleichmässig feinkörnig wird, aufgenommen und hier in Form wechselnder Vacuolen wieder abgeschieden; ganz, wenn das Aufquellen der Sporen bis zur unmittelbaren gegenseitigen Berührung geht — grösstentheils, wenn zwischen den aufgequollenen Sporen noch schmale oder breitere Zwischenräume verbleiben.

Der Zustand der maximalen Quellung der Sporen hält nur kurze Zeit, höchstens ein paar Minuten an, gewöhnlich um so länger, je dichter die Berührung der Sporen war. Allmählig verschwinden die wechselnden Vacuolen, es bleiben schliesslich nur wenige kleine erhalten. Währenddessen werden die Trennungslinien, wofern sie undeutlich geworden waren, wieder schärfer und breiter. Wo sie ganz verschwunden zu sein schienen, treten sie jetzt auf, soweit sich constatiren lässt, alle gleichzeitig; bei ihrem ersten Auftreten sind sie so undeutlich, dass es unentschieden bleiben muss, ob sie nicht aus Körnern zusammengesetzt sind, alsbald aber nehmen sie das Aussehen einfacher scharfer Linien an.

Aus der Literatur ist über das eben besprochene Stadium der maximalen Quellung der Sporen nicht viel anzuführen, denn von den meisten Beobachtern ist es völlig übersehen worden und den wesentlichen Vorgang desselben, als welcher unzweifelhaft die Trennung der Sporen anzusehen ist, hat niemand erkannt.

Die Einwärtswölbung der Querwand wird nur von PRINGSHEIM (13, pag. 403), DE BARY (1, pag. 478) und BÜSGEN (7, pag. 12) erwähnt. Die Formänderung des Fortsatzes wird von den ersteren beiden Autoren abgebildet (13, Taf. 46, Fig. 8 und 9; 1, Taf. VII, Fig. 1 und 2), PRINGSHEIM gedenkt ihrer auch im Text (13, pag. 403). Sonst ist von dem Fortsatz überhaupt nur noch kurz die Rede bei UNGER (20, wo die unrichtige Angabe gemacht wird, dass der Fortsatz von seiner Entstehung an ununterbrochen sich verlängert), bei THURER (19) und BÜSGEN (7, pag. 16, nur für *Leptomitus*).

Das Aufquellen der Sporen hat schon der erste Beobachter, UNGER, gesehen und beschreibt es vollkommen richtig (20); nach ihm nehmen die Sporen an Ausdehnung zu, bis sie schliesslich an einander gepresst liegen, polygonal geworden und das Sporangium ganz ausfüllen; er erwähnt auch der wechselnden Vacuolen. — LEITGER (9) beginnt seine Schilderung der Entwicklung des Sporangiums von *Dictyuchus monosporus*, wie es scheint,

mit dem Stadium der grössten Quellung der Sporen, indem er glaubt, dass das Sporangium ganz mit homogenem Protoplasma erfüllt ist; alles vorhergehende hat er offenbar nicht gesehen. — WALZ (21, pag. 706) hat das Aufquellen der Sporen beobachtet und sagt darüber: „Die Contouren werden fast unkenntlich, so dass die Existenz der Zoosporen nur durch ihre Zellkerne (dafür mag WALZ vielleicht die Vacuolen gehalten haben) merklich wird“. Er begeht aber einen kaum begreiflichen Irrthum, indem er dieses Undeutlichwerden der Contouren nicht durch eine Quellung der Sporen, sondern dadurch zu Stande kommen lässt, dass eine innere Wandschicht des Sporangiums aufquillt und so die Sporen aneinander presst. — STRASBURGER (18, pag. 57 und 58) sah einmal in einem inhaltsarmen Sporangium die Sporen bis zur dichten Berührung aufquellen, aber durch helle Streifen getrennt bleiben; ferner beobachtete er an unter Deckglas sich entwickelnden Sporangien ein Verschmelzen der Sporen zu homogenem Plasma, erklärt aber dieses Verhalten für ein abnormes. — Erst BÜSGEN (7) gebührt das Verdienst, den Vorgang als normal erkannt und dessen allgemeine Verbreitung bei den *Saprolegniaceen* nachgewiesen zu haben. Die nach seiner Ansicht schon vorher isolirten Sporen quellen auf und verschmelzen derart miteinander, dass das Sporangium ganz von völlig homogenem feinkörnigem Protoplasma erfüllt wird, in dem alsbald die wechselnden Vacuolen auftreten (7, pag. 11).

Darin dass BÜSGEN die Trennungslinien stets völlig schwinden lässt, besteht ein wesentlicher Unterschied seiner Darstellung des Vorganges von der oben gegebenen. Doch erklärt sich dieser Unterschied zur Genüge aus dem verschiedenen Gange unserer Untersuchung und der daraus resultirenden verschiedenen Fragestellung. BÜSGEN untersuchte nur inhaltsreiche Sporangien solcher *Saprolegniaceen*, bei denen dichte Berührung der aufgequollenen Sporen und mehr oder wenige undeutliche Trennungslinien Regel sind; die von ihm untersuchten *Saprolegnia*-Arten zählt er zwar nicht auf, man kann aber mit Sicherheit annehmen, dass *S. Thuretii*, bei der ihm der wahre Sachverhalt nicht hätte entgehen können, nicht darunter gewesen ist. Durch keine eelatanten Fälle auf das Persistiren der Trennungslinien aufmerksam gemacht, richtete er sein Augenmerk gar nicht auf dasselbe, sondern nur auf das Eintreten seines „homogenen Zustandes“; und da er überdies, wie es scheint, bei nicht genügend starker Vergrösserung arbeitete, so kann es gar nicht Wunder nehmen, dass er das Persistiren der Trennungslinien übersehen hat.

Es folgt nun nach BÜSGEN eine zweite Differenzirung der Sporen, die ebenso wie die erste verlaufen soll: es tritt ein Netz von Körnerlinien auf, die darauf zu einer hyalinen Zwischensubstanz aufquellen.

Dieser höchst eigenthümliche, ich möchte sagen unbegreifliche Vorgang einer zweimaligen Differenzirung der Sporen fällt natürlich aus der Discussion fort, da sich gezeigt hat, dass ein völliges Verschmelzen der Sporen zu homogenem Plasma im allgemeinen keineswegs stattfindet, die erste Differenzirung also gar nicht rückgängig gemacht wird. — Nur bei den wenigen

Sporangien von *Saprolegnia monoica*, wo die Trennungslinien ganz zu schwinden schienen, fragt es sich, ob man mit BÜSGEN von einer zweimaligen Differenzirung der Sporen reden soll. Ich muss gestehen, dass es mir nicht recht behagt, für diese paar exceptionellen Fälle eine zweimalige Differenzirung anzunehmen, während sich die Sporen nicht nur der übrigen *Saprolegnicen*, sondern auch der grossen Mehrzahl der Sporangien derselben Art mit einer einmaligen Differenzirung begnügen. Nothwendig ist eine solche Annahme jedenfalls nicht. Es ist nämlich die Möglichkeit in Betracht zu ziehen, dass sich die anscheinend schwindenden Trennungslinien bei besseren optischen Hilfsmitteln als persistirend erweisen würden. Für diese Möglichkeit scheinen mir die Thatsachen zu sprechen, dass erstens die neuen Trennungslinien, soweit sich feststellen lässt, stets genau an den Orten der alten auftreten (wie auch schon BÜSGEN angiebt), und zweitens dass ich nie eine der wechselnden Vacuolen an den Stellen auftreten sah, wo sich die Trennungslinien befunden hatten; auf diese beiden Punkte habe ich besonders geachtet. Hätten nun die Sporen ihre Individualität ganz aufgegeben und wäre das Sporangium wirklich von ganz homogenem ungetheiltem Protoplasma erfüllt, so wären diese beiden Thatsachen schwer zu verstehen; hingegen stehen sie mit der Annahme vorzüglich im Einklang, dass die Grenzen zwischen den Sporen, wenn auch für uns nicht sichtbar, bestehen bleiben.

Was die Körnerlinien anbetrifft, so kann von denselben da natürlich keine Rede sein, wo die Sporen durch Zwischenräume von merklicher Breite oder durch scharfe continuirliche Linien getrennt bleiben. Nur in den selteneren Fällen sehr undeutlicher Trennungslinien konnte, wie schon bemerkt, die Möglichkeit nicht ausgeschlossen werden, dass dieselben eine Zeit lang aus Körnern zusammengesetzt sind; ich halte dies aber nicht für wahrscheinlich; deutliche Körnerlinien kommen jedenfalls überhaupt nicht vor.

Zum zweiten Mal tritt uns jetzt die Frage entgegen, ob die Annahme einer gallertigen „Zwischensubstanz“ zwischen den Sporen gerechtfertigt ist. Dieselbe kann jetzt nicht so ohne weiteres abgewiesen werden wie vorhin, denn die theoretischen Erwägungen, die sich für oder gegen in's Feld führen lassen, sind complicirter Natur; sie hängen mit der Frage nach der Mechanik der Sporenentleerung zusammen und können erst ein anderes Mal mit dieser Frage zusammen erörtert werden. In Bezug auf das Thatsächliche sei jedoch gleich bemerkt, dass sich die Zwischensubstanz jetzt ebensowenig sehen oder durch Reagentien nachweisen lässt, wie diejenige, welche einige Autoren bei der Differenzirung der Sporenanlagen auftreten lassen. — Falls eine Zwischensubstanz jetzt gebildet wird, so ist keine andere Entstehung derselben denkbar, als nur durch Secretion aus den Sporen. Dies ist überall da selbstverständlich, wo die Sporen durch Zwischenräume von merklicher Breite oder durch einfache scharfe Linien getrennt werden; nur wo die Trennungslinien undeutlich sind und die Möglichkeit offen gelassen wurde, dass sie aus Körnern bestehen könnten, ist zu beweisen, dass die Zwischensubstanz nicht durch Quellung dieser entstehen

kann. Wäre letzteres der Fall, so müssten die hypothetischen Körnerlinien direct in helle Streifen von einer gewissen Breite sich verwandeln, dies geschieht aber nicht, sondern sie gehen zuerst in scharfe einfache Linien über, die einerseits unzweifelhaft nicht aus Körnern bestehen, andererseits die Möglichkeit des Vorhandenseins von Zwischensubstanz zwischen den Sporen ausschliessen, da diese einander noch unmittelbar berühren; darauf erst weichen die Sporen etwas auseinander, so dass die scharfen einfachen Linien in schmale Zwischenräume übergehen.

Wenn die Trennungslinien völlig scharf geworden sind und eine gewisse Breite erlangt haben, so beginnt eine allmähliche Contraction und Abrundung der aufgequollenen Sporen. Sie runden sich zunächst an den Ecken ab (Fig. 8), später nimmt ihr ganzer Körper eine unregelmässig rundliche Gestalt an (Fig. 9). Dabei treten die Sporen allmählig ein wenig von der Membran des Sporangiums zurück, diese erscheint infolgedessen jetzt sehr deutlich doppelt contourirt (Fig. 8; 9). — Besonders weit tritt die vorderste Spore von der Endwand zurück, so dass der Fortsatz ganz frei von Sporen wird und sich an der Spitze des Sporangiums ein grösserer leerer Raum bildet (vgl. Fig. 9 und 10, in denen beiden dieser Raum relativ klein ist). Hierbei findet eine eigenthümliche Erscheinung statt. Es wurde schon früher erwähnt, dass das Protoplasma an der Endwand des Fortsatzes besonders fest anhaftet, von der übrigen Sporangienmembran dagegen sich ohne weiteres ablösen lässt. Dementsprechend lösen sich jetzt zwar die übrigen Sporen ohne alle Complicationen von der Membran ab, die vorderste Spore aber bleibt bei ihrem Zurücktreten mit der Endwand durch eine Schicht hyalinen Plasma's in Verbindung; diese Schicht, welche anfangs die ganze Breite der Endwand einnimmt, wird bei dem weiteren Zurücktreten der Spore zu einem dicken Strang ausgezogen, der sich ferner in mehrere dünne Fäden zu spalten pflegt. (Fig. 9 stellt dieses Verhalten dar, nur mit der Modification, dass hier zwei vorderste Sporen vorhanden sind; der Hyaloplasmastrang  $\mu$  ist in zwei Arme gespalten, von denen jeder zu einer Spore geht.) Endlich werden die Plasmastränge oder -fäden durchrissen und in die Spore eingezogen. — Dieses Verhalten deutet wiederum auf eine besondere Beschaffenheit der Endwand des Fortsatzes hin; dieselbe muss irgendwie in einem besonders engen Connex mit dem Protoplasma stehen. Man muss annehmen, dass das Protoplasma entweder direct in die Substanz der Endwand eingedrungen ist oder doch dass es derselben fest angeschmiegt ist, so dass eine dünne, nicht sichtbare Schicht desselben auch nach der Ablösung der Spore an der Endwand haften bleibt.

Ungefähr 6—10 Minuten nach der Trennung der Sporen treten die Cilien auf. Das cilientragende, also vordere Ende der Sporen zeigt keine bestimmte Orientirung, es liegt bald der Spitze, bald der Basis, bald den Seiten des Sporangiums zugekehrt. Nur an der vordersten Spore treten die

Cilien constant an der dem Fortsatz zugekehrten Seite auf, und da gerade zwischen ihr und der Endwand des Fortsatzes sich ein grösserer freier Raum befindet, so lässt sich hier die Entstehung der Cilien sehr bequem verfolgen. Sie werden zuerst als ganz kurze, gerade, pendelartig hin- und herschwingende Borsten sichtbar; in dem Maasse als sie in die Länge wachsen, was ziemlich schnell geschieht, werden ihre Bewegungen lebhafter, und zuletzt sieht man sie als lange zarte Fäden, die schnelle, peitschenartige Schwingungen ausführen. Es unterliegt hier gar keinem Zweifel, dass die Cilien allmählig aus der Spore hervordachsen, und dasselbe gilt, nebenbei bemerkt, auch für die Cilien des zweiten Schwärmstadiums. — Hand in Hand mit der fortschreitenden Ausbildung der Cilien beginnt eine anfangs kaum merkbare, aber zusehends stärker werdende wackelnde Bewegung der Schwärmsporen, die zuletzt, kurz vor dem Ausschwärmen, einen sehr lebhaften Character annimmt.

Während der Cilienbildung oder kurz vorher oder nachher geht ein Process vor sich, der nur noch in den Oogonien der *Saprolegnien* sein Analogon findet (DE BARY. 3, Kap. 7) und der in den Sporangien merkwürdigerweise von allen Beobachtern übersehen worden ist. An einzelnen Stellen der Sporen bilden sich nämlich warzenförmige Vorsprünge, die mehr und mehr hervortreten und schliesslich sich durch Abschnürung von der Spore lösen. Die so gebildeten isolirten Protoplasmaklümpchen bewegen sich eine kurze Zeit langsam umher, ohne jedoch ihren Ort beträchtlich zu verändern und werden darauf wieder von den Sporen eingeschluckt, so weit constatirt werden konnte immer von den nämlichen, von denen sie herkommen. Das Einschlucken geschieht ebenfalls allmählig: das Plasmaklümpchen legt sich an die Spore an, zwischen beiden tritt ein schmales Verbindungsstück auf; das bald breiter wird, so dass das Klümpchen nur noch als eine flache Warze erscheint, die zuletzt ganz in der Spore aufgeht. (Fig. 10 stellt einen Theil eines Sporangiums in dem in Rede stehenden Stadium dar; *kk* sind die Plasmaklümpchen, bei *k'* ist ein solches gerade im Begriff abgeschnürt oder eingeschluckt zu werden.) Noch sind die ersten Plasmaklümpchen nicht alle eingeschluckt, so werden schon wieder neue abgeschnürt, und dieses Spiel dauert eine Zeitlang, etwa 1 Minute oder etwas länger an. Schliesslich werden sie alle wieder in die Sporen aufgenommen, ohne dass mit den letzteren irgendwelche bleibende Veränderung vor sich gegangen wäre; nur ausnahmsweise passirt es, dass ein Theil der Plasmaklümpchen persistirt, zusammen mit den Sporen aus dem Sporangium entleert wird und zu Grunde geht; die Sporen selbst verhalten sich in diesem letzteren Falle ganz normal. — Durch diese seine anscheinend vollständige Erfolglosigkeit wird der beschriebene Vorgang zu einem sehr merkwürdigen und räthselhaften.

Die Grösse der ausgestossenen Plasmaklümpchen, welche ganz das Aussehen gewöhnlichen feinkörnigen Protoplasmas haben, ist sowohl in verschiedenen Sporangien als auch innerhalb desselben Sporangiums eine sehr variable;

die kleinsten erscheinen als einfache Körnchen, die grössten erreichen in inhaltsarmen Sporangien manchmal den halben Durchmesser der Sporen selbst. In den inhaltsarmen Sporangien pflegen überhaupt die Plasmaklümpchen besonders gross und auch besonders zahlreich zu sein; in den gewöhnlichen Sporangien sind sie kleiner (meist von ungefähr der Grösse wie in Fig. 10) und weniger zahlreich, aber immerhin kommen auch hier während des Höhepunktes des Processes deren gewöhnlich mehrere auf jede Spore.

Wenn die Ausstossung der Plasmaklümpchen und die Cilienbildung beendet sind, erfahren die Sporen keine wesentlichen Veränderungen mehr. Nur runden sie sich unter geringer Contraction noch mehr ab und nehmen eine regelmässig ovale, an dem cilientragenden Ende etwas zugespitzte Gestalt an. Sie bestehen aus sehr hellem durchsichtigem feinkörnigem Plasma, das nur wenige grössere Körner führt und drei peripherische Vacuolen enthält, von denen wenigstens eine pulsirend ist, wie ich mich auf einem allerdings späteren Stadium überzeugen konnte<sup>1)</sup>.

Behandelt man ein Sporangium mit einer beliebigen Jodlösung, so nimmt das Protoplasma der Sporen nur in dem der Sporangiumwand zugekehrten Theil, etwa einem Viertel seiner ganzen Masse, eine braune Färbung an, während ihre übrige Substanz sich nur hell gelblich färbt. Diese eigenthümliche Vertheilung der Substanz, von der an frischen Sporen nichts zu erkennen ist und die zu der Insertion der Cilien keinerlei Beziehung zeigt, bleibt auch nach dem Ausschwärmen der Sporen erhalten — wie lange, habe ich nicht untersucht. In der braunen Partie befinden sich hart an der Peripherie mehrere durch Jod schwarz werdende Punkte oder Körner, die ebenfalls ohne Jodbehandlung absolut nicht zu erkennen, resp. von den anderen Körnern zu unterscheiden sind; es gelang mir nicht, über ihre Natur etwas näheres zu ermitteln. Diese schwarzen Punkte treten übrigens schon sehr früh in dem Sporangiuminhalt auf, jedenfalls vor der Differenzirung der Sporenanlagen, vielleicht schon vor der Querwandbildung; sie lassen sich ebenfalls in den bereits ausgeschwärmten Sporen nachweisen. In den vegetativen Schläuchen scheinen sie ganz zu fehlen.

Die Entleerung geschieht so, dass die erste Spore, die bis dahin immer noch in einer bestimmten Entfernung von dem Scheitel des Sporangiums sich gehalten hatte, plötzlich in den Fortsatz einrückt und, während die Endwand in noch zu besprechender Weise schwindet, in's Freie gelangt, um nach einigen unentschlossenen Bewegungen davonzuteilen; die übrigen

1) Auch im zweiten Schwärmstadium besitzen die Sporen eine (und zwar hier sicher nur eine) pulsirende Vacuole, wie schon LITNER (9) angiebt und wie auch ich mehrfach beobachtet habe; sie befindet sich an der Insertionsstelle der Cilien. — Es sind somit die Schwärm-sporen der *Saprolegnien* zu der von PREFFER (11) gegebenen Zusammenstellung pflanzlicher Organismen, bei denen pulsirende Vacuolen bekannt sind, hinzuzutügen.

Sporen folgen der ersten auf dem Fusse nach. Der Beginn der Entleerung ist fast immer stürmisch, der erste Theil der Sporen rückt dicht gedrängt vor; diesen Character behält die Entleerung wohl in der Mehrzahl der Fälle bis zum Ende bei. Fast ebenso häufig lässt die Energie der Entleerung bald nach, die späteren Sporen bewegen sich langsam, ohne zu eilen, der Oeffnung zu, kehren oft wieder um und finden manchmal erst nach minutenlangem Umherirren den Ausweg; nicht selten gelangen die letzten Sporen überhaupt nicht hinaus, sondern kommen in dem Sporangium zur Ruhe — wie schon mehrere der älteren Autoren hervorgehoben haben. — Bei dem Ausschwärmen geht die erste Spore stets mit dem cilientragenden Ende voran; die übrigen befolgen hierin keine Regel, gehen vielmehr ebenso häufig mit dem vorderen wie mit dem hinteren Ende, die schwingenden Cilien nachschleppend, als auch endlich mit der einen Seite voran.

Die Austrittsöffnung kann auf sehr verschiedene Weise zu Stande kommen. In dem bei weitem häufigsten Falle schmiegt sich die erste Spore der Endwand des Fortsatzes dicht an und wölbt sie bei ihrem weiteren Vorrücken anscheinend widerstandslos bis zu etwa halbkugelförmiger Gestalt vor; in diesem Stadium entschwindet die während der Vorwölbung zusehends blasser und undeutlicher gewordene Endwand vollständig der Wahrnehmung und nach vollzogener Entleerung ist keine Spur mehr von ihr zu sehen, während die Seitenwände des Fortsatzes ihre Lage und ihre scharfen Contouren unverändert beibehalten. — Manchmal sieht man aber, noch bevor die erste Spore sich in Bewegung gesetzt hat, die Endwand plötzlich blasser werden und verschwinden, worauf alsbald die Entleerung beginnt. — Ferner habe ich einigemal beobachtet, dass die Endwand von den andrängenden Sporen wie ein an einem Charnier befestigter Deckel abgehoben wurde, und erst einige Zeit nach vollendeter Entleerung verschwand. — In den sehr seltenen Fällen endlich, wo die Endwand scharf contourirt, also ungewöhnlich fest und starr ist und dem Druck der ersten Spore nicht nachgiebt, presst sich diese durch ein äusserst enges, nicht direct wahrnehmbares Loch in der Endwand hindurch, dabei in mehrere Stücke zerreissend; dasselbe Loos erleiden auch noch einige folgende Sporen, aber bei ihrem Durchtritt erweitern sie das Loch so weit, dass die übrigen zwar mit grosser Mühe und sehr langsam, aber doch intact sich hindurchzwingen können. In diesem Fall bleibt ein ansehnlicher Theil der Endwand längere Zeit nach der Entleerung erhalten und es bleibt fraglich, ob derselbe überhaupt jemals ganz schwindet.

Längenveränderungen des Sporangiums sind während und vor der Entleerung nicht gut möglich, da ja die Membran von der Trennung der Sporen an sich in einem spannungslosen Zustand befindet und mit dem Protoplasma in keiner Berührung mehr steht, also ein todttes Gebilde ist. Da aber UGGER (20) eine bis zur Entleerung andauernde Verlängerung des Sporangiums und BRAUN (6, pag. 199) indirect eine Verkürzung desselben während der Entleerung behauptet (er sagt nämlich, dass die Entleerung durch die Elasticität

der Membran bewirkt wird), so sah ich mich veranlasst, nichtsdestoweniger Messungen anzustellen, welche ausnahmslos das voranzusehende Resultat ergaben, dass das Sporangium von der Trennung der Sporen an überhaupt keinerlei Grössenveränderungen mehr erfährt.

Die Zeit, welche von der Trennung der Sporen bis zur Entleerung derselben vergeht, ist bei Entwicklung unter normalen Bedingungen (im Hängetropfen in sauerstoffhaltigem Wasser) für die Species ziemlich constant. Bei *Saprolegnia Thureti* schwankt sie zwischen 14–16 Minuten; bei *S. spec. 7* und *S. monoica* zwischen 16–18, selten bis 20 Minuten. — Die Zeit, welche ein Sporangium zu seiner Entwicklung bedarf, beträgt somit ca.  $1\frac{3}{4}$  Stunden (nämlich: 1 Stunde von der Abgrenzung bis zur Differenzirung der Sporenanlagen; 25 Minuten von da bis zur Trennung der Sporen; 14–20 Minuten von da bis zur Entleerung); doch kam sie ausnahmsweise, auch bei Entwicklung unter normalen Bedingungen beträchtlich länger dauern, in einem beobachteten Falle z. B. ungefähr 4 Stunden.

Meine Untersuchungen über die Mechanik der Entleerung der Sporen haben bisher nur gezeigt, dass die Frage eine sehr schwierig zu lösende ist. Ich behalte mir vor, dieselben nach ihrer Vervollständigung in einer späteren Arbeit zu publiciren.

## Kapitel II. Andere Saprolegnien.

Da die Sporangienentwicklung bei den übrigen von mir untersuchten *Saprolegnien* im grossen und ganzen sich derjenigen der im ersten Kapitel behandelten *Saprolegnia*-Arten gleich verhält, so kann hier von einer vollständigen Beschreibung derselben abgesehen werden und kann ich mich hauptsächlich darauf beschränken, die Unterschiede hervorzuheben.

*Achlya polyandra* bildet in Mehlwurmculturen grosse, dicke, meist gefüllte Sporangien. Die der spindelförmigen sich nähernde Gestalt und der grobkörnigere, dunklere Inhalt verleihen ihnen einen von *Saprolegnia*-Sporangien abweichenden Habitus. Durch die angeführten Eigenschaften werden die auf Mehlwürmern gebildeten *Achlya*-Sporangien für die Beobachtung der Details der Sporenentwicklung ziemlich ungünstig. Auf Fliegenbeinen wollte sich die *Achlya* nicht recht entwickeln. Dagegen gelang es mir einige mal, in abgeschnittenem Material eine reichliche Sporangienbildung zu erzielen; es bildeten sich solche von allen möglichen Grössen, bis zu zehnsporigen herab, darunter sowohl gefüllte als auch viele normale und inhaltsarme; ich war daher in der Lage, an einer beträchtlichen Zahl Sporangien von den verschiedensten Eigenschaften die Entwicklung genau zu verfolgen. Ausser diesen untersuchte ich auch noch die wenigen ganz grossen, nicht gefüllten Sporangien, die in meinen Mehlwurmculturen aufzutreiben waren.

Bis auf die der Entleerung vorausgehenden Vorgänge gleicht die Entwicklung vollkommen derjenigen von *Saprolegnia*. Die Details der Differenzirung der Sporenanlagen sind klarer und übersichtlicher als bei dieser. Was den Grad der Quellung der Sporen im Trennungsstadium betrifft, so wurden alle bei *Saprolegnia* beschriebenen Modalitäten auch hier beobachtet, mit Ausnahme des völligen Schwindens der Trennungslinien; am häufigsten ist das Aufquellen bis zur dichten Berührung mit mehr oder weniger undeutlichen Trennungslinien. — Die Ausstossung der Plasmaklümpchen beobachtete ich in einigen kleinen Sporangien, in grösseren und ganz grossen gelang es mir nicht sie zu sehen, womit aber nicht ihr Fehlen behauptet sein soll. — Bis zu diesem Zeitpunkt waren die kleinen Sporangien, in der Entwicklung sowohl als auch im Habitus, denen von *Saprolegnia* so durchaus ähnlich, dass ich jedesmal von neuem in Zweifel gerieth, ob ich nicht ein Versehen begangen und wirklich *Saprolegnia* vor mir habe, welche Zweifel erst durch das nun folgende gehoben wurden. Anstatt nämlich jetzt, wie bei *Saprolegnia*, Cilien zu bilden und sich zu eiförmiger Gestalt abzurunden, ziehen sich die Sporen alsbald nach dem Verschwinden der Plasmaklümpchen von der Membran zurück und nach der Axe des Sporangiums zusammen, hier sich allmählig dicht aufeinanderdrängend, so dass die einzelnen Sporen oft nicht mehr scharf zu unterscheiden sind. Darauf beginnt die Entleerung, die Sporenmasse durchbricht in nicht näher verfolgter Weise die Endwand und ordnet sich vor der Mündung des Sporangiums zu dem bekannten Köpfchen an. Die Entleerung hat stets einen stürmischen Character. Die einen compacten Cylinder bildende Sporenmasse rückt nicht in toto vor, sondern ihre Basis bleibt zunächst der Querwand anliegen; der Cylinder wird dünner aber nicht kürzer, wie wenn er von den Seiten zusammengedrückt würde, wobei die Sporen eine spindelförmige Gestalt annehmen, erst später beginnt auch die basale Partie vorzurücken. Häufig geschieht es, dass während der Entleerung die Sporenmasse in mehrere Theile, gegen Ende derselben manchmal selbst in die einzelnen Sporen zerfällt; man sieht alsdann die Sporen durch lange dünne Fäden mit einander zusammenhängen, welche ganz das Aussehen von Protoplasma haben und ganz allmählig in die fein ausgezogenen Spitzen der Sporen übergehen. Es ist wohl nicht anders denkbar als dass diese Fäden aus den Plasmaverbindungen hervorgehen, die zwischen den Sporenanlagen ausgespannt waren und die hier, im Gegensatz zu *Saprolegnia*, während der Trennung der Sporen grossentheils erhalten bleiben dürften; nachweisen lässt sich dies Persistiren der Plasmaverbindungen freilich nicht, da die Sporen von der Trennung an immer mehr oder weniger nahe bei einander liegen bleiben.

Der Zeitraum zwischen der Trennung der Sporen und der Entleerung ist bei *Achlya* noch kürzer als bei *Saprolegnia*. In zwei von verschiedenen Orten stammenden Materialien betrug derselbe mit auffällender Constanz 9 resp. 11—12 Minuten.

Gelegentlich habe ich auch einen Theil der Entwicklung eines grossen

Sporangiums von *Achlya oblongata* (DE BARY)<sup>1)</sup> beobachten können und hier die Anwesenheit eines die Sporenanlagen verbindenden Plasmawandbeleges sowie das Persistiren deutlicher Trennungslinien im Quellungsstadium constatirt.

*Dictyuchus clavatus* hat grosse, dick keulenförmige, fast ausnahmslos gefüllte Sporangien, mit breit abgerundetem Scheitel ohne Fortsatz; dieselben zeichnen sich durch ein ganz besonders dunkles undurchsichtiges Protoplasma aus. In Fliegenbeinculturen werden die Sporangien zwar viel kleiner, behalten aber alle ihre sonstigen Eigenschaften. Auch in abgesehenem Material bilden sich immer wieder dieselben keulenförmigen gefüllten Sporangien und zwar nur spärlich. *Dictyuchus* bildet also wohl das denkbar ungünstigste Material für die Untersuchung der subtilen Vorgänge und Structurverhältnisse, auf die es uns ankommt. Da er aber das Haupt-Untersuchungsobject BUSSEY'S (7, pag. 9—13) gewesen ist, an dem derselbe seine von den meinigen abweichenden Resultate in erster Linie gewonnen hat, so sah auch ich mich genöthigt, dieses Object einer eingehenden Untersuchung zu unterwerfen. Ich beobachtete zahlreiche Fliegenbeinsporangien und mehrere grosse Sporangien, die wenigstens an einer Stelle ein kleines Lumen enthielten; von den grossen gefüllten abstrahirte ich von vornherein ganz, da vor auszusehen war, dass an diesen so gut wie nichts zu sehen sein wird.

Das Resultat war, dass auch bei *Dictyuchus* die Entwicklung, bis auf die letzten Vorgänge, in allen wesentlichen Punkten ebenso verläuft wie bei *Suprolegnia*. In den gefüllten Sporangien war zwar einiges nicht mit der wünschenswerthen Klarheit zu sehen, doch ergab wenigstens die Beobachtung nichts, was auf ein irgendwie abweichendes Verhalten hingedeutet hätte. Die aufgequollenen Sporen sah ich nur ganz selten, aber dann unzweifelhaft, durch Zwischenräume von merklicher Breite getrennt bleiben, sonst quollen sie bis zur dichten Berührung, und zwar waren die Trennungslinien wiederum nur selten ganz scharf, in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle hingegen ziemlich undeutlich. Ein völliges Verschwinden derselben scheint aber nicht vorzukommen: in allen Sporangien, die ich mit den nöthigen Cautelen daraufhin beobachtete, sah ich sie wenigstens andeutungsweise persistiren. Die geringe Deutlichkeit der Trennungslinien dürfte übrigens nur auf Rechnung der vollständigen Erfüllung der Sporangien mit undurchsichtigem Protoplasma zu setzen sein, denn in nur theilweise gefüllten Sporangien waren die Trennungslinien in dem nicht gefüllten Theil stets viel schärfer als in dem gefüllten. — Ebenfalls mit der dichten Anfüllung der Sporangien, also mit der geringen Zellsaftmenge und dem geringen Turgor dürfte es zusammenhängen, dass die Querwand vor der Trennung der Sporen meist plan ist und dass während der letzteren meist keine Verkürzung des Sporangiums nachgewiesen werden konnte. In einem Sporangium, welches ausnahmsweise

1) Eine noch nicht publicirte Species.

ein mehr als seine halbe Länge einnehmendes Lumen besass, verhielt sich die Querwand ganz wie bei *Saprolegnia*, und hier fand auch eine Verkürzung von fast 2% statt. Dass auch bei den übrigen Sporangien eine Zellsaftausscheidung und eine mit meinem Micrometer nicht mehr sicher nachweisbare (also ca. ½% nicht übersteigende) Verkürzung stattfindet, dafür spricht der Umstand, dass ich mehrmals eine Ansammlung von Bac-  
terien um im Stadium der Sporentrennung befindliche Sporangien beobachtet habe. — Eine Ausstossung von Plasmaklumpchen habe ich, mit Ausnahme einer sehr unsicheren Beobachtung, nicht wahrnehmen können, möglicherweise sind sie hier sehr klein.

Sind die Trennungslinien wieder schärfer und etwas breiter geworden, so runden sich die Sporen nur noch wenig ab und umgeben sich nach einiger Zeit noch innerhalb des Sporangiums mit einer Cellulosemembran. Eine halbe Stunde nach der Trennung oder noch später beginnt die Entleerung, welche so vor sich geht, dass die Sporangienmembran entweder nur am Scheitel oder ganz bis auf den basalen Theil schwindet, worauf die Sporen langsam etwas auseinander rücken.

Die Sporangien von *Saprolegnia monilifera* und *S. spec. 2*<sup>1)</sup> erinnern habituell an diejenigen von *Dictyuchus*; sie sind gross und dick, etwas keulenförmig, meist gefüllt, mit undurchsichtigem Plasma. Es konnten von beiden Formen nur wenige Sporangien untersucht werden. Sie unterscheiden sich von den anderen *Saprolegnia*-Arten zumal durch den sehr kurzen Fortsatz, der während der Sporentrennung seine Form nur sehr wenig ändert, sowie durch ihre langsamere Entwicklung (von der Sporentrennung bis zum Ausschwärmen vergingen 30—32 resp. 25 Minuten). — Die Trennungslinien sind meist ziemlich undeutlich, die Ausstossung der Plasmaklumpchen konnte nicht gesehen werden. Im übrigen stimmen diese Arten mit den anderen überein.

Hervorgehoben ist, dass die zwei daraufhin geprüften Sporangien von *Saprolegnia spec. 2* sich nach der Abgrenzung noch um ca. 2% verlängerten; hierin unterscheidet sich diese Species von allen übrigen von mir untersuchten *Saprolegnien*.

Bei *Leptomitus lacteus*, über dessen Sporangienentwicklung BÜSGEN (7, pag. 14—16) nähere Angaben macht, füllen sich die Endglieder des in bestimmten Abständen eingeschnürten Fadens mit Protoplasma und werden als Sporangien abgegrenzt, indem nach den neuesten Angaben PRINGSHEIMS (14, pag. 303) eines der grossen Cellulinkörner sich in die Strictur ein-

1) Diese Form trat zufällig in einer Fliegenbeincultur einer anderen Species auf, unterdrückte diese und producirte zahlreiche Sporangien; ihre weitere Cultur missglückte. Die Form zeichnete sich unter anderem dadurch aus, dass fast alle Sporangien an besonderen ganz kurzen Seitenzweigen sass.

zwängt und dieselbe verschliesst. Darauf treten mehrere in einer Reihe hintereinander liegende Vacuolen auf. Die Differenzirung der Sporenanlagen geschieht, indem entweder diese Vacuolen sich zu einem wellenförmigen Lumen vereinigen, oder indem von ihnen aus Einschnürungen in dem Protoplasma auftreten (vgl. die Fig. 11 und 12 bei BUSGEN). BUSGEN spricht zwar auch hier von bis zur Membran durchgehenden Körnerlinien, allein es darf wohl mit grosser Wahrscheinlichkeit ein gleiches Verhalten wie bei den übrigen *Saprolegnieen* angenommen werden. An dem einzigen *Leptomitus*-Sporangium, bei dem ich einen Theil der Entwicklung beobachten konnte, habe ich zwar den Differenzirungsvorgang selbst nicht mehr gesehen, wohl aber mit voller Sicherheit die Anwesenheit eines continuirlichen Protoplasma-Wandbeleges constatirt, dem die Sporenanlagen als halbkugelige Höcker ansitzen. — Im Stadium maximaler Quellung der Sporen schienen mir die Trennungslinien, wenn auch undeutlich, zu persistiren, doch möchte ich auf die eine Beobachtung hin keine bestimmte Behauptung aufstellen.

BUSGEN giebt an, dass in dem homogen gewordenen Plasma die „Körnerlinien“ nicht simultan wieder auftreten, sondern dass dasselbe „zuerst in grössere Stücke zerlegt wird, die sich dann weiter theilen, bis die Portionen die Sporengrösse erreicht haben“. Diese Beobachtung, die in auffallendem Gegensatz zu dem Verhalten der übrigen *Saprolegnieen* stehen würde, scheint mir einer anderen Deutung fähig zu sein. Es verlaufen nämlich die „Körnerplatten“, wie BUSGEN angiebt, bei *Leptomitus* häufig schräg. Nehmen wir nun an, dass in einem Sporangium einige Trennungsfächen senkrecht, die übrigen aber geneigt zur Oberfläche liegen, so ist es einleuchtend, dass für den von oben darauf schauenden Beobachter die ersteren eher deutlich sichtbar werden müssen als die letzteren, auch wenn sie alle gleich sind und gleichmässig an Schärfe und Breite zunehmen.

Die weitere Entwicklung bis zur Entleerung ist bei *Leptomitus* die gleiche wie bei *Saprolegnia*; ob Ausstossung von Plasmaklümpchen bei dem von mir beobachteten Exemplar statt fand, habe ich mir leider nicht notirt.

Von besonderem Interesse wäre die Untersuchung der Sporangien von *Aphanomyces* gewesen, da die Entwicklung hier ganz anders vor sich zu gehen schien, als man für die übrigen *Saprolegnieen* nach den bisher vorliegenden Daten annehmen musste. Ich habe auch eine nicht näher bestimmte Art in Cultur gehabt, sie entwickelte sich aber ungünstig, so dass auf die Untersuchung der Sporangien verzichtet werden musste. Indessen ist dieser Misserfolg um so leichter zu verschmerzen, als aus den Untersuchungen DE BARY'S (2) zur Genüge hervorgeht, dass die Vorgänge bei *Aphanomyces*, unbeschadet mancher durch die Sporangienform gebotener Eigenthümlichkeiten, in den wesentlichen Punkten mit denjenigen übereinstimmen, welche in der vorliegenden Arbeit für die anderen *Saprolegnieen*

geschildert worden sind. Sie seien hier nach DE BARY kurz recapitulirt. Die sehr langen und dünnen, vegetativen Fäden ganz ähnlich sehenden Sporangien führen einen zarten Protoplasma-Wandbeleg. Die Differenzirung der Sporenanlagen beginnt damit, dass der Wandbeleg in bestimmten Querzonen zunächst je mehrere kleine unregelmässige Anschwellungen bildet, die bald miteinander zu einem Ringwulst verschmelzen. Dies ist zwar in dem Text der DE BARY'schen Arbeit (2, pag. 170) nicht direct gesagt und ist auch aus seiner Abbildung Fig. 1 Taf. XIX nicht zu ersehen, was indessen nur an der ungenauen Wiedergabe dieser liegt; Herr Prof. DE BARY hatte die Güte, mir die Originalzeichnung zu jener Abbildung und noch eine weitere unveröffentlichte Handzeichnung zu zeigen, welche das soeben angeführte Verhalten völlig klar erkennen lassen, und hat mir überdies mündlich den Sachverhalt ausdrücklich so angegeben, wie ich ihn hier dargestellt habe. — Die Ringwülste werden successive dicker, bis zuletzt die Sporenanlagen als hohe Querzonen dichten Plasma's erscheinen, abwechselnd mit 3—4 mal niedrigeren hellen Querzonen, in denen das Sporangium nur von einem sehr zarten Plasmawandbeleg ausgekleidet wird. Man sieht, dass die Bildung der Sporenanlagen im Princip dieselbe ist, wie wir sie oben für die inhaltsarmen Sporangien von *Saprolegnia* beschrieben haben; der Unterschied besteht nur darin, dass bei *Saprolegnia* die Anschwellung des Wandbeleges auf begrenzte kreisförmige Stellen beschränkt ist, während sie in den sehr dünnen Sporangien von *Aphanomyces* ganze Querzonen derselben begreift. — Bei der Trennung der Sporen sieht man in den hellen Querzonen den Wandbeleg sich von der Membran abheben — also ganz wie in den inhaltsarmen *Saprolegnia*-Sporangien — und in der Axe des Sporangiums zu einem dünnen Faden sich zusammenziehen, der entweder bestehen bleiben oder durchrissen werden kann. Dabei nimmt das Protoplasma der Sporen ein helleres, gleichmässig feinkörniges Aussehen an, eine merkliche Quellung scheint aber nicht stattzufinden. — Die Entleerung geschieht wie bei *Achlya*.

Nachdem somit *Aphanomyces* aufgehört hat eine scheinbare Ausnahme zu bilden, sehen wir die Sporangienentwicklung bei sämtlichen *Saprolegnicen* — bis auf die Entleerung und die ihr unmittelbar vorausgehenden Stadien — in erfreulich übereinstimmender Weise vor sich gehen. Weitere Untersuchungen werden zu zeigen haben, inwieweit derselbe Modus der Entwicklung auch bei den Sporangien anderer Thallophyten verbreitet ist. Die bisher vorliegenden Daten lassen bereits auf ein sehr ähnliches Verhalten namentlich bei mehreren Algen schliessen, während hingegen die Sporangien der meisten *Peronosporaceen* eine wesentlich andere Entwicklung zu haben scheinen.

### Kapitel III.

## Vergleich der Sporangientwicklung mit der Oogonientwicklung.

Als die vielen cardinalen Unterschiede, die zwischen der Entwicklung der Sporangien und der Oogonien der *Saprolegnien* zu bestehen schienen, beim Fortschreiten meiner Untersuchung über die ersteren mehr und mehr schwanden, entschloss ich mich auch die Oogonien einer eingehenden Untersuchung zu unterziehen, um des näheren festzustellen, wie weit eigentlich die Uebereinstimmung geht. Untersucht wurden hauptsächlich die Oogonien von *Saprolegnia Thureti* und *monoica*, sowie einige von *Achlya polyandra*. Die Resultate der Untersuchung stimmen bis auf einige hinzuzufügende, für meine Fragestellung allerdings nicht unwichtige Details, mit der Beschreibung der Oogonientwicklung überein, welche DE BARY gegeben hat (3, pag. 36 bis 38, 51). Auf letztere verweisend, kann ich mir daher eine zusammenfassende Beschreibung ersparen und gleich zur vergleichenden Darstellung übergehen.

Die vorbereitenden Schritte zur Abgrenzung, die Bildung der Hyaloplasma-  
brücke resp. Hyaloplasmascheibe und das Auftreten der Querwand an der Basis dieser, die (mitunter) eintretende Vorwölbung der Querwand in den Tragfäden, das Zurückweichen des Protoplasmas von der Querwand und dessen nachheriges Zurückströmen, — alles dies geht bei den Oogonien genau in derselben Weise vor sich wie bei den Sporangien. Die Angabe DE BARY'S (3, pag 36), dass die Oogonien nach ihrer Abgrenzung ganz mit Protoplasma gefüllt seien und dass ein Lumen erst nachträglich sich in ihnen bilde, ist für manche Fälle richtig. Aber in der Mehrzahl der von mir untersuchten Fälle und insbesondere in den grösseren Oogonien ist ein Lumen von Anfang an vorhanden; nur ist es anfänglich etwas kleiner als späterhin und wegen der Ueberdeckung durch den dicken und undurchsichtigen Wandbeleg wenig deutlich. Es besteht also in dieser Hinsicht kein Unterschied zwischen Sporangien und Oogonien.

Noch lange nach vollendeter Abgrenzung finden in dem Protoplasma des Oogoniums lebhaftere Umlagerungen statt. Zuletzt glättet sich der Wandbeleg und es treten in ihm die bekannten Vacuolen auf. Nach einiger Zeit beginnt die Bildung der Oosporen-Anlagen. Die Entwicklung geht sehr langsam vor sich, viel langsamer als diejenige der Sporangien. In einem beobachteten Fall hatte sich 3 Stunden nach der Abgrenzung des Oogoniums der Wandbeleg geglättet und nach weiteren 5 Stunden war die Differenzirung der Sporenanlagen vollendet.

Die Oosporenanlagen entstehen bekanntlich meist in relativ beträchtlichen Entfernungen von einander durch locale Ansammlung des Protoplasmas, sie bilden zunächst flache, zuletzt etwa halbkugelig Vorsprünge des Protoplasma-Wandbeleges, welcher währenddessen allmählig dünner wird und schliesslich nur noch eine einfache, nicht überall continuirliche Körnerschicht führt,

selbst aber ununterbrochen bleibt. Nicht selten finden sich zwischen den Oosporenanlagen mehr oder weniger zahlreiche Protoplasmafäden ausgespannt. Alles dies stimmt auf das genaueste mit der Form der Differenzirung der Sporenanlagen überein, wie wir sie in den inhaltsarmen Sporangien kennen gelernt haben. Das Gesagte gilt für die kleineren Oogonien, in denen sich nur relativ wenige (1—10) Oosporen bilden. Daneben giebt es aber auch grössere Oogonien, in denen die Zahl der Oosporen beträchtlich höher wird. Hier entstehen die Oosporenanlagen unmittelbar neben einander; wie deren Differenzirung zu Stande kommt, lässt sich wegen des in diesem Falle einen dickeren Wandbeleg bildenden und sehr undurchsichtigen Plasmas nicht sicher verfolgen; doch darf wohl die Annahme als die wahrscheinlichste, beinahe einzig denkbare bezeichnet werden, dass eine Zerklüftung des Wandbeleges durch tiefe und schmale, von dem Lumen ausgehende Einschnürungen vor sich geht, ebenso wie in den normalen Sporangien. Wir hätten somit bei den Oogonien dieselben beiden Modificationen der Sporenanlagen-Differenzirung wie in den Sporangien; freilich ist in ersteren der eine, in letzteren der andere Modus der gewöhnlichere; was aber eine einfache Consequenz des Umstandes ist, dass der Grad der Erfüllung mit Protoplasma in beiden ein verschiedener zu sein pflegt und daher in den einen meist relativ wenig, in den anderen meist relativ viel Sporen gebildet werden.

Kurze Zeit vor der Trennung findet in den Oogonien, ebenso wie in den Sporangien, plötzlich eine starke Contraction der Sporenanlagen statt, welche gleichzeitig viel schärfere Contouren als bisher erhalten. Letzteres ist besonders in den Oogonien von *Achlya* auffallend, wo das Protoplasma zahlreiche ziemlich grosse Fettkugeln enthält; diese Fettkugeln liegen anfangs zum Theil hart an der inneren Peripherie der Sporenanlagen, über deren allgemeinen Contour mehr oder weniger vorragend und denselben unregelmässig machend; während der Contraction aber werden die Fettkugeln ganz in das Protoplasma der Sporenanlagen aufgenommen und diese erhalten einen ganz glatten, scharfen Contour. — Unbeschadet der Analogie der Erscheinung in beiden Fällen findet die Contraction in den Oogonien doch in anderer Weise statt als in den Sporangien; während nämlich in letzteren die Sporenanlagen schmaler aber kaum flacher werden, so dass der seitliche Abstand zwischen benachbarten Sporenanlagen sich beträchtlich vergrössert, beruht in den Oogonien die Contraction gerade auf einer starken Abflachung der Sporenanlagen, verbunden mit einer geringen Verbreiterung derselben. Der Vorgang ist also in beiden Fällen in gewissem Sinne ein entgegengesetzter; gemeinsam bleibt aber die rapide Volumenabnahme der Sporenanlagen und das Auftreten eines scharfen Contours an ihrer freien Seite. Gegenüber dieser Uebereinstimmung in dem Wesen der Erscheinung darf man jene Differenz wohl als nebensächlich bezeichnen.

Die Trennung der Sporen geht wiederum genau ebenso vor sich wie in den Sporangien. Der dünne Wandbeleg hebt sich zwischen den Sporenanlagen von der Membran ab, wird durchrissen und in die nummehr isolirten

Sporen eingezo-gen; gleichzeitig hiermit beginnen die Sporen beträchtlich aufzuquellen, bis auf etwa das doppelte ihres früheren Volumens. In wenigsporigen Oogonien bleiben die Sporen hierbei, ebenso wie in inhaltsarmen Sporangien, gewöhnlich isolirt und gerundet; doch geht die Quellung auch häufig so weit, dass die Sporen sich allseitig berühren und das Oogonium ganz ausfüllen; und dabei können alle die Abstufungen in der Deutlichkeit der Trennungslinien vorkommen, die wir von den Sporangien her kennen. Trennungslinien, welche senkrecht auf der Ebene des Gesichtsfeldes standen, sah ich stets mehr oder weniger deutlich persistiren; bei stark geneigter Lage aber entschwanden sie nicht selten für eine Zeitlang völlig der Wahrnehmung; dieses anscheinende Verschwinden derselben möchte ich ausschliesslich auf Rechnung ihrer schrägen Stellung setzen. Fälle dichter Berührung der aufgequollenen Oosporen sind besonders häufig bei *Saprolegnia monoica*, wo das Volumen der Sporen relativ grösser ist als bei *S. Thureti* und *Achlya*; doch sah ich solche Fälle auch bei *S. Thureti* wiederholt. — Dies gilt von den wenigsporigen Oogonien; in den grossen vielsporigen scheint das Aufquellen der Oosporen bis zu unmittelbarer Berührung der normale Fall zu sein.

Einige mal glaube ich in den aufquellenden Oosporen das Auftreten von Vacuolen gesehen zu haben; deren Anwesenheit (resp. deren Fehlen) sicher zu constatiren dürfte wegen der Undurchsichtigkeit des Protoplasma's ein Ding der Unmöglichkeit sein.

Auch eine Ausscheidung von Zellsaft muss während der Trennung der Sporen stattfinden, wie sich aus der im Trennungsstadium häufig stattfindenden Ansammlung schwärmender Bacterien oder *Saprolegnicen*-Zoo-sporen, sowie aus der Einwärtswölbung der Querwand ergibt. Messungen anzustellen hielt ich im allgemeinen für aussichtslos, denn bei der gewöhnlich kugeligen Gestalt der Oogonien musste sich die Volumenabnahme auf alle drei Dimensionen gleichmässig vertheilen und somit in jeder derselben die Verkürzung hinter dem sicher nachweisbaren Minimum zurückbleiben; nur ein ungewöhnlich gestrecktes Oogonium habe ich gemessen und fand eine Verkürzung der Längsaxe um ca.  $1\frac{1}{2}\%$ , abgesehen von der Einwärtswölbung der Querwand.

Nach der Quellung beginnen die Oosporen wieder sich zu contrahiren und abzurunden. Nach einigen Minuten findet die Ausstossung und Wiedereinschluckung von Protoplasma-klümpchen statt, durchaus in derselben Weise wie in den Sporangien. — Von jetzt an erst verhalten sich die Oosporen anders als die Schwärmsporen, indem sie sich definitiv abrunden und sich schliesslich mit einer Cellulosemembran umgeben.

Hinzugefügt sei noch, dass nach Jodbehandlung in dem Protoplasma junger Oogonien sowohl als auch fertiger Oosporen ebensolche schwarze Punkte auftreten, wie in den Sporangien; dieselben sind also den Oogonien und Sporangien im Gegensatz zu den vegetativen Fäden gemeinsam.

Alles in allem sieht man, dass eine frappante, bis in die Details gehende

Uebereinstimmung zwischen der Entwicklung der Oogonien und derjenigen der Sporangien der *Saprolegniën* besteht; die Zellbildung geschieht in beiden nach völlig gleichem Plan. Die durchgreifenden Unterschiede der Oogonien von den Sporangien beschränken sich auf die Verdickung (und häufige Tüpfelung) der Membran, das Auftreten der Vacuolen vor der Differenzirung der Sporenanlagen, die bedeutendere Grösse der Sporen und deren abweichendes ferneres Schicksal. Alle anderen Unterschiede sind entweder unwesentlich oder nur graduell und finden in gleichem Maasse auch zwischen den Sporangien verschiedener *Saprolegniën* statt. So macht insbesondere die Gestalt durchaus keinen durchgreifenden Unterschied aus; zwar sind gewöhnlich die Oogonien kugelig, die Sporangien cylindrisch, allein es giebt auch fast vollkommen kugelige Sporangien und andererseits Oogonien, welche die Gestalt normaler Sporangien täuschend nachahmen, sogar einen Fortsatz haben. Es sind also nicht einmal die extremen Gestalten durchgängig verschieden, ganz zu schweigen von den vielen Uebergangsformen.

Auch in dem morphologischen Ort der Entstehung ist die (im allgemeinen allerdings bestehende) Differenz zwischen Sporangien und Oogonien nicht durchgreifend, beide können vielmehr an genau gleichen Orten sich bilden. Bei *Saprolegnia* z. B., wo die Sporangien gern in die entleerten Häute anderer Sporangien hineinwachsen, thun das auch die Oogonien gar nicht selten, sodass also derselbe Faden, dessen Ende soeben erst Zoosporen gebildet hatte, bald darauf an genau derselben Stelle Oogonien producirt. In abgeschnittenem Material geht fast das gesammte Protoplasma einmal in Schwärmsporen, ein anderes Mal in Oosporen auf; welches von beiden eintritt, hängt blos davon ab, zu welcher Zeit das Abschneiden erfolgt ist; das nämliche Fadenstück, welches heute abgeschnitten in Zoosporenbildung aufgeht, hätte, morgen oder übermorgen abgeschnitten, lauter Oosporen gebildet. — Daraus geht hervor, dass mit einem gewissen Entwicklungsstadium das Protoplasma eines ganzen *Saprolegniën*-Stockes (vielleicht nicht in allen Theilen desselben genau gleichzeitig) seine Eigenschaften derart verändert, dass es, statt wie bisher nur zur Sporangienbildung, nunmehr nur noch zur Oogonienentwicklung befähigt ist. Damit soll aber nicht gesagt sein, dass dieses Entwicklungsstadium ein fest bestimmtes sei. Es kann vielmehr einmal früher, einmal später eintreten; manchmal wird es überhaupt nicht erreicht, während in anderen Fällen ganze Culturen mit, wie es scheint, vollständiger Ueberspringung der ungeschlechtlichen Fortpflanzung sofort zur Oogonienbildung schreiten. Nach meinen Erfahrungen scheint die Regel zu bestehen, dass in Culturen, die viele Generationen hindurch ausschliesslich auf ungeschlechtlichem Wege successive eine aus der anderen erhalten wurden, die Sporangienbildung allmählig mehr und mehr zu Gunsten der Oogonienbildung zurücktritt und schliesslich vielleicht ganz unterbleibt; während umgekehrt in solchen Culturen, die durch Infection mit keimenden Oosporen erhalten wurden, die Sporangienproduction besonders ausgiebig und andauernd zu sein pflegt.

## Nachtrag.

Als das Manuscript der vorliegenden Arbeit bereits fertiggestellt war und deren polnische Ausgabe sich schon im Drucke befand, erschienen zwei neue Publicationen, welche denselben Gegenstand behandeln. Ich möchte deren Inhalt hier kurz besprechen und deren Resultate mit den meinigen vergleichen.

BERTHOLD giebt in seinem Werke „Studien über Protoplasmamechanik“ (Leipzig 1886) auch eine freilich kurze Beschreibung der Sporenbildung in den Oogonien und Sporangien der *Saprolegnien* (pag. 308—310).

Seine Beschreibung der Oosporenentwicklung von *Saprolegnia ferax* stimmt mit den Angaben DE BARY'S (3, pag. 36—38) überein, bis auf einige neue Beobachtungen, welche die meinigen bestätigen. Dieselben betreffen 1. die kurz vor der Trennung eintretende, mit Ausbreitung verbundene plötzliche Contraction der Sporenanlagen und die Zunahme ihres Lichtbrechungsvermögens, 2. die Volumenzunahme der Oosporen alsbald nach ihrer Trennung. Diese Vorgänge sah BERTHOLD noch ausgesprochener bei einer anderen unbestimmten *Saprolegnia*-Species; hier nahmen die Oosporen nach der Trennung bis zum scheinbaren Zusammenfließen an Volumen zu. Hier konnte BERTHOLD auch beobachten, dass während der Volumenzunahme der Oosporen in ihrem Inneren kleine Vacuolen auftraten und bald wieder schwanden. Diese letztere, offenbar auf Untersuchung einer ungewöhnlich günstigen Species beruhende Angabe ist mir eine sehr willkommene Bestätigung und Vervollständigung meiner Beobachtungen. Dass das Aufquellen der Oosporen mit dem Auftreten von Vacuolen Hand in Hand geht, hielt ich nach Analogie mit den Sporangien a priori für wahrscheinlich, glaubte es auch in einem Falle gesehen zu haben, konnte mich aber wegen der Undurchsichtigkeit des Oosporenplasmas bei den von mir untersuchten Formen nicht mit genügender Sicherheit davon überzeugen.

Nur in einem einzigen Punkt kommt BERTHOLD zu einem anderen Resultate als ich. Er giebt nämlich an, dass die zwischen den Oosporenanlagen befindlichen dünnen Parteen des Wandbeleges sich schon während der Ballung allmählig von der Membran ablösen. Dies ist bei den 3 von mir untersuchten Species bestimmt nicht der Fall: die Ablösung und Theilung des Wandbeleges geschieht nicht allmählig, sondern fast momentan, zu einem genau fixirten Zeitpunkt, nach beendeter Ballung und Contraction der Sporenanlagen. Ich möchte vermuthen, dass sich BERTHOLD hier getäuscht hat, zumal da er selbst hinzufügt, dass „*Saprolegnia* ein wenig günstiges Object ist, sich hiervon sicher zu überzeugen.“

Betreffend die Sporangien fasst sich BERTHOLD so kurz, dass ich ihm wörtlich citiren kann. Er sagt: „Auch in den Sporangien von *Saprolegnia ferax* flachen sich die einzelnen Ballen schliesslich stark ab unter Zunahme des Lichtbrechungsvermögens und der Durchsichtigkeit (feine Körnelung). Dann treten in ihnen Vacuolen auf, gleichzeitig hebt sich die ganze Masse

von der Membran ab. Die Vacuolen werden grösser, die Ballen dehnen sich aus und platten sich gegenseitig ab, ohne sich jedoch überall zu berühren, besonders bleiben die Ecken frei. Dann tritt unter amöboiden Formänderungen wieder Contraction auf, schliesslich aber Glättung, die Oberfläche wird prall, die Schwärmer sind definitiv constituirt und mit Cilien versehen.“ — An einer anderen Stelle (pag. 313) bespricht BERTHOLD die Differenz zwischen seinen und BUSGEN'S Beobachtungen; des letzteren Befunde hält er einer Umdeutung für fähig und bedürftig und nimmt an, dass BUSGEN'S Zellplatten „nichts anders sind als schwach entwickelte Trennungszonen zwischen den einzelnen Plasmaballen, mit geringen Saftmassen erfüllt.“ — Endlich hat BERTHOLD auch die Ansammlung von *Saprolegnia*-Zoosporen resp. schwärmenden Bacterien um im Trennungsstadium befindliche Sporangien und Oogonien bemerkt.

Aus diesen kurzen Angaben ergibt sich, dass BERTHOLD die Einzelheiten der Sporangienentwicklung nicht verfolgt hat (was indessen auch nicht in seiner Absicht lag, da er seine Untersuchung zu einem ganz anderen Zweck anstellte), und dass er auch die Vorgänge bei der Trennung der Sporen nicht klar erkannt hat. Hingegen bestätigt er zwei wesentliche Punkte aus meinen Beobachtungen, nämlich 1. dass vor der definitiven Trennung die Sporenanlagen durch einen continuirlichen Wandbeleg verbunden sind (dies sagt er zwar nirgends ausdrücklich, es geht aber aus dem Zusammenhange deutlich hervor, dass er die Entwicklung der Sporangien mit derjenigen der Oogonien für gleich hält und dass seine „Ballen“ ganz dasselbe bedeuten wie meine „Sporenanlagen“); 2. dass bei der Quellung die Sporen nicht zu homogenem Plasma verschmelzen, sondern ihre Individualität bewahren. — Nur in einem Punkte findet sich wiederum ein Widerspruch zwischen unseren Beobachtungen, indem nämlich BERTHOLD angiebt, dass „auch in den Sporangien die Ballen sich schliesslich stark abflachen“; bei den von mir untersuchten *Saprolegnieen* findet in den Sporangien keine Abflachung der Sporenanlagen statt, sondern im Gegentheil eine seitliche Contraction derselben.

Die zweite der hier zu nennenden Arbeiten ist: „On the formation and liberation of the zoospores in the *Saprolegnieae*“ by MARCUS M. HARTOG, (Quarterly Journal of Microscopical Science, January 1887, pag. 417—438).

HARTOG bemerkte, dass während des „homogenen Stadiums“ Bacterien sich um die Sporangien einer unbestimmten *Saprolegnia*-Species ansammelten; er schloss auf das Stattfinden einer Excretion und fand eine Abnahme der Dicke des Sporangiums um  $\frac{1}{7}$ . Hierdurch veranlasst, unternahm er eine Untersuchung der Sporangien von *Achlya polyandra*, *Saprolegnia Thureti* und einer *Leptomitus*-Species, und gelangte, betreffend das Stadium vor der Quellung der Sporen, zu einem mit dem meinigen übereinstimmenden Resultat, das er folgendermaassen formulirt: „They (the lines of preliminary division)

are the optical expression of thinnings of the parietal layer between prominences rounded towards the vacuole“; „in optical section it is easy to assure oneself that the protoplasm lining the sporange wall is everywhere continuous and closely applied thereto“ (pag. 430).

HARTOG geht nun zum „homogenen Stadium“ über. Er lässt, gleich BÜSGEN, die gequollenen Sporen völlig miteinander verschmelzen, hat somit das Persistiren der Trennungslinien überschen, nur für *Leptomitus* giebt er an, dass dieselben nie ganz schwinden. Diese letztere Beobachtung ist eine willkommene Vervollständigung der meinigen, denn gerade *Leptomitus* hatte ich auf das Verhalten der Trennungslinien während der Quellung der Sporen nicht untersuchen können; nunmehr ist also das Persistiren der Trennungslinien für sämtliche Gattungen der *Saprolegniaceen* constatirt.

Eine Volumenabnahme des Sporangiums fand HARTOG ausser bei der unbestimmten *Saprolegnia* noch in viel geringerem Grade bei *Leptomitus*, bei *Achlya* dagegen nicht; er hätte sie auch hier gefunden, wenn er anstatt der Dicke die Länge des Sporangiums gemessen hätte; dass letzteres eher zum Ziele führen kann, liegt doch nahe genug.

Anfangs glaubte HARTOG, dass der Turgescenzverlust es ist, welcher das Aufquellen des Plasmas verursacht. Plasmolytische Versuche lehrten ihn jedoch, dass dies nicht der Fall ist, dass vielmehr der Turgescenzverlust ein Begleiter oder eine Folge des Aufquellens ist. Hieraus geht hervor, dass HARTOG an die wahre Ursache des Turgescenzverlustes und den wesentlichen Vorgang des Quellungsstadiums, nämlich die Theilung des Wandbeleges und Isolirung der Sporen, überhaupt gar nicht gedacht hat; er erwähnt derselben auch mit keinem Wort.

Es folgt die Beobachtung, dass Eosinlösung das Protoplasma der Sporangien im „homogenen Stadium“ färbt, vorher und nachher dagegen nicht. Hieraus schliesst HARTOG, dass in diesem Stadium die resistente Hautschicht und Vacuolenwand nicht existirt, wenigstens nicht als continuirliche Schicht; er hält es für wahrscheinlich, dass Hautschicht und Vacuolenwand in diesem Stadium schwinden und im Stadium der wechselnden Vacuolen wieder gebildet werden. — Ich habe den Eosinversuch wiederholt, doch mit negativem Resultat. Das Plasma der Sporen färbte sich im Quellungsstadium gar nicht, während das Plasma einiger in demselben Tropfen befindlicher abgestorbener Fäden sich intensiv geröthet hatte. Indessen will ich auf diesen einen Versuch kein grosses Gewicht legen. Gegen die Möglichkeit der Aufnahme von Eosin im Quellungsstadium ist a priori gar nichts einzuwenden, sie erscheint sogar plausibel; doch darf man darauf nicht auf ein Schwinden der Hautschicht schliessen, denn ihre (infolge der Theilung des Wandbeleges eintretende) locale Unterbrechung genügt vollkommen, um die Aufnahme von Substanzen zu erklären, die bis dahin nicht aufgenommen wurden.

In dem zweiten Theil seiner Arbeit behandelt HARTOG die Mechanik der Entleerung der Sporen aus dem Sporangium. Die jetzt geläufige Ansicht,

dass die Sporen rein passiv, durch das Aufquellen einer gallertigen Zwischen-substanz, aus dem Sporangium herausgepresst werden (siehe DE BARY, 5, pag. 87—88), verwirft er, weil, wie er übereinstimmend mit mir gefunden hat, eine solche Substanz weder direct sichtbar ist, noch sich bisher ein Mittel hat finden lassen sie sichtbar zu machen — und weil das Verhalten der zuletzt austretenden Sporen bei *Saprolegnia* der genannten Ansicht zu widersprechen scheint.

Sodann berichtet HARTOG über seine Beobachtungen betreffend die Sporentleerung bei *Achlya*: Die entleerten und zum Köpfchen angeordneten Zoosporen rotiren eine kurze Zeit um ihre Axe, bevor sie zur Ruhe kommen; mitunter gerathen sogar einzelne Sporen aus dem Köpfchen heraus, schwimmen eine kurze Strecke weit davon, rotiren eine Zeitlang um ihre Axe und kommen dann erst isolirt zur Ruhe. Diese Bewegungen deuteten auf ein Locomotionsorgan, und in der That konnte HARTOG an den Sporen von *Achlya*, innerhalb und ausserhalb des Sporangiums, mittels Jod Cilien nachweisen. — Diese Beobachtungen, welche eine ältere Angabe von CORNU bestätigen, lassen allerdings an der Existenz der Cilien bei den in Entleerung begriffenen Sporen der *Achlya* keinen Zweifel; aber mit Unrecht wendet HARTOG seinen Befund auf die ganze Gattung an. Derselbe kann vor der Hand nur für die von HARTOG beobachtete Species Geltung beanspruchen, und dies ist offenbar eine neue, mit *Achlya polyandra* nicht identische Species; denn bei der echten *Achlya polyandra* finden, wie bei den übrigen bekannten Species, die beschriebenen Bewegungen der Sporen nicht statt, und die Abwesenheit der Cilien ist hier über allen Zweifel erhaben.

Nummehr geht HARTOG dazu über, eine positive Erklärung des Entleerungsmechanismus zu geben. Er formulirt dieselbe folgendermaassen: „The escape of the zoospores is not due to any such expulsive matter as has been assumed, but to the chemical stimulus of the oxygen in the medium acting on the auto-motile zoospores“ (pag. 437). Als Beweis für diese Ansicht wird angeführt, dass die Entleerung der Sporangien nur in luftreichem Wasser stattfindet; ist das Wasser luftarm, so öffnet sich zwar der Fortsatz, aber die Zoosporen bleiben an Ort und Stelle, umgeben sich innerhalb des Sporangiums mit Membranen und treiben durch die Sporangienwand hindurch Keimschläuche (sog. Dictyuchusform der Sporangien) oder wenn das Wasser reicher, aber noch ungenügend reich an Luft ist, so verlassen nur einige Zoosporen das Sporangium, während die übrigen keine Anziehung mehr erleiden und daher darin bleiben.

HARTOG hält seine Theorie für durchaus befriedigend, da sie zur Erklärung aller Beobachtungsthatfachen genüge. Insbesondere siehe sie im Einklang mit dem Verhalten der austretenden Zoosporen. „The exit is so rapid at first, because of the contrast between the external medium and the small amount of liquid within the sporange, vitiated of the close packed thousands of zoospores, and with its gases slowly changed through the sporangial wall, and because of the immense number of zoospores, all influenced at

once by the stimulus. Later on the contrast is lessened, partly by the exit of so many zoospores, partly by the influx of aerated water from without to occupy the room left by their exit. Only near the very mouth of the sporange is the contrast marked enough to accelerate the pace of the foremost zoospores“ (pag. 436).

Mit dem angeführten ist alles erschöpft, was HARTOG zu Gunsten seiner Theorie zu sagen weiss. Versuche irgend welcher Art, um sie zu stützen, hat er nicht unternommen.

Es handelt sich hier um eine wichtige und interessante Frage, und es sei mir daher gestattet, an der Hand meiner eigenen Erfahrungen hierüber die Theorie HARTOG'S etwas näher zu discutiren.

Vor allem muss bemerkt werden, dass diese Theorie nur für *Saprolegnia*, *Leptomitus* und die von CORNU und HARTOG untersuchten *Achlya*-Arten Geltung beanspruchen kann. Für die Mehrzahl der *Achlya*-Arten, sowie für *Aphanomyces* und *Dictyuchus* ist dagegen ihre Giltigkeit von vornherein ausgeschlossen, denn die Sporen dieser Formen sind unbeweglich, während die angeführte Theorie die selbständige Beweglichkeit der Sporen zur Voraussetzung hat. HARTOG schreibt freilich allen Arten von *Achlya* bewegliche Sporen zu, aber, wie wir gesehen haben, mit Unrecht; *Dictyuchus* und *Aphanomyces* berücksichtigt er überhaupt nicht.

Wir haben uns nun zu fragen, ob wenigstens für die mit beweglichen Sporen ausgestatteten *Saprolegnieen* die HARTOG'sche Theorie zutrifft. Dies ist, wie gleich von vornherein bemerkt sein mag, nicht der Fall; seine Argumente stellen sich bei näherer Prüfung als unrichtig heraus: er hat sich die Thatsachen, ohne sie, wie es scheint, zu untersuchen, willkürlich zurechtgelegt.

Ich will mich hier nicht lange dabei aufhalten, dass der vermeintliche volle Einklang zwischen dem Verhalten der Sporen bei der Entleerung und der Sauerstofftheorie nicht besteht, sondern dass auch hier sich der Theorie allerlei Schwierigkeiten in den Weg stellen; es ist dies verhältnissmässig nebensächlich. Ich gehe vielmehr gleich zu den wesentlichen Argumenten über.

Das Hauptargument HARTOG'S, dass die Entleerung nur in sauerstoffreichem Wasser zu Stande kommt, in luftarmem dagegen der Fortsatz sich zwar öffnet, die Sporen aber ohne auszuschwärmen an Ort und Stelle keimen. (*Dictyuchus*form) — ist nicht richtig. Das Auftreten der *Dictyuchus*form der Sporangien hat mit dem Sauerstoff nichts zu thun; es ist eine durch unbekannte Ursachen bewirkte Abnormität, die in gewissen Culturen mehr oder weniger ständig auftritt, einerlei ob die Sporangien tief unter Wasser oder ob sie in Contact mit der Luft sich befinden. In normalen Culturen bleibt die Bildung von *Dictyuchus* Sporangien aus, man mag sie in noch so sauerstoffarmem Wasser halten. Der Zusammenhang also, in den HARTOG die *Dictyuchus*form mit dem Sauerstoffmangel bringt, ist willkürlich und existirt in Wirklichkeit nicht. Ausserdem darf die *Dictyuchus*form der Sporangien schon deshalb gar nicht in die Argumentation herangezogen

werden, weil die Sporen derselben unbeweglich sind, keine Cilien haben (resp. ihre Beweglichkeit noch vor dem Öffnen des Fortsatzes aufgeben). Es ergibt sich also schon daraus, dass an dem Nichtaustreten der Sporen der Sauerstoffmangel völlig unschuldig ist.

Es wäre nun aber doch denkbar, dass, abgesehen von der Dictyuchusform, Sauerstoffmangel den von HARTOG gewollten Effekt hätte, nämlich die Entleerung der Sporen zu verhindern oder wenigstens unvollständig zu machen. Das lässt sich natürlich nur auf experimentellem Wege feststellen; HARTOG giebt uns indessen hierüber nichts als eine Behauptung. Ich war seinerzeit im Laufe meiner Untersuchung auf dieselbe Frage gekommen und habe Versuche zu ihrer Lösung angestellt. Dieselben wurden in folgender Weise ausgeführt. Es wurde etwas Wasser in einem Reagensglase gekocht und dann durch Uebergiessen des Glases mit kaltem Wasser sehr schnell auf 24° abgekühlt; darauf wurde auf den Objectträger ein viereckiger Papierrahmen gelegt, mit dem ausgekochten Wasser gefüllt und mit einem auf den Papierrahmen passenden Deckglas bedeckt. Die so gebildete flache Wasserschicht war also allseitig von der Luft fast vollständig abgeschlossen, und es ist Grund vorhanden anzunehmen, dass sie sich während der Beobachtungszeit nahezu luftfrei erhielt. In dieses sehr luftarme Wasser war vor dem Auflegen des Deckglases abgeschnittenes Material von *Saprolegnia* gebracht worden, das Sporangien in verschiedenen Entwicklungsstadien enthielt, und es wurde die Entwicklung und Entleerung der Sporangien beobachtet. Beides erfolgte in völlig normaler Weise. Es blieben keine Sporen in den Sporangien zurück. Nur dauerte in einigen Sporangien die Zeit von der Trennung der Sporen bis zur Entleerung ein wenig länger als gewöhnlich (22 Min. anstatt 18—20), die Entleerung erfolgte nicht stürmisch sondern relativ langsam, und die meisten der entleerten Sporen kamen sehr bald zur Ruhe. — Dieser Versuch wurde zweimal mit je mehreren Sporangien ausgeführt und beidemal mit völlig gleichem Resultat, welches die Unrichtigkeit des HARTOG'schen Arguments schlagend darthut.

Dass die Entleerung etwas langsamer von statten ging als unter normalen Bedingungen und dass die meisten ausgeschlüpften Sporen bald zur Ruhe kamen, erklärt sich aus der infolge Sauerstoffmangels geringeren Beweglichkeit der Sporen<sup>1)</sup>. Es ist nämlich eigentlich selbstverständlich und geht auch aus meinen Versuchen hervor, dass die Zoosporen der *Saprolegnien*, ebenso wie alle anderen nicht gährungerregenden Organismen, zu ihrer Bewegung des Sauerstoffs in einem gewissen Maasse bedürfen<sup>2)</sup>. Das ist aber ganz etwas anderes als die von HARTOG postulierte attractive Wirkung des Sauerstoffs auf die Zoosporen.

1) Diese selben Thatsachen geben gleichzeitig einen Beweis dafür, dass die Flüssigkeit wirklich sehr sauerstoffarm war.

2) Man muss also annehmen, dass bei absolutem Sauerstoffmangel eine Entleerung der Sporangien in der That nicht stattfinden wird, falls sie nb. durch die Eigenbewegung der Sporen und nicht durch eine aufquellende Zwischensubstanz bewirkt

Und damit kommen wir zu dem cardinalen Punkt der ganzen Sauerstofffrage. Will man die Entleerung der Sporen durch eine attractive Wirkung des Sauerstoffs erklären, so ist es doch wohl nöthig sich vor allen Dingen die Frage zu stellen: Uebt denn der Sauerstoff überhaupt eine derartige Wirkung auf die *Saprolegnien*-Zoosporen aus? Sind dieselben überhaupt aërotactisch? Wir finden in der HARTOG'schen Arbeit keine Andeutung dafür, dass ihm diese Frage in den Sinn gekommen ist. Ich habe hierüber ebenfalls Versuche angestellt, die ein völlig klares Resultat ergaben. Sie wurden ebenso eingerichtet wie die eben beschriebenen, nur wurde für einseitigen Luftzutritt dadurch gesorgt, dass entweder in dem Präparate eine Luftblase gelassen, oder in dem Deckglas ein kleines Loch angebracht, oder in dem Papprahmen ein schmaler Ausschnitt gemacht wurde. Zu den so hergerichteten, sehr luftarmen Wasser enthaltenden Präparaten wurde theils ein Tropfen zoosporeureichen Wassers zugesetzt, theils wurden Sporangien hineingebracht und sich darin entleeren lassen. Die Versuche wurden mit Sporen im ersten Schwärmstadium und mit solchen im zweiten Schwärmstadium getrennt ausgeführt.

Die meisten Sporen des ersten Schwärmstadiums kamen unter den Versuchsbedingungen alsbald zur Ruhe. Die übrigen verhielten sich gegenüber dem einseitigen Sauerstoffzutritt ganz gleichgiltig. Es fand nicht nur keine Ansammlung von Sporen um den Ort des Sauerstoffzutritts statt, sondern es erfuhren sogar die in der Nähe dieses Ortes vorbeistreichenden Sporen gar keine Richtungsablenkung, und diejenigen, welche zufällig direct auf ihn zugegangen waren, entfernten sich alsbald wieder mit gleicher Geschwindigkeit. Dieses meinen Erwartungen ganz entgegengesetzte Ergebniss der Versuche war so auffallend und unzweideutig, dass jeder Gedanke an Aërotaxie der Sporen aufgegeben werden musste. — Die Sporen des zweiten Schwärmstadiums ertrugen den Sauerstoffmangel besser, sie blieben fast sämmtlich mehrere Minuten beweglich; an ihnen konnte daher das nämliche negative Resultat noch bequemer constatirt werden.

Aus dem bisher Gesagten ergibt sich zur Genüge, wie wenig begründet die mit grosser Sicherheit vorgetragene Behauptung HARTOG's ist, dass die anziehende Wirkung des Sauerstoffs auf die beweglichen Sporen deren Entleerung bewirkt. Sie muss entschieden verworfen werden, denn sie steht mit den durch Beobachtungen und Versuche festgestellten Thatsachen in directem Widerspruch.

Greifen wir nun einen Schritt zurück und sehen wir zu, ob und in wie weit HARTOG berechtigt ist, die bisher herrschende Ansicht zu verwerfen, wird. Nichtsdestoweniger ist das von HARTOG behauptete Ausbleiben der Entleerung in Folge von Luftmangel in praxi ganz ausgeschlossen; denn wenn man auch die *Saprolegnien*-Culturen am Boden tiefer Gefässe und in noch so schlecht gelüftetem Wasser halten wollte, so wird doch der Luftmangel nie auch nur den Grad erreichen können, welcher in meinen Versuchen bestand, und doch genügte die so geringe Luftmenge in diesen Versuchen völlig für eine normale Entleerung.

wonach die Entleerung durch das Aufquellen einer hyalinen Zwischensubstanz bewirkt werden sollte. HARTOG hat sich auch hier die Sache etwas zu leicht gemacht. Er stützt sich bloss auf das Misslingen der Versuche die „Zwischensubstanz“ sichtbar zu machen, und auf das Verhalten der zuletzt austretenden Zoosporen bei der Entleerung. Einen Versuch dagegen, die (ihm wohl nicht bekannten) Argumente der Gegner zu widerlegen, oder durch Experimente die Unrichtigkeit der alten Anschauung darzuthun, sucht man bei ihm vergeblich.

Die Quellungstheorie (wie ich die herrschende Theorie der Kürze halber bezeichnen will) stützt sich für *Achlya* vor allem auf den Augenschein. Es werden hier bei der Entleerung die Sporen seitlich von der Membran zurückgedrängt und in der Axe des Sporangiums zu einem dichten Cylinder zusammengepresst, es macht das in der That unverkennbar den Eindruck, dass eine zwischen Membran und Sporenmasse befindliche Substanz aufquellend die Sporenmasse zusammendrückt. Ueberdies kann hier schon deshalb nur an eine rein passive Entleerung der Sporen gedacht werden, weil diese (bei den meisten Arten) unbeweglich sind. Es ist daher auch die Quellungstheorie für *Achlya* schon von dem ersten Forscher, der sie genauer untersuchte (DE BARY, 1 und 2), aufgestellt worden und bisher hat Niemand Widerspruch dagegen erhoben.

Anders liegt die Sache bei *Saprolegnia*. Hier sind die Sporen vor und während des Austrittes frei beweglich; sie erleiden keinerlei Zusammenpressung; die zuletzt austretenden Sporen bewegen sich häufig ganz langsam nach der Oeffnung zu, kehren manchmal vor derselben wieder um und gelangen zuweilen erst nach langem Umherirren, zuweilen auch überhaupt nicht aus dem Sporangium heraus. Mit einem Wort, die Erscheinung kann nicht umhin auf den unbefangenen Beobachter den Eindruck zu machen, dass hier die Sporen spontan, dank ihrer Eigenbewegung, das Sporangium verlassen, und dies glaubte man auch anfangs in der That. Erst in Folge der Versuche von WALZ (21) sah man sich veranlasst, die Quellungstheorie auch auf *Saprolegnia* auszudehnen. WALZ behandelte die Sporangien von *Saprolegnia* im Moment der Entleerung mit wasserentziehenden Agentien wie Zuckerlösung oder Glycerin; die Entleerung wurde nach seinen Angaben sofort sistirt, um nach Auswaschen der Lösung mit Wasser wieder aufgenommen zu werden, obgleich die Sporen unbeweglich geworden waren. Daraus musste man in der That schliessen, dass die Sporen durch das Aufquellen einer nicht direct sichtbaren Substanz herausgepresst werden.

Auch mir war durch die Beobachtung des Entleerungsvorganges bei *Saprolegnia* die Giltigkeit der Quellungstheorie für diese Gattung zweifelhaft geworden und es schien mir wahrscheinlicher, dass der Austritt der Sporen spontan erfolgt. Um zu einer Entscheidung, welche die blossе Beobachtung hier nicht liefern kann, zu gelangen, stellte ich eine Reihe von Versuchen an. Es lag ursprünglich nicht in meiner Absicht, dieselben in der vorliegenden Arbeit mitzuthemen, da sie noch lückenhaft sind und zu keinem sicheren Resultat geführt haben. Ich entschliesse mich indessen, einige derselben hier anzuführen um zu zeigen, welche Schwierigkeiten diese Frage bietet

und wie wenig am Platze eine so summarische Behandlung derselben ist, wie wir sie bei HARTOG finden.

Bevor ich zur Verificirung der WALZ'schen Angaben schritt, untersuchte ich, welchen Effect wasserentziehende Mittel auf schwärmende Zoosporen von *Saprolegnia* haben, denn dies zu wissen ist nothwendig um die Versuchsergebnisse richtig beurtheilen zu können. Es ergab sich, dass ca. 7%ige Rohrzuckerlösung in wenigen Minuten, 13%ige fast momentan, 25%ige momentan die Zoosporen zur Ruhe bringt (ohne ihnen jedoch die Keimfähigkeit zu benehmen). Wurden die durch Zuckerlösung soeben erst unbeweglich gewordenen Sporen sofort wieder in Wasser gebracht, so begann ihre Bewegung nicht wieder. Es ergab sich daraus, dass das Sistiren der Entleerung durch wasserentziehende Mittel auch mit der Theorie der spontanen Entleerung vereinbar ist; unvereinbar mit ihr wäre dagegen der Wiederbeginn der Entleerung nach Ersatz der wasserentziehenden Lösung durch Wasser. Nur das Eintreten der letzteren Erscheinung könnte somit als Beweis für die Quellungstheorie aufgefasst werden.

Sodann wiederholte ich die WALZ'schen Versuche, indem ich zu in einem kleinen Wassertropfen befindlichen, in Entleerung begriffenen Sporangien von *Saprolegnia* theils fast concentrirtes Glycerin, theils 25%ige Rohrzuckerlösung, theils desgl. ganz concentrirte in grossen Tropfen zusetzte. Der Effect war in allen Fällen der gleiche, von den WALZ'schen Angaben abweichende. Die Entleerung wurde nach Zusatz des Reagens momentan sistirt, begann aber alsbald wieder, um durch Zusatz eines weiteren Tropfens von neuem zeitweilig unterbrochen zu werden, und so fort. Erst nach Zusatz mehrerer Tropfen und nachdem eine Anzahl Sporen während des Versuches hinausgelangt war, wurde die Entleerung definitiv aufgehoben, dann aber auch nach Ersatz des Reagens durch viel Wasser nicht wieder aufgenommen<sup>1)</sup>. Dieses Verhalten ist sehr merkwürdig und steht mit keiner der beiden Theorien ganz im Einklang. Gegen die Quellungstheorie spricht es, dass die angewandten sehr stark wasserentziehenden Mittel, selbst die ganz concentrirte Zuckerlösung, die Entleerung nicht sofort zu inhibiren im Stande sind; und noch entschiedener spricht gegen sie der Umstand, dass die Entleerung nach Ersatz des Reagens durch Wasser nicht wieder beginnt. Andererseits ist es aber auch vom Standpunkt der Theorie der spontanen Entleerung nicht verständlich, dass die schon nach Zusatz des ersten Tropfens des Reagens unbeweglich gewordenen (bei Anwendung der gesättigten Zuckerlösung sogar anscheinend desorganisirten) Sporen sich nach zeitweiligem Aufhören der Entleerung wieder in Bewegung setzen. Diese Thatsache bleibt vor der Hand ganz unerklärlich.

Weiterhin wurden Versuche mit Jod angestellt, indem zu in Entleerung begriffenen Sporangien Jodkalium oder Jodwasser zugesetzt wurde. Diese

1) Ich vermuthete, dass WALZ die Lösung zu schnell durch Wasser ersetzte und die wiederbeginnende Entleerung irrthümlich der Entfernung des wasserentziehenden Reagens zuschrieb. So dürfte sich die Differenz unserer Resultate ungezwungen erklären.

Reagentien sistiren selbst in geringen Mengen die Entleerung momentan und für immer; auch nach sofortigem Auswaschen des Reagens mit Wasser tritt dieselbe nicht wieder ein (ebenso wirkt Alkohol). Dies Resultat ist in Uebereinstimmung mit der Theorie der spontanen Entleerung, denn Jod tödtet die Sporen momentan. Hingegen steht es in Widerspruch mit der Quellungstheorie, denn es wäre beispiellos und ist so gut wie undenkbar, dass eine quellbare Substanz durch Zusatz einer Lösung von Jod in Wasser zu quellen aufhört, und überdies so verändert wird, dass sie selbst nach Entfernung des Jods ihre Quellungsfähigkeit nicht wiedererhält.

Summa summarum scheinen die beschriebenen Versuche mehr zu Gunsten der Theorie der spontanen Entleerung als zu Gunsten der Quellungstheorie zu sprechen. Der letzteren stellen sich nach diesen Versuchen mehr Schwierigkeiten in den Weg als der ersteren. Dazu kommt noch das Ergebniss der directen Beobachtung des Entleerungsvorganges, das ebenfalls zu Gunsten der ersteren Theorie spricht.

Führen wir nun aber die nämlichen Versuche mit den Sporangien von *Achlya* aus, so wendet sich das Blatt wieder. Es zeigt sich nämlich, dass sich *Achlya* allen genannten Reagentien gegenüber genau ebenso verhält wie *Saprolegnia*, was entschieden auf einen identischen Entleerungsmechanismus hinzuweisen scheint; und doch ist, wie wir oben gesehen haben, für *Achlya* die Quellungstheorie nach unserem jetzigen Einsehen die einzig denkbare, jedenfalls aber die Möglichkeit der spontanen Entleerung völlig ausgeschlossen. Es begegnet uns also hier von neuem ein vorläufig unlösbarer Widerspruch.

Es gestattet somit der gegenwärtige Stand unserer Kenntnisse nach meinem Dafürhalten durchaus keine Entscheidung. Nur zweierlei gelang es mir mit Sicherheit festzustellen: 1. Dass die Ursache der Entleerung nicht im Tragfaden, sondern im Sporangium selbst liegt (der Hauptbeweis hierfür ist, dass das Durchschneiden des Tragfadens vor oder während der Entleerung dieselbe nicht verhindert resp. nicht sistirt). 2. Dass sie nicht in einer Contraction der elastisch gespannten Sporangienmembran (ALEX BRAUN, 6) sondern in dem Sporangieninhalt liegt (denn die Membran ist vor der Entleerung nicht gespannt und verkürzt sich während derselben nicht). Ob aber die Entleerung durch das Aufquellen einer Zwischensubstanz, oder durch die Eigenbewegung der Sporen, oder endlich durch eine dritte vorläufig ungeahnte Ursache bewirkt wird, muss gänzlich dahingestellt bleiben. Vielleicht wird uns die Untersuchung des Entleerungsmechanismus der Sporangien bei anderen, in dieser Hinsicht weniger complicirten Objecten Andeutungen darüber geben, von welcher Seite wir dieser, für die *Saprolegnien* jedenfalls sehr schwierigen Frage am besten beikommen können.

Jedenfalls darf aus den obigen Mittheilungen der Satz abgeleitet werden, dass wer über den Entleerungsmechanismus der *Saprolegnien*-Sporangien hinfort ein Urtheil äussern will, dies nur auf Grund unfassender experimenteller Untersuchungen, nicht aber auf ein paar ungenügende Beobachtungen und Argumentationen hin zu unternehmen berechtigt ist.

## Zusammenstellung der wichtigsten Resultate.

- 1) Die Abgrenzung des Sporangiums vom Tragfaden geschieht zunächst durch eine, bald erst allmählig zusammenschliessende, bald simultan gebildete Querscheibe von Hyaloplasma, das aus dem Sporangien-Plasma ausgeschieden wird; eine in dem Basaltheil derselben auftretende, stärker lichtbrechende Zone verdichtet sich zur Querwand, das Material zu derselben wird wahrscheinlich von Cellulinkörnern geliefert, die vom Hyaloplasma aufgelöst wurden.
- 2) Die weitere Entwicklung des Sporangiums ist vom Tragfaden unabhängig und verläuft auch nach Durchschneiden dieses normal. Abgeschnittene Fadenstücke schliessen sich wieder und bilden neue Sporangien, bis zur fast vollständigen Erschöpfung ihres Protoplasmas.
- 3) Alle Sporangien besitzen einen cylindrischen, meist am Scheitel befindlichen Fortsatz, der kurz vor der Differenzirung der Sporenanlagen zu entstehen pflegt. Die kugelcalottenförmig gewölbte Endwand derselben hat eine von der übrigen Membran abweichende Beschaffenheit und steht mit dem Protoplasma in sehr innigem Zusammenhang.
- 4) In den normalen Sporangien, welche ein Lumen und einen Protoplasma wandbeleg von constanter, der Höhe der späteren Sporenanlagen gleicher Dicke enthalten, geschieht die Differenzirung der Sporenanlagen durch das simultane Auftreten eines Netzes von Spalten, welche von dem Lumen ausgehend bis in die Nähe der Membran verlaufen. Es findet somit keine Theilung des Wandbeleges statt, die Sporenanlagen stellen vielmehr prismatische Vorsprünge dar, welche einem continuirlichen dünnen Wandbeleg aufsitzen; ausser durch diesen hängen sie anfangs durch sehr zahlreiche Plasmaverbindungen zusammen, die später grösstenteils eingezogen werden. Die Spalten gehen nicht aus Körnerplatten hervor, sie enthalten keine gallertartige Zwischensubstanz, sondern flüssigen Zellsaft. — In den des Lumens ermangelnden gefüllten Sporangien geschieht die Differenzirung der Sporenanlagen in wesentlich gleicher Weise durch Auftreten eines Netzwerks von Spalten im Protoplasma.

- 5) In den inhaltsarmen Sporangien, welche einen dünneren Wandbeleg als die normalen Sporangien besitzen, geschieht die Differenzirung der Sporenanlagen durch locale Anschwellung des Wandbeleges an mehr oder weniger von einander entfernten Stellen.
- 6) Die Spalten resp. Zwischenräume zwischen den Sporenanlagen verbreitern sich allmählig in Folge einer langsamen seitlichen Contraction dieser; zuletzt tritt eine starke und plötzliche Contraction der Sporenanlagen ein, wobei sie gleichzeitig stärker lichtbrechend werden und an ihrer Oberfläche scharfe und glatte Contouren annehmen.
- 7) Unmittelbar darauf hebt sich der Wandbeleg zwischen den Sporenanlagen von der Membran ab, wird getheilt und in die nunmehr isolirten Sporen eingezogen. Diese nehmen Wasser auf und quellen — während in ihnen wechselnde Vacuolen auftreten und ihr Plasma feinkörnig wird — erheblich auf, meist bis zu polygonaler Abplattung, so dass das Sporangium ganz von ihnen erfüllt wird. Sie verschmelzen jedoch nicht mit einander, sondern bleiben getrennt, bald durch Zwischenräume von einer gewissen Breite, bald durch einfache Linien, die entweder ganz scharf, oder mehr oder weniger undeutlich sind, von deren Persistiren man sich aber bei der nöthigen Aufmerksamkeit — mit sehr seltenen Ausnahmen — überzeugen kann.
- 8) In Folge der Theilung des Wandbeleges wird der Turgor des Sporangiums aufgehoben: daher wird die gewölbte Endwand des Fortsatzes plan (was eine auffallende Gestaltänderung derselben bewirkt), die convex vorgewölbte Querwand wird concav in das Sporangium hineingewölbt, und die gespannt gewesene Seitenwand contrahirt sich um mehrere Procent. Es resultirt eine erhebliche Volumenabnahme des Sporangiums, und ein entsprechender Theil des Zellsaftes filtrirt durch die Sporangienmembran nach aussen und veranlasst häufig eine starke Ansammlung schwärmender Bacterien oder *Saprolegnia*-Zoosporen um das im Trennungsstadium befindliche Sporangium.
- 9) Die gequollenen Sporen contrahiren sich wieder, glätten sich und treten von der Membran zurück, wobei die vorderste Spore zunächst durch einen Hyaloplasmastrang mit der Endwand des Fortsatzes in Verbindung bleibt. Darauf wachsen die Cilien allmählig aus den Sporen hervor.
- 10) Ungefähr um dieselbe Zeit tritt der eigenthümliche Process der Abschmürung zahlreicher Plasmaklumpchen von Seiten aller Sporen ein, welche Plasmaklumpchen normalerweise sämmtlich wieder eingeschluckt werden.
- 11) Die Sporen entweichen zuletzt durch eine Oeffnung, welche normalerweise dadurch entsteht, dass die Endwand des Fortsatzes aufgelöst wird, nachdem die vorderste Spore an dieselbe herangetreten ist und sie vorgewölbt hat.
- 12) Mit der bisher geschilderten Entwicklung mehrerer *Saprolegnia*-Arten (namentlich des günstigsten Objectes *Saprolegnia Thureti* DE BARY),

stimmt diejenige der übrigen *Saprolegnien*-Genera in allen wesentlichen Punkten überein, abgesehen von dem bekanntlich bei einigen Gattungen abweichenden Modus der Entleerung der Sporen nebst den unmittelbar vorausgehenden Stadien. Auch die bisher für völlig abweichend gehaltene Entwicklung der Sporangien von *Aphanomyces* fügt sich dem jetzt festgestellten Schema.

- 13) Die Entwicklung der Oogonien der *Saprolegnien* weicht nur in wenigen Punkten von derjenigen der Sporangien ab; wie sich bei näherer Untersuchung der ersteren herausstellte, geschieht die Zellbildung in beiden nach völlig gleichem Plan, und die Uebereinstimmung erstreckt sich sogar auf eine Reihe von anscheinend nebensächlichen Details.
- 14) Die Untersuchungen über den Mechanismus der Entleerung der Sporen aus dem Sporangium stossen auf derartige Schwierigkeiten, dass diese Frage vorläufig unentschieden gelassen werden muss. Jedenfalls ist die Meinung Mac HARTOGS, dass die (activ beweglichen) Sporen durch die attractive Wirkung des Sauerstoffs zum Austritt aus dem Sporangium veranlasst werden, nachgewiesenermaassen unrichtig.

## Figuren - Erklärung.

Die Figuren sind derart ausgeführt, dass die Contouren nach lebendem Material mittels des Abbé'schen Zeichenapparates entworfen, die Details nach der Erinnerung und unter Vergleich mit entsprechenden Stadien anderer Sporangien eingetragen wurden.

Alle Figuren sind ca. 700mal vergrössert.

Fig. 1—13 sind *Saprolegnia Thureti*, Fig. 14 *Saprolegnia monoica* entnommen.

- Taf. X. Fig. 1. Basaler Theil eines Sporangiums im optischen Längsschnitt. Entstehung und Verhalten der Querwand.
- Kurz vor der Bildung derselben.
  - Beginnende Hyaloplasma-Ausscheidung.
  - Die Querwand soeben gebildet.
  - Kurz vor dem Beginn der Differenzirung der Sporenanlagen.
  - Nach der Trennung der Sporen (der Inhalt des Sporangiums ist nicht hineingezeichnet).  
*c* Cellulinkörner, *p* Hyaloplasma, *q* Querwand, *st* ein das Lumen durchsetzender Protoplasmafaden.
- Fig. 2. Spitze eines Sporangiums im optischen Längsschnitt. Entwicklung des Fortsatzes.
- Vor Bildung des Fortsatzes.
  - b), c), d) Successive Stadien der Entwicklung desselben.
  - Nach der Trennung der Sporen (der Inhalt des Sporangiums ist nicht hineingezeichnet).
- Fig. 3. Oberflächenansicht eines Sporangiums bald nach vollendeter Differenzirung der Sporenanlagen.
- Fig. 4. Optischer Längsschnitt eines Sporangiums in demselben Stadium wie Fig. 3. *st* Ein das Lumen durchsetzender Protoplasmastrang. *p* Ein zwischen den Sporenanlagen gebliebenes Plasmastückchen.
- Fig. 5. Oberflächenansicht desselben Sporangiums wie Fig. 4, im Stadium der grössten Contraction der Sporenanlagen, unmittelbar vor der Trennung der Sporen.
- Fig. 6. Oberflächenansicht eines Sporangiums im Stadium grösster Quellung der Sporen. Die Trennungslinien sind scharf.
- Fig. 7. Oberflächenansicht eines Sporangiums in demselben Stadium. Die Trennungslinien sind ziemlich undeutlich.
- Fig. 8. Rand des optischen Längsschnittes desselben Sporangiums wie Fig. 4, im Stadium beginnender Abrundung der gequollenen Sporen.
- Fig. 9. Optischer Längsschnitt eines Sporangiums einige Minuten nach der Trennung der Sporen. Die beiden vordersten Sporen sind durch einen gespaltenen Hyaloplasmastrang *p* mit der Endwand des Fortsatzes verbunden.

- Fig. 10. Optischer Längsschnitt eines kleinen Sporangiums in einem etwas späteren Stadium als Fig. 9. *kk* die ausgestossenen Protoplasma-klümpchen; bei *k'* ist ein solches eben im Begriff ausgestossen (oder eingeschluckt) zu werden.
- Fig. 11 und 12. Optischer Längsschnitt und Oberflächenansicht eines inhaltsarmen intercalaren Sporangiums, bald nach der Differenzirung der Sporenanlagen, die hier durch lokale Anhäufung des Protoplasmas entstanden sind.  
*st* Das Lumen durchsetzende Protoplasmafäden.
- Fig. 13. Optischer Längsschnitt eines ebensolchen Sporangiums wie Fig. 11 und 12, im Stadium grösster Quellung der Sporen.
- Fig. 14. Optischer Längsschnitt eines sehr schmalen, ganz mit Protoplasma gefüllten Sporangiums, bald nach der Differenzirung der Sporenanlagen.



# Ueber *Dicranochaete reniformis* Hieron., eine neue Protococcacea des Süßwassers.

Von **G. Hieronymus.**

Mit Tafel XI und XII.

In der Sitzung der botanischen Section der Schlesischen Gesellschaft für vaterländische Cultur vom 10. November 1887 (siehe 65. Jahresbericht S. 293) habe ich einen Vorbericht über den in der Ueberschrift genannten, interessanten Organismus gegeben. Seitdem habe ich denselben wiederholt beobachtet und an zahlreichen Stellen in verschiedenen Gebirgszügen der Sudeten aufgefunden. Zugleich gelang es mir bei dem günstigen und reichlichen Material, welches sich mir bot, genauere Untersuchungen über die Zellbestandtheile desselben anzustellen und seine Entwicklungsgeschichte im Wesentlichen zu erforschen. Es dürfte daher hier eine eingehendere Mittheilung über den Organismus am Platze sein, zumal ich in manchen Beziehungen den citirten Vorbericht ergänzen und berichtigen muss.

*Dicranochaete reniformis* ist eine kleine, einzellige, chlorophyll-grüne Alge von mehr oder weniger halbkugelige oder flacher halbellipsoidischer oder halbniierenförmiger Form, welche mit einer bis etwa 35  $\mu$  Durchmesser besitzenden Basalfläche als Epiphyt auf im Wasser wachsenden Laub- und Lebermoosen (besonders *Hypnum*- und *Sphagnum*-Arten und *Calypogeia Trichomanes* Corda) aufsitzt, aber auch auf modernden *Cyperaceen*- und *Gramineen*blättern, Holzstückchen und selbst auf Kieselsteinen vorkommt und sich durch Schwärmsporen vermehrt. Besonders geeignet für dieselbe scheinen Torfmoospolster an quelligen Stellen, welche den ganzen Sommer über Wasser führen. An solchen findet man vorzüglich die Blätter der unteren Stengelregionen oft mit zahlreichen Individuen besetzt und zwar sitzen diese mit Vorliebe den schmälern chlorophyllführenden und weniger den weiteren, durchlöcherten, mit Ring oder Spiralbändern versehenen Zellen der Sphagnumblätter auf (vergl. Fig. 1).

Zur Zeit habe ich Gelegenheit gehabt den Organismus an folgenden Fundorten nachzuweisen: in einer Quelle am Wolfsberg oberhalb Kaltwasser im Eulengebirge, auf dem Landeshuter Kamm bei der Ausspannung an der alten Passstrasse oberhalb der grossen Buche bei Schmiedeberg, am Wege von der Tannenbaude nach den Forstbauden und oberhalb der Tannenbaude, am Mittelberge zwischen der schwarzen Koppe und dem Tafelstein (an von Dr. Schube mir mitgetheilten Torfmoosproben), bei der Kirche Wang in Brückenberg, am Wege zwischen Bronsdorf und der Anna-Kapelle, am Wege von Hintersaalberg nach der Peterbaude und am Wege von der Thumpsahütte nach dem Mittagstein. Auch fehlt der Organismus nicht in den Moortümpeln der Aupa- und Weisswasserquellgegend. Doch fand ich ihn hier mehr vereinzelt. Am häufigsten scheint er im Riesengebirge in der oberen Fichtenregion nahe der Knieholzgrenze zu sein. Hier kommt er fast an allen quelligen Stellen vor, wenn auch nicht so reichlich, wie an den genannten Fundorten. Ich erhielt ihn, wenn es nicht gelang, denselben direct an den mitgebrachten Sphagnumproben zu beobachten, oft dadurch, dass ich an den Seiten von Gläsern, welche die Proben enthielten, dem einfallenden Licht zu Glimmerstreifen aufstellte. *Dicranochaete* war dann häufig die erste Alge, welche sich an dieselben festsetzte und bereits nach etwa 8 bis 10 Tagen konnten die ersten erwachsenen Exemplare an denselben beobachtet werden.

Unter eine Höhe von etwa 500 Meter scheint die Alge nicht herabzusteigen, wenigstens habe ich dieselbe bisher vergeblich in Torfsümpfen der Ebene und niederen Vorberge gesucht.

Der von mir für die neue Gattung gewählte Name, abgeleitet von  $\delta\acute{\iota}\chi\rho\alpha\nu\omicron\nu$  und  $\chi\acute{\alpha}\iota\tau\eta$  bezieht sich auf das Vorhandensein von einmal oder mehrfach dichotomisch verzweigten, hyalinen, aus Gallerte bestehenden, 80 bis ungefähr 160  $\mu$  langen Borsten, welche meist an jeder Zelle nur in der Einzahl, selten in der Zahl von 2 bis 4 sich vorfinden. Der Artname „*reniformis*“ wurde gewählt, weil die Zelle selbst in erwachsenem Zustande von oben gesehen gewöhnlich mehr oder weniger deutliche Nierenform zeigt, während sie von den Seiten gesehen fast halbkugelig, kurz glockenförmig, mit der basalen Schnittfläche dem Substrat aufsitzend, erscheint. Die Zelle besitzt nämlich meist an der einen Seite einen mehr oder weniger tiefen, herzförmigen Einschnitt, dessen Ränder bisweilen zusammenschliessen und aus welchem die Borste hervorragt. Manchmal ist auch noch ein zweiter oder dritter, jedoch borstenloser Einschnitt, seltener sind 2 bis 4 solche Einbuchtungen mit zu jeder je einer zugehörigen Borste vorhanden (vergl. Fig. 4), welche letztere jedoch meist nur einmal dichotomisch verzweigt, bisweilen aber auch völlig unverzweigt ist. In dem Fall, dass nur eine einzelne Borste vorhanden ist, so befindet sich dieselbe stets an dem morphologisch vorderen Zellende. Diese Thatsache ergibt sich aus der Entwicklungsgeschichte. Die Schwärmsporen, durch welche sich der Organismus vermehrt, setzten sich nämlich zuerst zwar mit dem vorderen hyalinen Ende dem Substrat an. Dann legt sich die Schwärmspore jedoch auf eine Seite

und wird amöboid, so dass zur Basistfläche diese Seite wird. Das vordere hyaline Zellende wächst unterdessen nach Verlust der Geisseln zu einem dünnen, protoplasmatischen Faden aus, der sogleich beim Entstehen Gallertmembran in Form einer Röhre um sich herum abscheidet, während auch die Zelle selbst eine Membran bildet. Dieser protoplasmatische Faden verzweigt sich dann ein bis viermal dichotomisch, schliesslich hört er jedoch auf zu wachsen, die abgeschiedene Gallertscheide schliesst sich, das Protoplasma tritt nach und nach wieder aus dem Röhrensystem zurück in die Zelle, und die Röhre füllt sich mit von demselben abgeschiedener Gallertmasse an und wird massiv. In seltenen Fällen beobachtete ich auch bei erwachsenen Individuen noch einen kurzen, röhrigen Theil der Borstenbasis, in dem sich durch Tinctionsmittel (Jod, Eosin etc.) sogar noch ein Stück des protoplasmatischen Fadens nachweisen liess, meist jedoch war auch dieser Theil der Borste massiv. Wenn nur eine Borste vorhanden ist, so kann nach diesen Beobachtungen wohl kein Zweifel aufkommen, dass dieselbe in der That am morphologischen Vorderende der Zelle steht. Um so interessanter waren mir die bisweilen in gewissen Culturen zahlreich auftretenden Individuen, welche mehr als eine Borste besaßen. Zuerst glaubte ich, dass solche Individuen aus genetisch verwachsenen Schwärmsporen entstanden seien. Da derartige Monstrositäten bei Algen nicht selten sind, so lag dieser Gedanke nahe. Als ich jedoch nicht nur zwei, sondern auch 3 und 4 Borsten führende Individuen auffand, musste ich die versuchte Deutung aufgeben. Ich glaube jetzt, dass wenn mehrere Borsten vorhanden sind, dieselben als Theile einer einzigen, am Vorderende stehenden Borste betrachtet werden müssen, und dass Formen, wie ich in Fig. 4 abgebildet habe, dadurch entstehen, dass die betreffende Schwärmspore sogleich sehr fest mit dem Vorderende an dem Substrat haftet, zu fest, als dass es ihr dann möglich wäre, sich auf eine Seite zu legen und diese zur Ansatzfläche zu machen. Es bleibt derselben in einem solchen Zustande nur übrig, sich rings um die vordere, hyaline Spitze auszubreiten, so dass diese mehr oder weniger in die Mitte der Basalfläche zu liegen kommt. Die sich während der Zeit bildende Borste kann natürlich nur zum Theil unter der Basistfläche vortreten und zwar müssen ihre einzelnen Verzweigungen nothwendiger Weise an verschiedenen Stellen zum Vorschein kommen. Bei dieser Erklärung muss man füglich auch noch annehmen, dass das vor der ersten dichotomischen Verzweigung befindliche Basalstück der Borste, bisweilen auch noch das die erste und zweite Dichotomie trennende Zwischenstück ausserordentlich kurz oder ganz reducirt sind. Diese Erklärung dürfte wohl sehr annehmbar aus dem Grunde sein, weil bei Mehrzähligkeit der Borsten dieselben meist nur einmal verzweigt, bisweilen sogar unverzweigt, stets auch bedeutend kürzer sind, als die Einzelborsten normaler Individuen. Ich muss hier noch erwähnen, dass ich zufällig eine grössere Anzahl von solchen mehrborstigen Individuen zu beobachten Gelegenheit hatte. Dieselben waren in einem Culturglase an einem Glimmerblättchen, welches

unter Wasser wagerecht über das im Culturglase befindliche Sphagnum-polster gelegt worden war, gewachsen und zwar nur an der unteren Seite desselben. Vielleicht hat das von der Oberseite durch das Glimmerblättchen durchfallende Licht bewirkt, dass sich die Schwärmsporen in der Weise festsetzten, dass ihr morphologisches Vorderende zum Mittelpunkte der basalen Ansatzfläche des Organismus wurde. Leider konnte ich den Versuch noch nicht wiederholen, so dass ich nicht weiss, ob diese Erklärung die richtige ist, oder ob nicht vielleicht noch anderes z. B. auch Erbllichkeit der Eigenschaften mit in Frage kommt. Es befanden sich nämlich in dem betreffenden Culturtopf auch am *Sphagnum* hier und da mehrborstige Individuen, in sämtlichen übrigen Culturen fand ich solche dagegen nur verhältnissmässig selten. Ausser dem abnormen Auftreten mehrborstiger Individuen beobachtete ich auch noch typisches Fehlen der Borste und zwar besonders an den letzten Sommergenerationen im Monat October. Nicht zu verwechseln mit typisch borstenlosen Individuen sind solche, welche eine Borste besessen haben, denen die Borste jedoch z. B. durch Räderthiere abgefressen worden ist. Die Borste hat zweifelsohne die Bedeutung eines Schutzorganes des Organismus gegen Thiere und zwar besonders gegen Infusorien, grösseren Thieren gegenüber bietet sie dagegen kaum noch Schutz. Durch dieselbe wird die Annäherung der Infusorien an den Organismus, wenn nicht verhindert, so doch erschwert. Die vollständig entwickelten Individuen bedürfen freilich weniger dieses Schutzes, besonders da sie auch noch durch eine Gallerthülle geschützt sind, wohl aber die Schwärmsporen, welche, wie wir noch weiter unten sehen werden, sich meist nur wenig vom Substrat entfernen, sowie auch die aus denselben entstandenen, ganz jungen Pflanzen, welche noch keine starke Gallerthülle abgeschlossen haben. Die Borste dürfte demnach weniger ein Schutzmittel für das betreffende Individuum, als vielmehr ein solches für die nachfolgende Generation sein. Dafür spricht auch das häufige typische Fehlen derselben bei den letzten Sommergenerationen, welche zu einer Zeit sich bilden, in welcher die schädlichen Infusorien meist nur noch in geringer Zahl, oder überhaupt nicht mehr, vorhanden sind. Während des Winters bedarf der Organismus des Schutzes nicht, auch die erste Schwärmsporengeneration im Frühjahr wird denselben entbehren können, da anzunehmen ist, dass der Organismus früher erwacht, als seine Feinde, die Infusorien. Die Substanz, aus welcher die Borste gebildet wird, ist, wie schon gesagt, Gallerte und verhält sich gegen Reagentien ähmlich wie die Substanz der Gallertstiele der Diatomeen. Sie färbt sich nicht, oder doch nur schwach mit Färbemitteln, am intensivsten noch mit Methylgrün und Congoroth, mit Chlorzinkjod behandelt, zeigt sie keine Cellulosereaction. Auch Turnbull's Blau lässt sich in derselben in geringer Menge niederschlagen.

Wir kommen nun zur Schilderung der Zellmembran selbst, und zwar wollen wir vorerst die Beschaffenheit dieser an der völlig erwachsenen Zelle betrachten. Die Membran der Basalfläche ist sehr dünn, sodass man sie

häufig nicht genau erkennen und von der als Substrat dienenden Mooszellhaut unterscheiden kann. Behandelt man sie etwa  $\frac{1}{4}$  Stunde lang mit Chlorzinkjod, so zeigt dieses basale Membranstück bisweilen Cellulosereaction und wird dann als von der Mooszellhaut getrennte Lamelle deutlich erkennbar, meist jedoch ist diese Reaction sehr schwach, ja sogar nicht vorhanden. Ziemlich dünn ist die Membran auch an der der Basalfläche gegenüberliegenden Stelle. Diese ist hier häufig mit winzigen, kegelförmigen, spitzen Protuberanzen besetzt, welche entweder unregelmässig, oder in zwei ziemlich regelmässigen, concentrischen Kreisen stehen, von welchen der innere gewöhnlich aus 8 oder 10, der äussere oft aus 16 oder 20, bisweilen jedoch auch aus einer noch grösseren Anzahl gebildet wird. Diese Protuberanzen selbst, sowie ein mehr oder weniger kreisförmiges, dieselbe tragendes, stets scharf umschriebenes Zellhautstück färben sich intensiv roth mit Congoroth (vergl. Fig. 16, 17 und 18), während dieser Farbstoff von keinem andern Theile der Zellmembran so reichlich aufgenommen wird. Dasselbe Stück färbt sich deutlich violett nach etwa viertelstündigem Liegen in Chlorzinkjod. Dieser Theil dürfte daher stets Cellulose enthalten. Betrachtet man nun ein älteres Individuum, an welchem man dies Stück mit Congoroth gefärbt hat, im optischen Durchschnitt von der Seite, so bemerkt man leicht, dass letzteres sich gar nicht nach unten zu fortsetzt, sondern wie eine Art Kappe auf dem protoplasmatischen Körper aufsitzt und dass die Protuberanzen kegelförmige Ausbuchtungen desselben sind (vergl. Fig. 15 und 17). Letztere dürften nun freilich keine Hohlkörper darstellen, sondern sind wahrscheinlich mit Gallerte ausgefüllt, vermuthlich ist auch die Cellulosemembran selbst innen von einer sehr dünnen Gallertschicht (siehe die schematische Fig. 17), welche später vollständig verschleimt, ausgekleidet, doch lässt sich das Vorhandensein von Gallerte hier kaum nachweisen. Bei der Betrachtung der optischen Durchschnittsansicht eines älteren *Dicranochaete*exemplares (Fig. 17), bemerkt man auch, dass der untere Theil der Hüllmembran über den Rand der Cellulosekappe scheidenartig übergreift. Derselbe besteht aus Gallerte. Wir werden weiter unten zu untersuchen haben, wie diese eigenthümliche Lagerung der Cellulosekappe und der Gallertscheide entsteht. Auch werden wir erfahren, dass die Cellulosekappe später zur Zeit des Ausschwärmens der Schwärmsporen eine Art Deckel bildet, welcher aus der Gallertscheide heraustritt.

Vorerst wollen wir jedoch noch einen Blick auf diese Gallertscheide selbst werfen und deren Structur untersuchen. Dieselbe zeigt gewöhnlich dicht an der Basis ihre grösste Dicke, nach oben zu nimmt diese meist allmähig ab. Man kann nun gewöhnlich, besonders wenn man den Organismus von der Seite im optischen Durchschnitt betrachtet, eine deutliche Schichtung der die Basis der Zelle umgebenden Gallertscheide bemerken. Man unterscheidet eine innere, meist dünnere, das Licht stärker brechende und eine äussere, das Licht wenig brechende Schicht, welche meist bedeutendere Dicke besitzt und mehr oder weniger in einem Zustande des Verschleimens

sich befindet. Letzteres ist der Grund, dass erst, wenn die Gallerthülle auf irgend eine Weise gefärbt ist, diese äussere Schicht als deutlich gegen das umgebende Wasser abgegrenzt zu erkennen ist. Auch zeichnet sich dann die innere Schicht vor der äusseren dadurch aus, dass sie stärker gefärbt erscheint, als die äussere. An vielen Exemplaren bemerkt man zugleich eine feine radiale Streifung. Noch andere lassen deutlich erkennen, dass diese Streifung auf dem Vorhandensein von radialen, nach aussen zu dünner werdenden Strahlen besteht. Diese Strahlen sind häufig so zart, dass man dieselben auch bei Anwendung der besten Linsensysteme eben zur Noth wahrnehmen kann, bisweilen sind sie aber auch verhältnissmässig stark (Fig. 19). Man kann dann erkennen, dass sie aus einzelnen länglichen, stäbchenförmigen, bisweilen auch mehr rundlichen, tropfenförmigen Körpern, welche in einer Linie liegen, und deren Dicke oft nach Aussen zu abnimmt, zusammengesetzt sind, bisweilen aber auch aus längeren, mit den Spitzen nach aussen gerichteten Nadeln bestehen. Zwischen den Strahlen, und im Falle diese aus Einzelkörpern zusammengesetzt sind, zwischen diesen findet sich eine homogene Grundsubstanz, welche nur wenig Farbstoff aufnimmt, sich durch Entfärbungsmittel leicht wieder völlig farblos machen lässt, und welche leicht quellbar, sich an den älteren Exemplaren und an den vom Zellinhalt verlassenen Hüllen auflöst und verschleimt, so dass dann die Strahlen franzenartig hervortreten. Die Substanz der Strahlen dagegen färbt sich sehr stark und hält manche Farbstoffe in hohem Grade gegen Entfärbungsmittel zurück. Ganz besonders deutlich treten die Strahlen an manchen Individuen hervor, wenn man Safranin (vergl. Fig. 19) oder Fuchsin als Färbemittel anwendet. Auch Methylgrün-Färbung lässt sie bisweilen deutlich erkennen, weniger Haematoxylin, ammoniakalisches Carmin, Nigrosin, Alkanna und andere Farbstoffe, die weniger leicht festgehalten werden oder welche auch die Grundsubstanz etwas stärker tingiren. Die Bildung einer inneren und einer äusseren Schicht der Gallerthülle beruht nun darauf, dass in der äusseren die Grundsubstanz bereits in Quellung sich befindet, die Strahlen also etwas mehr aus einander rücken. Dazu kommt noch, dass in centraler Richtung die Strahlen resp. die dieselben zusammensetzenden Stäbchen oder rundlichen Körper meist grösser und dicker werden und schon aus diesem Grunde in radialer Richtung nach innen einander näher gerückt sind. In dem dem protoplasmatischen Körper anliegenden Theile der inneren Gallertschicht ist häufig die Grundsubstanz nicht mehr deutlich zu unterscheiden und tritt an Masse sehr zurück. Das stärkere Lichtbrechungsvermögen, welches diese innere Schicht auch ungefärbt zeigt, dürfte daher wohl wesentlich von der Strahlensubstanz herrühren. Mit Congoth färbt sich die Gallertscheide nur wenig, dagegen wird in derselben sogleich ein schöner blauer Farbstoff niedergeschlagen, wenn man etwas Essig- oder Salz-Säure dem Präparat zufügt. Auch durch Einlagerung verschiedener anderer Niederschläge in die Gallertscheide lässt sich die Structur derselben deutlich machen, vorausgesetzt dass man dazu günstige

Exemplare verwendet. So konnte ich Turnbull's Blau in derselben nach der von Klebs<sup>1)</sup> angegebenen Methode niederschlagen (vergl. Fig. 17). Klebs hat kürzlich eine ähnliche Structur, wie die hier von der Gallerthülle von *Dicranochaete reniformis* beschriebene bei der Gallerthülle von *Zygnema* und anderen Conjugaten nachgewiesen. Er fand dieselbe bestehend aus einer homogenen, indifferenten Grundsubstanz und in dieselbe eingelagert, in Form von Stäbchen, eine ebenfalls durch ihre Affinität zu mehreren Farbstoffen ausgezeichnete Substanz. Derselbe hält es für wahrscheinlich, dass letztere ein Albuminoid ist. Wenn auch wohl anzunehmen ist, dass die Substanz der Strahlen der Gallerthülle von *Dicranochaete* der der Stäbchen der Gallertscheide von *Zygnema* etc. entspricht, obgleich sie sich kaum in kochendem Wasser und Chlorzinkjod löst, so will ich doch dahingestellt sein lassen, ob hier wirklich ein Albuminoid vorliegt.

In Vorstehendem haben wir bis jetzt nur den Zustand der Zellhülle der völlig ausgebildeten Individuen geschildert. Es handelt sich nun darum auch dessen Entwicklung kennen zu lernen. Die aus der Schwärmospore entstandene, ganz junge Pflanze besitzt eine gleichmässige, sehr dünne, vermuthlich gallertartige Membran. Weder mit Chlorzinkjod, noch mit Congo-roth erhält man eine deutliche Färbung derselben. Erst wenn die Individuen etwa die doppelte Grösse der Schwärmosporen erreicht haben, färbt sich der glockenförmige obere Theil der Zellhaut, bisweilen auch die Basalfläche mit Congo-roth, weniger deutlich ist zu dieser Zeit die Cellulosereaction mit Chlorzinkjod. Bei vielen, in diesem Zustande befindlichen Individuen lassen sich auch die kleinen oben als dem Deckel angehörig bezeichneten, spitz kegelförmigen Celluloseprotuberanzen nachweisen. An etwas älteren Individuen ist schon rings um die Basis ein ganz kurzes, sich nicht mit Congo-roth stark färbendes Hüllstück aus Gallerte vorhanden. Man kann auch bisweilen an solchen schon deutlich erkennen, dass dieses Hüllstück nicht ein zugewachsenes Stück der primären Cellulosehülle ist, sondern dass diese rings um die Basis einen Riss erhalten und von dem auf dem Substrat sitzenden Basalstück sich also eine glockenförmige Kappe losgetrennt hat. Die Gallerthülle ist mithin eine Neubildung, welche an der Basis vom protoplasmatischen Körper abgesondert wird, und die primäre Cellulosemembran hier, wo diese vermuthlich am schwächsten ist, zerreisst, sich dann aus dem ringförmigen Riss hervordrängt und auch noch einen Theil der Cellulosekappe überwallt (vergl. Fig. 16 und 17). Bei der weiteren Entwicklung, bei welcher der Organismus seine Grundfläche immer mehr vergrössert und zugleich auch höher wird, wobei dann auch die entstandene Gallerthülle an Dicke sehr zunimmt, gelangt nun die glockenförmige Cellulosekappe immer mehr nach oben, ohne sich jedoch von dem ihr aufliegenden Theil der Gallerthülle vorerst loszutrennen. Das spätere Wachsthum der

<sup>1)</sup> Ueber die Organisation der Gallertscheide bei einigen Algen und Flagellaten. Untersuchungen aus dem Bot. Institut zu Tübingen II, p. 333.

Zellhülle des Organismus in verticaler, wie auch in horizontaler Richtung wird daher wohl einzig und allein in der Gallerthülle, und zwar vermuthlich nur an deren Grunde stattfinden, d. h. die Gallerthülle wächst interealar durch eine ringförmige basale Zone. Bisweilen finden sich auch Individuen, bei welchen in Folge ungleichen Wachsthums der Gallerthülle die Cellulosekappe mehr seitlich ansitzt. Besonders ist dies der Fall bei Individuen, deren basale Ausbreitung nach einer Seite hin irgendwie z. B. durch ein benachbartes Exemplar von *Dicranochaete* gehindert worden ist.

Wir kommen nun zur Schilderung des Zellinhaltes unseres Organismus. Ich will dabei mit der Beschreibung der Schwärmsporen beginnen. Dieselben sind nackt, von eiförmiger, bisweilen auch etwas eckiger Gestalt, ihre Grösse schwankt je nach der Anzahl, welche sich aus der Mutterzellhülle gebildet hat und ihr Längendurchmesser dürfte höchstens  $8\ \mu$  betragen. Sie besitzen ein mehr oder weniger uhrglasförmig oder zu einer halben Hohlkugel zusammengekrümmtes Chlorophor, einen rothen, an der Seite am Chlorophor liegenden Augenpunkt, an der hyalinen Spitze 2 Geisseln und einen Zellkern. Diese Schwärmsporen setzen sich, wie oben bereits beschrieben, fest, legen sich dann auf die eine Seite und werden für kurze Zeit amöboid, bis sie schliesslich zur Ruhe gelangen und die Zellhaut abseiden. Der rothe Augenfleck verbleicht nach und nach und scheint gänzlich zu verschwinden. Ich konnte leider nicht erforschen, ob nicht der Träger des rothen Farbstoffes wenigstens erhalten bleibt; auch nicht auf welche Weise bei der Schwärmsporenbildung der rothe Augenfleck von Neuem entsteht. Das Object ist wegen seiner Kleinheit nicht günstig zur Lösung des Räthsels der Function und der Bildungsweise dieses neuerdings wieder für ein rudimentäres Auge erklärten Organes. Das Chlorophor legt sich bei der zur Ruhe gekommenen Schwärmspore, oder, was dasselbe ist, der jungen Pflanze uhrglasförmig an die obere gewölbte Seite der Zelle der Basis gegenüber, also an die Lichtseite. Unter demselben befindet sich ein Saftraum und schliesslich mehr oder weniger in der Mitte der basalen Wand, derselben oft dicht anliegend, der Zellkern, umgeben von spärlichem Protoplasma. Dieses Lagerungsverhältniss bleibt nun der Zelle im Wesentlichen eigen thümlich, bis sie reif und völlig erwachsen, selbst zur Schwärmsporenbildung schreitet. Wir wollen daher hier nun die einzelnen Theile des Zellinhaltes uns genauer ansehen. Vorerst betrachten wir das Chlorophor. In der grünen, mehr oder weniger homogen erscheinenden Grundmasse desselben, deren feinere Structur wir weiter unten erörtern wollen, fallen sogleich ein oder mehrere rundliche, oder etwas kantige, völlig farblose, meist stark Licht brechende Körper in die Augen. Es sind dies die von Schmitz so benannten Pyrenoide. Das Chlorophor der ganz jungen Individuen besitzt meist nur ein Pyrenoid, welches dann gewöhnlich in dessen Mitte liegt. Auch bei vielen, fast völlig erwachsenen Individuen des Organismus ist nur ein Pyrenoid vorhanden, bei anderen finden sich jedoch schon ziemlich zeitig, noch ehe der Organismus etwa seine halbe Grösse erreicht hat, mehr solcher

Pyrenoide ein. Bei manchen Individuen werden dieselben sehr zahlreich, sodass man bisweilen 50 und mehr davon zählen kann. Diese Pyrenoide sind sogenannte nackte, insofern dieselben keine Stärkehülle besitzen. Aus der Combination der am fixirten und tingirten Material gemachten Beobachtungen scheint mir eine Neubildung derselben innerhalb der Chromatophorensubstanz sicher vorhanden zu sein, das Vorkommen einer Vermehrung derselben durch Theilung dagegen bezweifle ich, da die als Theilungsstadien deutbaren, übrigens nicht seltenen Zustände sich auch als Verwachsungen je zweier nahe an einander entstandener Pyrenoide erklären lassen. Directe Beobachtungen über die Entstehung der Pyrenoide konnte ich bisher noch nicht anstellen. Die Grösse der Pyrenoide ist sehr verschieden. Dieselbe nimmt natürlich ab bei Zunahme der Anzahl. Ist nur ein Pyrenoid vorhanden, so nimmt dasselbe bisweilen ein Fünftel bis ein Viertel des ganzen Chlorophors ein und ist dann auch in den lebenden Zellen deutlich sichtbar, vorzüglich wenn es mehr oberflächlich im Chlorophor eingebettet liegt, ebenso wenn zwei oder nur wenige grössere vorhanden sind. Dagegen sind die kleinen Pyrenoide weniger sicher als solche zu erkennen, zumal wenn dieselben von annähernd gleicher Grösse, als die bisweilen zahlreichen, gleichfalls im Chlorophor vorhandenen Stärkekörner sind. Erst durch Fixirung und Tinction wird es möglich dieselben nachzuweisen. Die grösseren Pyrenoide lassen, wenn man zur Untersuchung eines der neuen Zeiss'schen apochromatischen Systeme anwendet, schon bei der lebenden Pflanze eine innere Structur erkennen<sup>1)</sup>. Ganz deutlich jedoch tritt dieselbe bei grösseren, wie auch kleineren Pyrenoiden nach Fixirung derselben und besonders nach Färbung hervor. Man kann dann stets einen inneren von mehr oder weniger

1) Dem oben mitgetheilten gegenüber hat Schmitz weder in den nackten Pyrenoiden, noch in den stärkeumhüllten eine Structur nachzuweisen vermocht; (die Chromatophoren der Algen p. 47—50), dagegen hat A. W. Schimper (Jahrb. für wiss. Botan. Bd. XVI p. 74 ff.) bereits in den Pyrenoiden der Chromatophoren von *Bryopsis plumosa*, *Cladophora* etc. eckige Gebilde beobachtet, welche er für Eiweisskrystalle hält. Auch hat Schmitz (l. c. p. 139) nirgends unter den von ihm untersuchten Algen ein Schwinden der Pyrenoide in vegetativen Zellen, noch auch bei der Bildung von Fortpflanzungszellen oder Dauerzellen feststellen können. Ueberall vielmehr bei der Bildung von Zoosporen oder beweglichen Sporen, ungeschlechtlichen oder geschlechtlichen Fortpflanzungszellen und ebenso in den Dauer- und Ruhezellen liess sich nach seiner Angabe mit Sicherheit ermitteln, dass die Pyrenoide nicht aufgelöst werden, sondern erhalten bleiben, auch selbst wenn die Stärkekörner der Chromatophoren und auch diejenigen der Pyrenoide verbraucht werden und schwinden. Schmitz sucht durch diese Thatsache, die ich übrigens nicht in Zweifel ziehen will, seine Ansicht zu stützen, dass die Pyrenoide nicht leblose Inhaltkörper der Chromatophoren, etwa geformte und aufgespeicherte Reservestoffe darstellen, sondern vielmehr activ lebendige und wesentliche Theile dieser Chromatophoren sind, die an der Lebensthätigkeit derselben einen wesentlichen und wichtigen Antheil nehmen. Meines Erachtens beweist diese Thatsache nur, dass die betreffenden Zellen bei der Theilung die in den Pyrenoiden aufgespeicherten Reservestoffe zur Zeit noch nicht aufbrauchen und aufzubrauchen nöthig haben.

graden Linien begrenzten Kern — ein Eiweiss-Krystalloid — und eine dasselbe umgebende Hülle unterscheiden. Nur in den kleinsten punktförmigen Pyrenoiden ist kein Krystalloid zu erkennen. Dasselbe dürfte wohl auch in der That hier fehlen und mithin die Substanz der späteren Hülle die Grundlage des Pyrenoids bilden, das Krystalloid dagegen ein Abscheidungsproduct derselben vorstellen. Letzteres ist zweifellos als aufgespeicherter Reservestoff zu betrachten, die Hülle desselben aber wohl als das Organ, welches dazu bestimmt ist, diesen Reservestoff, wenn nicht zu bilden, so doch in der Form des Krystalloides zu condensiren. Dem entspricht auch die Beobachtung, dass die Pyrenoide schwinden. Aus der Combination gefärbter Dauerpräparate muss ich schliessen, dass dieses Schwinden zuerst das Krystalloid betrifft. Dasselbe wird durchsichtiger, für die Aufnahme der Farbstoffe weniger empfänglich, zerfällt auch wohl in einzelne Stücke. Die völlige Auflösung der Hülle scheint erst nach dem Schwinden des Krystalloides stattzufinden, doch zerreisst dieselbe bereits vorher, bisweilen sogar in einzelne Fetzen, welche sich vom Krystalloid lösen. Ein derartiges Schwinden kommt oft vor, wenn die Zelle nur ein oder einige wenige grössere Pyrenoide besitzt. Die Substanzen der Pyrenoide werden vermuthlich in verflüssigter, chemisch umgeänderter Form an andere Stellen des Chlorophors gebracht, aber hier von Neuem sogleich als solche abgeschieden, indem eine grössere Anzahl kleiner Pyrenoide auftaucht, in denen auch bald Krystalloide auftreten. Fast regelmässig aber findet das Schwinden der Pyrenoide kurz vor der Zelltheilung zum Zweck der Schwärmsporenbildung statt. Sämmtliche vorhandene Pyrenoide schwinden dann in der angegebenen Weise. Weder die Substanz der Krystalloide, noch deren Hülle ist schliesslich durch Reagentien nachzuweisen, es muss also dieselbe wohl in im Zellsaft lösliche Stoffe übergeführt worden sein. Erst nach Vollendung der successiven Zweitheilung der Zelle vor oder nach Abrundung der Schwärmsporen treten neue Pyrenoide in diesen auf (Fig. 7, 8, 9). Uebrigens sind auch Ausnahmen vorhanden, bisweilen bleiben einzelne Pyrenoide bei der Theilung erhalten und gehen auf die Theilproducte direct über. Die Krystalloide zeichnen sich, ausser durch die charakteristischen Proteinreactionen meist dadurch aus, dass sie gewisse Farbstoffe in sich aufzuspeichern vermögen, nachdem sie fixirt worden sind. Besonders wird Safranin und Fuchsin — ersteres nach etwa 12stündigem Liegen in nicht allzuverdünnter Lösung, letzteres in kürzerer Zeit — aufgenommen und auch bei Anwendung entsprechender Entfärbungsmittel bis zu einem bestimmten Grade festgehalten, so dass es gelingt Präparate zu erhalten, in welchen fast nur die Krystalloide gefärbt hervortreten, der ganze übrige Zellinhalt aber fast farblos erscheint. Auch mit Methylgrün, Haematein-Ammoniak, Picro-Nigrosin, Essigsäure-Carmin, wässriger Congoroth- und anderen Farbstofflösungen färben sich die fixirten Krystalloide, jedoch bei weitem nicht so intensiv, wie mit Fuchsin und besonders mit Safranin. Mit letzterem erhalten sie häufig eine von den übrigen Zellbestandtheilen ab-

weichende Färbung. Während nämlich der übrige Zellinhalt purpurröthlich oder rosa gefärbt erscheint, zeigt das Krystalloid bisweilen eine dunkelziegelrothe bis fast orangerothe Färbung. Nicht alle Krystalloide färben sich jedoch gleich intensiv, ja ich fand solche, welche relativ nur wenig Farbstoff aufgenommen, oder doch einen grossen Theil des aufgenommenen Farbstoffes wieder an das zur Beseitigung der Ueberfärbung verwendete Entfärbungsmittel abgegeben hatten. Es scheint jedoch, dass derartige Krystalloide stets im Schwinden begriffenen Pyrenoiden angehören, so dass man eine graduelle Verschiedenheit in Bezug auf die Dichtigkeit der Masse der Krystalloide und die Quantität der das Krystalloid bildenden Eiweissstoffe annehmen kann. Dementsprechend ist auch die Löslichkeit der Krystalloide. Wie andere derartige Körper lösen sie sich in kochendem Wasser, in verdünnter und concentrirter Kalilauge, Kochsalzlösung, Essigsäure und Salzsäure, jedoch nicht alle Krystalloide gleichmässig schnell. Es scheinen die sich schwerer lösenden Krystalloide zugleich dieselben zu sein, die sich mit den oben erwähnten Farbstoffen stärker färben und den Farbstoff länger zurückhalten. Bei Material, welches vorher in Alkohol gelegen hat, erfolgt die Lösung der Krystalloide durch Kalilauge langsamer. Ganz unlöslich werden dieselben in dieser, wenn sie vorher einen Tag in 10% alkoholischer Quecksilberchlorid-Lösung zugebracht haben. In Essigsäure und Kochsalzlösung lösen sich die Krystalloide ebenfalls leicht, doch wird die Löslichkeit sehr vermindert, wenn das Material vorher in Alkohol gelegen hat. So fand ich nach 3 tägigem Liegen von Alkoholmaterial in concentrirter Essigsäure einzelne Krystalle noch vollständig erhalten vor. Erst in kochender Essigsäure lösten sich dieselben langsam auf. Concentrirte Salzsäure löst die Krystalloide meist sehr schnell, auch von Alkoholmaterial innerhalb weniger Minuten, nicht so schnell verdünnte, 50% braucht bei Alkoholmaterial 20 bis 25 Minuten, mehr verdünnte noch längere Zeit, 1% Salzsäure übt keine wahrnehmbare Wirkung mehr aus. Von 10% Chloralhydratlösung werden die Krystalloide nicht gelöst, dagegen von concentrirter, doch werden sie in derselben unlöslich, wenn das Material vorher in Alkohol gelegen hat. In Ammoniak lösen sich die Krystalloide nicht, auch nicht nach längerem Liegen in demselben, wenigstens war nach einer Woche keine Lösung derselben zu bemerken. Nach mehrere Tage andauerndem Liegen in Verdauungsflüssigkeit, welche aus 1 Vol. Pepsin-Glycerin und 3 Vol. 0,2% Salzsäure bestand, wurden die Krystalloide sehr durchsichtig und färbten sich nicht mehr so intensiv mit Safranin etc. Vermuthlich wird die den Farbstoff vorzugsweise aufnehmende Substanz verdaut.

Ich fand meist nur ein Krystalloid in jedem Pyrenoid und selten mehrere von einander getrennte. Dagegen hatte ich oft Gelegenheit Doppelkrystalloide und drusenartige Verwachsungen von 3 Individuen zu beobachten. Diese Doppel- und Tripelkrystalloide waren bald mit je einer Seite verwachsen, bald auch hingen dieselben nur an einer Stelle zusammen. Das Pyrenoid hatte dann oft eine mehr oder weniger bisquitförmige Gestalt, deren Theile

jedoch nicht immer von gleicher, sondern bisweilen von sehr ungleicher Grösse waren, sodass die eine Hälfte aus der andern herauszusprossen schien. Ich habe oben schon davon gesprochen, dass man dergleichen Zustände der Pyrenoide als Theilungsstadien deuten könnte. Immerhin dürfte die Deutung derselben als genetische Verwachsungsproducte zweier nahe neben einander entstandener Pyrenoide mehr Wahrscheinlichkeit für sich haben.

Die Krystalloide zeigen nach der Fixirung mit Alkohol etc. bisweilen deutliche Schichtung. Die äusserste Schicht derselben nimmt häufig weniger Farbstoff auf, oder giebt doch den Farbstoff leichter ab, als der umschlossene Kern und löst sich auch leichter in Lösungsmitteln, als dieser. Ich vermuthete, dass diese Schichtung in Folge eines Wachstums des Krystalloides durch Apposition entsteht und dass also das Krystalloid durch Auflagerung neuer Schichten vergrössert wird.

Die Krystalloide liegen nicht völlig nackt in der Masse des Chlorophors, sondern sie sind, wie ich oben schon angab, von einer Hülle umgeben. Diese Hülle ist häufig eine allseitig geschlossene, bisweilen ist sie jedoch auch an ein und der andern Stelle unterbrochen (Fig. 23, 24), schliesslich nimmt sie auch fast netzigen Charakter an (Fig. 25), besonders bei schon im Schwinden begriffenen Pyrenoiden. Die Dicke der Hülle ist verschieden, bei verschiedenen Pyrenoiden, oft auch an verschiedenen Stellen ein- und desselben Pyrenoides. An den Ecken und Kanten ist sie bisweilen dicker, als an den Flächen des Krystalloides, bisweilen aber auch dünner. Ich habe mir Mühe gegeben die chemische und physikalische Beschaffenheit dieser Hülle zu erforschen, ohne jedoch zu einem abschliessenden Resultat gekommen zu sein. Dieselbe besitzt vermuthlich eine zähflüssige Beschaffenheit, wenigstens macht die Art und Weise, wie sie sich an das Krystalloid anschmiegt, der mehr oder weniger abgerundete Umriss, dem sie dem Pyrenoid giebt, sowie auch die Art und Weise, wie sie sich bisweilen beim Schwinden des Pyrenoids vom Krystalloid löst, eine solche wahrscheinlich. Sie ist eben so wie das Krystalloid löslich in concentrirter und verdünnter Kalilauge, concentrirter und nicht allzustark verdünnter Salzsäure. In 1% Salzsäure hält sie sich lange Zeit unverändert, schwächere greift sie anscheinend gar nicht an. Eine Flüssigkeit, welche auf 4 Volumen Wasser 1 Volumen concentrirte Salzsäure des Handels enthielt, löst die Hülle etwa innerhalb 24 Stunden, 50% in etwa 10—15 Minuten, concentrirte fast augenblicklich. Von Verdauungsflüssigkeit, welche aus 1 Vol. Pepsin-Glycerin und 3 Vol. 0,2% Salzsäure bestand, wurde die Hülle auch nach tagelangem Liegen in derselben nicht angegriffen. In Ammoniak ist sie unlöslich, oder doch nur theilweise löslich. Mit Alkohol fixirt, ist sie ganz unlöslich in Ammoniak. In Kochsalzlösung verschiedener Concentration ist sie ebenfalls unlöslich, quillt jedoch in derselben zu einer schleimigen Gallerte auf. Ebenso ist sie unlöslich in verdünnter Essigsäure und Eisessig. Driekt man den Zellinhalt aus der Zelle heraus, so löst sich die Hülle in kaltem Wasser nicht auf, dagegen löst sie sich in kochendem Wasser, schwerer jedoch nach der

Fixirung vermittelt Alkohol. In 10% Chloralhydratlösung blieb die Hülle unverändert, dagegen wird sie von concentrirter gelöst, obgleich nicht so schnell, als das Krystalloid. Ebenso wird dieselbe auch von concentrirter Kaliumbichromatlösung gelöst, doch nicht nach der Fixirung mit Alkohol. Interessant ist die grosse Affinität, welche die Hüllsubstanz nach dem Fixiren mit Alkohol etc für Haematoxylinfarbstoff<sup>1)</sup> zeigt. Sie hält denselben gegen entsprechende Entfärbungsmittel energischer zurück, als selbst die Chromatinsubstanz vieler Zellkerne. Sehr leicht wird auch Carmin von der Hülle aufgenommen, besonders in ammoniakalischer Lösung. Mit Alkannafinctur färbt sie sich intensiv, wenn das Material einige Stunden in derselben liegen bleibt. Auch dieser Farbstoff wird ausserordentlich stark festgehalten. Ebenso intensiv färbt sich die Hülle auch mit Congoroth und zwar sehr schnell. Weniger intensiv und dauerhaft, wie mit Haematoxylin, Carmin, Alkanna und Congoroth, färbt sich die Hülle mit Pieronigrosin, Methylgrün und anderen Anilinfarbstoffen. Safranin wird fast gar nicht von der Hülle aufgenommen, oder ist doch vermittelt Auswaschens mit Alkohol leicht aus derselben zu entfernen. Da die Krystalloide im Gegentheile gerade diesem Farbstoff gegenüber eine ausserordentliche Anziehungskraft ausüben, so benützte ich dies Verhalten, um hübsche Doppelfärbungen, wie die Fig. 22 bis 27 abgebildeten, zu erhalten. Dabei war es zweckmässig erst mit Haematein-Ammoniak zu überfärben, dann mit Alaunwasser so lange zu entfärben, bis nur noch die Hülle gefärbt erschien und schliesslich nach sauberem Auswaschen des Präparates in destillirtem Wasser mit Safranin zu färben durch Einlegen in mit Wasser stark verdünnter alkoholischer Lösung von solchem während 12—24 Stunden. Es gelang mir auch in geringer Quantität, aber deutlich Turnbull's Blau in die Hülle einzulagern.

Nach den angegebenen Reactionen dürfte die Hülle wohl, wenn nicht allein, doch hauptsächlich aus einer der als Nucleine bezeichneten, oder doch denselben nahestehenden Proteinsubstanzen bestehen.

Um die Hülle der Pyrenoide herum findet sich ein feines Häutchen, welches allerdings nicht ohne Weiteres sichtbar ist. Man kann dasselbe jedoch leicht zur Ansicht bringen, wenn man die Hülle ganz allmählig mit

<sup>1)</sup> Ich ziehe zur Färbung Haematein-Ammoniak allen übrigen Haematoxylinlösungen vor, und zwar verwende ich mit Vorliebe mit Alkohol fixirtes Material und übertrage dasselbe direct aus dem Alkohol in die Lösung. Letztere bereite ich zu, indem ich einen an einem Objectträger hängenden Wassertropfen, dem ein Haematoxylinkörnchen zugefügt ist, über der Mündung eines Ammoniakfläschchens hin und her bewege. Dann wird der Objectträger umgekehrt und das Material direct aus dem Alkohol in die Lösung eingelegt. Färbt es sich nicht sogleich, so drehe ich den Objectträger mit dem Tropfen Haematein-Ammoniaklösung und dem darin liegenden Object abermals um und lasse so lange Ammoniakdunst auf beide einwirken, indem ich den Objectträger über der Mündung des Fläschchens hin- und herbewege, bis das Object in gewünschter Weise gefärbt oder noch besser überfärbt ist. Die Ueberfärbung lässt sich leicht durch Abwaschen mit Alaun oder eine Spur Salzsäure haltigem Wasser, wie bekannt, beseitigen.

sehr verdünnter Kalilauge löst. Vermuthlich muss dieses Häutchen als Bestandtheil des protoplasmatischen Gerüstes des Chlorophors aufgefasst werden und nicht als Theil der Pyrenoide. Schliesslich möge hier noch darauf aufmerksam gemacht werden, dass die grösseren Pyrenoide häufig ganz oder nur theilweise aus der Masse des Chlorophors in den unter demselben befindlichen Raum, in welchem auch der Zellkern liegt, heraustreten, (vergl. Fig. 27) so dass letzterer bisweilen von den Pyrenoiden dicht eingezwängt erscheint. Ich werde darauf weiter unten noch zurückkommen.

Ich bin hier auf die Beschaffenheit der Pyrenoide etwas genauer eingegangen, als es vielleicht nöthig erscheinen mag, doch glaubte ich auf dieselben meine Untersuchungen aus dem Grunde besonders richten zu müssen, weil diese Körper einerseits noch nicht genau genug bei vielen Algen untersucht sind, andererseits über die Funktion der Pyrenoide zur Zeit noch keine fest begründete Ansicht herrscht. Da viele Pyrenoide von einer Stärkehülle umgeben sind, sogenannte Amylumherde bilden, so ist von Schmitz <sup>1)</sup> angenommen worden, dass sie in irgend einer Beziehung mit der Stärkebildung stehen. Ich glaube, dass diese Beziehung nur eine locale ist. Die Stärke wird bei den sogenannten Amylumherden an einem Pyrenoide abgelagert, weil eben dieses für sich auch eine Ablagerung von Reservennahrung, sei es in Gestalt eines Eiweiss-Krystalloides, wie bei *Dicranochaete*, *Bryopsis plumosa*, *Cladophora* und andern Algen, oder einer mehr abgerundeten, zähflüssigen Eiweissmasse enthält. Das Princip der Ordnung im Haushalt der Zelle erheischt es vielleicht, dass gleichen oder doch ähnlichen Zwecken dienende Substanzen möglichst an derselben Stelle abgelagert werden.

Ausser den Pyrenoiden enthält das Chlorophor, besonders älterer Individuen, auch meist noch Stärkekörnchen. Nur in den jüngsten Zellen und vermuthlich auch in den Schwärmosporen scheinen sie zu fehlen. Ueber diese Stärkekörner ist wenig zu sagen. Sie sind oft sehr klein, sodass ich die selben meist erst nach Behandlung der Zelle mit Eau de Javelle mit Sicherheit nachweisen konnte. Bei der geringen Grösse liess sich ein schichtenförmiger Aufbau derselben nicht erkennen. Ihre Form ist eirund, und vermuthlich besitzen sie dementsprechend einen excentrischen Kern. Dieselben finden sich gleichmässig im Chlorophor vertheilt.

Ausser den Pyrenoiden und Stärkekörnern finden sich in der Grundsubstanz des Chlorophors eingebettet Arthur Meyer's „Grana“ <sup>2)</sup>, die bisweilen bei *Dicranochaete* relativ gross sind, sodass ich, ehe ich genauere Untersuchungen angestellt hatte, zu dem Glauben verführt wurde, dass ich es bei *Dicranochaete* nicht mit einem einzigen Chlorophor, sondern mit einer grossen Anzahl winzig kleiner zu thun habe. In diesem Sinne habe ich mich auch in meinem Vorbericht (l. c. p. 294) ausgesprochen. Später habe ich freilich einsehen müssen, dass ich es nicht mit kleinen Chlorophoren, sondern

1) Die Chromatophoren der Algen 1882 p. 60.

2) Arthur Meyer, Das Chlorophyllkorn 1883 p. 23.

mit den Meyer'schen Grana zu thun habe. Behandelt man frisches Material unter dem Mikroskop mit absolutem Alkohol, so fliessen die „Grana“ zu grösseren, grünen Tropfen zusammen, welche dann vom Alkohol aufgenommen werden. Dasselbe Zusammenfliessen zu grösseren Tropfen erfolgt auch, wenn man frisches Material in Wasser kocht. Diese Erscheinung dürfte doch wohl für die Ansicht von Pringsheim<sup>1)</sup> über den Aufbau der Chlorophyllkörper sprechen gegen Arthur Meyer, wenigstens dürfte hier bei *Dicranochaete* der Farbstoff an einen ölartigen Träger (Lipochlor Pringsheim's), welcher die Hohlräume der das schwammige Gerüst der Chlorophyllkörper bildenden Grundsubstanz ausfüllt, gebunden sein. Was nun diese letztere selbst anbelangt, so war es mir nicht möglich eine Fibrillenstructur, wie Frank Schwarz<sup>2)</sup> oder auch Schmitz<sup>3)</sup> und Frommann<sup>4)</sup> für andere Chlorophyllkörper beschrieben haben, nachzuweisen. Die Dicke des Chlorophors ist verschieden, doch ist es stets so stark, dass der grösste Theil des Zelllumens von demselben eingenommen wird. Die Gestalt ist, wie oben schon bemerkt, gewöhnlich die einer runden, halb hohlkugel- oder uhrglasförmig gekrümmten Scheibe, deren Umriss sich namentlich nach der Form der Zelle selbst richtet. Bisweilen ist der Rand nach unten etwas umgeschlagen oder hier verdickt, so dass das Chlorophor also auch noch einem grossen Theil der basalen Wand anliegt.

Wir haben schliesslich noch bei der Betrachtung der Inhaltsbestandtheile der Zelle auf den Zellkern einen Blick zu werfen. Derselbe liegt eingebettet in nur sehr wenig Körnchen führendes Protoplasma, wie schon erwähnt, in dem Raum unter dem Chlorophor. Bei den jüngeren Individuen ist er chromatinreich und färbt sich sehr intensiv mit Haematein-Ammoniak, so dass es manchemal schwer hält in gefärbten Präparaten denselben von mittelgrossen, stark-hülligen Pyrenoiden zu unterscheiden, um so mehr, als seine Form mehr oder weniger rundlich, bisweilen aber auch mehr länglich oder traubenförmig und eckig ist (vergl. Fig. 20, 21, 29). Bei älteren Zellen ist der Kern dagegen meist mehr flach linsenförmig und gewöhnlich arm an Chromatin-substanz und die Färbung, welche er mit Haematein-Ammoniak annimmt, ist weniger intensiv. Da bei solchen älteren Individuen häufig grössere Pyrenoide, wie ich oben schon erwähnte, theilweise aus dem Chlorophor in dem unter demselben liegenden Raum ausgetreten sind, so liegt der Zellkern bisweilen zwischen diesen Pyrenoiden mehr oder weniger eingeklemmt, oft auf

1) N. Pringsheim, Ueber Lichtwirkung und Chlorophyllfunction in der Pflanze. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XII p. 313.

2) Frank Schwarz, Die morphologische und chemische Zusammensetzung des Protoplasmas; Separatabd. aus Cohn's Beiträgen zur Biologie der Pflanzen Bd. V, Heft 1, p. 41.

3) Fr. Schmitz, Beiträge zur Kenntniss der Chromatophoren in Pringsheim's Jahrbüchern f. wiss. Bot. 1884. Bd. XV. p. 173.

4) C. Frommann, Beobachtungen über Struktur und Bewegungsercheinungen des Protoplasmas der Pflanzenzellen 1880. p. 6.

die schmale Kante gestellt oder verbogen und ist dann schwer sichtbar. Häufig liegt er jedoch auch flach ausgebreitet der basalen Wand der Zelle dicht an. Befindet sich dann nicht ein Pyrenoid dicht über dem Zellkern, so ist derselbe, im Falle er fixirt und gefärbt ist, verhältnissmässig gut als solcher zu erkennen. Auch kann man dann eine feine Structur, welche darin besteht, dass sehr kleine Chromatinkörner, denen mitunter auch ein oder mehrere grössere zugesellt sind, in einer anscheinend homogenen Grundmasse eingelagert sind, erkennen. Den Nachweis, dass jede Zelle einen solchen Körper, den ich für den Kern halte, besitzt, konnte ich leicht führen, indem ich Alkoholmaterial kurze Zeit etwa 15 bis 20 Minuten mit concentrirter Salzsäure behandelte oder für längere Zeit in nicht allzusehr verdünnte Salzsäure einlegte, dann gut mit destillirtem Wasser dasselbe auswusch und mit Haematein-Ammoniak färbte. Die Hüllen der Pyrenoide werden auch nach der Fixirung mit Alkohol, wie oben schon bemerkt, in Salzsäure völlig gelöst, wohl unter Zersetzung der Substanz derselben, während der Zellkern bei nicht allzulanger Einwirkung der Säure relativ wenig leidet, so dass auch noch seine Structur, soweit dieselbe überhaupt sichtbar ist, erhalten bleibt. Bei allzulanger Einwirkung der Säure wird der Kern freilich zu einer structurlosen Gallerte verwandelt, die schliesslich auch mit Haematein-Ammoniak nicht mehr färbbar ist, indem vermuthlich dann auch das Chromatin zersetzt wird. Nur vermittelt Färbung mit Haematein-Ammoniak erhielt ich wirklich reine Kerntinctionen und zwar meist erst nach Ueberfärbung und nachfolgendem Auswaschen in alauhaltigem Wasser. Weniger günstige Resultate lieferte entsprechende Behandlung mit Lösungen anderer Farbstoffe, wie Safranin, Carmin etc. Ich will daher auf die mit diesen angestellten Färbungsversuche nicht weiter eingehen.

Im Vorhergehenden habe ich bereits mehrfach Gelegenheit gehabt That-sachen aus der Entwicklungsgeschichte des hier beschriebenen neuen Organismus zu berühren. Es wird nun jedoch zweckmässig sein, ein Gesamtbild des Entwicklungsganges, wie sich derselbe nach meinen neueren Untersuchungen herausgestellt hat, zu geben. Ich will dabei mit der Schwärmsporenbildung beginnen. Dieselbe erfolgt durch wiederholte Zweitheilung des Zellinhaltes und zwar bereitet sich dieselbe vor, indem der Zellinhalt sich contrahirt und innerhalb der alten Zellhülle eine neue und zwar aus sehr leicht verschleimender Gallerte bestehende Hülle abscheidet, die jedoch häufig sehr dünn ist und daher leicht übersehen wird, aber wohl nie wirklich fehlt. Ein weiteres Anzeichen davon, dass die Zelle zum Sporangium sich umzubilden im Begriff steht, besteht darin, dass, wie ich bereits oben schon bemerkt habe, gewöhnlich die Pyrenoide schwinden. Die in denselben deponirte Reservesubstanz wird nun auch zum grössten Theil bei der Schwärmsporenbildung verbraucht, doch scheint ein Rest davon übrig zu bleiben, da in dem Chlorophor einer jeden Schwärmspore gewöhnlich ein, bisweilen auch mehrere neue derartige Gebilde, oft noch bevor die Schwärmsporen sich abzurunden beginnen, auftritt. Es kommt jedoch vor,

dass ausnahmsweise, vermuthlich wenn ein Ueberfluss von Reservenernahrung vorhanden ist, einzelne Pyrenoide bei der successiven Zweitheilung von den älteren Generationen auf die folgenden Tochtergenerationen übergehen. Ob jedoch schliesslich aus der Urmutterzelle, also dem Sporangium, stammende Pyrenoide auf diese Weise auch von den Endproducten der successiven Theilungen, den Schwärmsporen übernommen werden können, konnte ich nicht feststellen. Zugleich mit der Auflösung der Pyrenoide erfolgt wohl auch regelmässig eine solche der Stärkekörner. Zur selben Zeit erfolgen auch in der sich zum Sporangium umbildenden Zelle successive Zweitheilungen des Zellkernes, so dass die Zelle dann scheinbar mehrkernig wird. Doch scheint es nicht nothwendig, dass sämtliche für die Schwärmsporen bestimmte Kerne bereits vorhanden sind, ehe das Chlorophor der Zelle sich theilt, d. h. also, ehe diese erste Zelltheilung vollendet ist. Wenigstens konnte ich wohl häufiger Zellen mit 2, 4 und 8 Zellkernen, doch nur selten solche mit noch mehr beobachten. Die Kerntheilung scheint mir eine directe, amitotische zu sein. Ich fand wiederholt bisquitförmige Formen (Fig. 29 b), welche kaum anders als als Theilungszustände sich deuten lassen, niemals jedoch Kerntheilungsfiguren. Es kommt dabei auch vor, dass die Theilproducte ungleich an Grösse sind, so dass es bisweilen den Anschein hat, als sprosse ein kleinerer Kern aus dem grösseren heraus. Sind derartige Kerne allzu klein, so theilen sie sich vermuthlich nicht weiter. Es erklärt sich dadurch, dass bisweilen ungerade Zahlen der in einem Sporangium gebildeten Schwärmsporen vorkommen. Mit der eintretenden ersten Theilung des Chlorophors ist auch die erste Zelltheilung vollendet. Die erste Theilebene fällt bei normalen, einborstigen Individuen stets in die Verlängerung der Einbuchtung, welche die Borste trägt, senkrecht auf die Basalfläche, mit welcher die Zelle aufsitzt. Die zweite Theilebene steht senkrecht auf der ersten und ebenfalls auf der Basalfläche. Die ferneren Theilungen verlaufen weniger regelmässig. Die dritte Theilebene scheint zwar meist ungefähr parallel zur ersten zu liegen (vergl. das Schema Fig. 6), doch ist dieselbe auch häufig schon in abweichender Richtung geneigt, alle ferneren Theilungen, wenn überhaupt solche noch stattfinden, verlaufen unregelmässig nach allen Richtungen des Raumes. Manchmal werden nur 4 Schwärmsporen gebildet, häufig 8—16, seltener über 20, sicher wohl nie mehr als 32. Doch konnte ich auch letztere Zahl nie beobachten. Nach vollendeter Theilung runden sich nun die gebildeten Schwärmsporen ab und scheiden jede für sich eine Gallerthülle ab. Diese Gallerthüllen fliessen jedoch zusammen, so dass die Schwärmsporen in eine homogene Schleimmasse eingebettet zu sein scheinen. Ebenso verschmelzen diese Partialgallerthüllen auch ganz und gar mit der vor der Theilung der Urmutterzelle von dieser abgeschiedenen, nun gemeinsam die Schwärmsporen umgebenden Gallerthülle, so dass man keine Grenzen zwischen ihnen erkennen kann. Diese gebildete Gallertmasse, in welcher die nun hin und wieder Bewegung zeigenden und bereits den rothen Augenfleck besitzenden Schwärmsporen eingebettet liegen,

nimmt nun bald viel Wasser auf und quillt sehr stark auf. Dadurch wird ein Druck auf die oben genauer beschriebene Cellulosekappe ausgeübt und dieselbe nach und nach aus der dieselbe unten umgebenden Gallerthülle langsam herausgeschoben, bis sie aus derselben plötzlich ruckweise austritt. Häufig zerreißt dabei auch die Gallerthülle in (zur Basalfläche des Organismus) vertikaler Richtung. Es entstehen 1—3 mehr oder weniger tief verlaufende Längsrisse, die jedoch auch fehlen können (vergl. Fig. 18). Der ganze Inhalt tritt zugleich mit der Cellulosekappe aus der Gallerthülle heraus. Derselbe wird einerseits durch die, wie es scheint, klebrige Beschaffenheit der Gallerte, in welcher die Schwärmsporen eingebettet liegen, in der Nähe festgehalten, sei es an der Cellulosekappe oder an der Borste. Die Schwärmsporen fangen bald an sich in der immer mehr verschleimenden Gallertmasse stärker zu bewegen. Es scheint dann die von der Urmutterzelle gebildete Gesamthülle zuerst zu platzen und bald darauf mehr oder weniger gleichzeitig die Specialhüllen der Schwärmsporen. Letztere treten aus dem Riss rückwärts aus und ziehen die nur mit sehr starken Immersionen erkennbaren Geisseln nach, drehen sich jedoch, sobald sie dieselben völlig herausgezogen haben, sogleich um. Ohne in einen Copulationsact einzutreten, begeben sie sich oft in die nächste Nähe der Mutterzellohülle an passende Stellen des Substrates, um sich festzusetzen. Sie verkleben dabei, wie oben bereits erwähnt, zuerst mit dem vorderen hyalinen Ende mit dem Substrat, legen sich dann jedoch gewöhnlich auf die Seite — eine Ausnahme hiervon machen vielleicht, wie oben angedeutet, die Schwärmsporen, aus welchen mehrborstige Individuen entstehen — und werden amoeboid. Ihr Umriss erscheint wellig bewegt, dabei laufen sie mehr und mehr nach Art eines Tropfens auseinander, bis eine bestimmte Basalfläche von ihnen eingenommen ist. Die Geisseln werden anscheinend abgeworfen, dann hört die amoeboider Bewegung auf und der Umriss rundet sich mehr oder weniger ab. Zugleich beginnt die vordere hyaline Spitze, der der Zellkern stets genähert ist, auszuwachsen und, wie oben beschrieben, die Borste zu bilden. Die Zelle selbst scheidet die erste Membran ab, welche bei nicht allzu jungen Individuen Cellulose-reaktion zeigt und später zur Deckelkappe wird, wie oben beschrieben. Der Zellinhalt nimmt zu und die Zelle wächst, ihre Basalfläche vergrößernd, mehr oder weniger um die Borste herum, wodurch der Einschnitt entsteht, durch welchen die Zelle die charakteristische Nierenform erhält. Das Chlorophor nimmt mit der Zelle an Grösse zu und es bilden sich in demselben die Reservestoffablagerungen in Gestalt von Pyrenoiden und Stärkekörnchen.

Die Zeit, welche die Schwärmsporen gebrauchen, um sich zur erwachsenen Borstenzelle zu entwickeln, beträgt in der Zeit der intensivsten Vermehrung, also im Juni und Juli, etwa nur 8 bis 12 Tage, im Frühjahr und Herbst ist dieselbe dagegen einige Tage länger. Die erwachsenen Zellen bilden sich sämtlich wieder zu Sporangien um. Auf diese Weise erzeugen sich im Laufe des Sommers eine ganze Reihe von Generationen und der Orga-

nismus vermehrt sich ausserordentlich, so dass die unteren Regionen der Sphagnumpflanzen etc. oft ziemlich dicht mit Individuen besetzt sind (vergl. das Habitusbild Fig. 1). Im Winter erfährt die Schwärmsporenbildung eine Unterbrechung. Doch hatte ich Gelegenheit, bei Cultur im Zimmer noch im December einige Sporangien zu beobachten. Viele Zellen scheinen im vegetativen Zustande den Winter zu überdauern, doch scheint sich auch ein Ruhezustand zu finden. Wenigstens habe ich wiederholt in meinen Culturen bemerkt, dass einzelne Zellen innerhalb der alten, mit der Cellulosekappe sich öffnenden Gallerthülle rings um eine neue, ziemlich starke Gallertmembran, und zwar unter Contraction und Abrundung des Zellinhaltes abgesondert hatten. Auch fand ich einzelne derartige verjüngte Zellen aus der alten Gallerthülle herausgeschlüpft (Fig. 30). Es ist möglich, dass derartige Zellen im Begriff gestanden hatten sich zu Sporangien umzubilden, jedoch durch kältere Temperatur verhindert, nicht zur Schwärmsporenbildung fortgeschritten sind. Doch erscheint es mir wahrscheinlicher, dass hier die Bildung eines Ruhezustandes, den man als Aplanospore bezeichnen müsste, und der sich vielleicht in der freien Natur zahlreicher entwickelt, als es in meinen Zimmerculturen der Fall war, vorliegt. In welcher Weise im Frühjahr aus diesen Ruhezuständen der Organismus sich reproducirt, konnte ich zur Zeit noch nicht erforschen. Vermuthlich werden wieder Schwärmsporen gebildet, die möglicher Weise Gameten sind und einen Copulationsact eingehen.

Leider hält sich der Organismus in Zimmercultur nicht besonders gut und ist es schwer denselben zu überwintern. Die Anzahl der Individuen nimmt sehr ab, auch dann, wenn sich keine Infusorien in den Culturen befinden. Viele Individuen sterben aus unbekanntem Ursachen ab und es bleiben schliesslich nur wenige Exemplare des Organismus übrig, an welchen es natürlich schwer ist die erste Schwärmsporenbildung im Frühjahr zu beobachten. Ich konnte daher zur Zeit noch nicht erforschen, ob die Schwärmsporen der ersten Generation Gameten sind oder nicht. Sobald ich Gelegenheit habe mir im zeitigen Frühjahr Material, das vermuthlich noch unter dem Schnee hervorgeholt werden muss, zu verschaffen, werde ich versuchen diese Lücke im Entwicklungsgange von *Dicranochaete reniformis* auszufüllen.

Zum Schluss möge hier noch die Charakteristik der neuen Gattung und Beschreibung der Art <sup>1)</sup> in lateinischer Sprache folgen:

*Dicranochaete* gen. nov.

Thallus unicellularis. Cellulae solitariae cytolasto, chlorophoro corpusculum pyrenoideum unicum vel plura saepeque granula amylacea gerente praeditae, semireniformes vel subsemireniformes vel semiellipsoideae, rarius

<sup>1)</sup> Dieselben sind auch in der von Hauek und Richter herausgegebenen Phycotheca universalis unter No. 346 aufgenommen.

subsemiglobosae et inde 2—4 sinuato-lobatae. Membrana cellulosa hyalina, saepe supra tuberculis minimis coronata, posterius velamento gelatinoso hyalino basi cineta, sinu vel sinubus seta gelatinosa semel atque iterum, ter, quaterve dichotoma, raro simplici exornata. Cellulae vegetativae intumescens omnes in zoosporangia transmutantur. Zoosporae agamicae ciliis 2 vibrantibus, cytoblasto, ocello rubro, polo antico hyalino, chlorophoro unico instructae, contenti divisione succedanea repetita ortae, e. 8—24 in quaque cellula, adhuc strato gelatinoso velatae, rima seu fissura saepe basi subparallela erumpentes, postea strato gelatinoso rupto et liquefacto liberatae, inter se discedentes ciliis vibrantibus paulum motae, denique ciliis evanescentibus requiescentes, in thallum transformantur. Generationes quotannis per tempus vernum usque ad auctumnum complures enascuntur (circiter 25—30).

*D. reniformis* Hieron. Cellulae vegetativae semireniformes vel semiellipsoideae, seta dichotoma unica praeditae. Diam. cell. veg. — 35  $\mu$ . Seta 80—160  $\mu$  longa. Varietas seu forma *pleiotricha*: cellulis vegetativis subsemiglobosis 2—4 lobulato-sinuatis, setis 2—4 simplicibus vel semel dichotomis minoribus exornatis.

Habitat in fontibus, paludibus, locis uliginosis montium Sudetorum, epiphytica, muscis frondosis (Sphagnaceis et Hypnaceis) et hepaticis (Calyptogeia etc.) et lignis foliisque putrescentibus, nec non lapidibus insidens.

## Figurenerklärung.

Die Figur 1 ist 150 Mal linear, Fig. 2 bis 5, 7 bis 21 und 29 und 30 sind 1300 Mal linear vergrössert und wurden mit dem Prisma entworfen. Die Figuren 22 bis 28 sind freihändig gezeichnet in einer linearen Vergrösserung von etwa 2600.

### Taf. XI., XII.

- Fig. 1. Stückchen eines reich mit *Dicranochaete reniformis* besetzten *Sphagnum*-Blattes. Die Borsten sind nicht mitgezeichnet, weil sie bei der schwachen Vergrösserung kaum sichtbar sind.
- Fig. 2. Ein grösseres Individuum von *Dicranochaete* von Oben gesehen.
- Fig. 3. Ein kleineres Individuum mit sehr reich verzweigten Borsten, ebenso.
- Fig. 4. Ein grösseres Individuum mit 4 Borsten (*forma pleiotricha*), ebenso.
- Fig. 5. Individuum, bei welchem die erste (mediane) Theilung des Zellinhaltes stattgefunden hat.
- Fig. 6. Schema der auf einander folgenden ersten 3, zum Zweck der Schwärm-sporenbildung stattfindenden Theilungen.
- Fig. 7. Exemplar, in welchem die Schwärm-sporen bereits gebildet sind, von vorn gesehen.
- Fig. 8. Ein solches von oben gesehen.
- Fig. 9. Aus der Hülle ausgeschlüpfter, in Gallerte eingehüllter, aus 8 Schwärm-sporen gebildeter Zellinhalt eines kleineren Individuum.
- Fig. 10, 11. Schwärm-sporen.
- Fig. 12 u. 12a solche, im Begriff sich festzusetzen und amoeboid zu werden.
- Fig. 13. Amoeboid gewordene Schwärm-spore nach Verlust der Geisseln.
- Fig. 14. Junges Individuum, im Begriff die Borste zu bilden, von oben gesehen.
- Fig. 15. Jüngerer Individuum, mediane Seitenansicht, die Cellulose-Membran ist mit Congoroth gefärbt, bei *n* der Zellkern.
- Fig. 16. Aelteres Individuum, welches bereits eine starke Gallerthülle abgeschieden hat. Die Cellulosehaut mit Congoroth gefärbt, sitzt bereits kappenartig über dem Zellinhalt. Nach Spiritusmaterial entworfen.
- Fig. 17. Optische Durchschnichts-Ansicht eines von der Seite gesehenen borstenlosen Individuums, schematisch dargestellt. Die Cellulosekappe ist mit Congoroth gefärbt, in der Gallertscheide ist Turnbull's Blau eingelagert. Der Zellinhalt ist contrahirt, da die Figur nach Alkoholmaterial entworfen wurde. Bei *n* der mit Haematein-Ammoniak gefärbte Zellkern.

- Fig. 18. Leere Hülle, aus welcher die Schwärmsporen ausgeschlüpft sind. Der mit Congoroth gefärbte Deckel ist aus der geplatzten Gallerthülle an der einen Seite herausgehoben.
- Fig. 19. Safraninfärbung eines borstenlosen Individuums. Die Gallerthülle zeigt radiale Strahlen, welche aus einer, den Farbstoff stark zurückhaltenden Substanz bestehen.
- Fig. 20 u. 21. Zellkernfärbung mit Haematein-Ammoniak an einem kleineren und einem grösseren Individuum, welche vorher mit Alkohol fixirt und dann c. 15 Minuten lang mit 50% Salzsäure zum Zweck der Lösung der Pyrenoide behandelt worden sind. Bei p Hohlräume, in welchen grössere Pyrenoide gelegen hatten.
- Fig. 22—28. Doppelfärbung von Pyrenoiden. Die Hülle ist mit Haematein-Ammoniak, die Krystalloide mit Safranin gefärbt. Fig. 26 enthält zwei getrennte Krystalloide, Fig. 27 zwei solche verwachsen, Fig. 28 drei verwachsene.
- Fig. 29. Zellkerne von verschiedener Form, a. kugeliger Zellkern aus einer jüngeren Zelle, b. bisquitförmige Form, vermuthlich Theilungsstadium aus einer älteren Zelle, c. und d. flach linsenförmige, buchtig gelappte Zellkerne aus älteren Zellen.
- Fig. 30. Wahrscheinlicher Winter-Ruhezustand. (Aplanospore.)
-



Fig. 1.



Fig. 2.



Fig. 3.



Fig. 4.

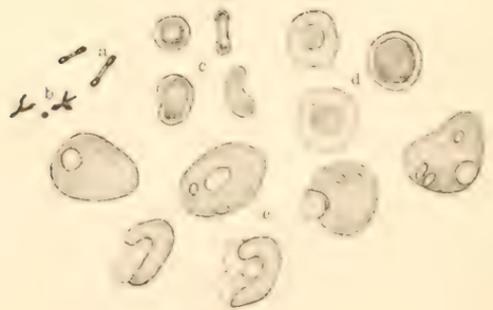
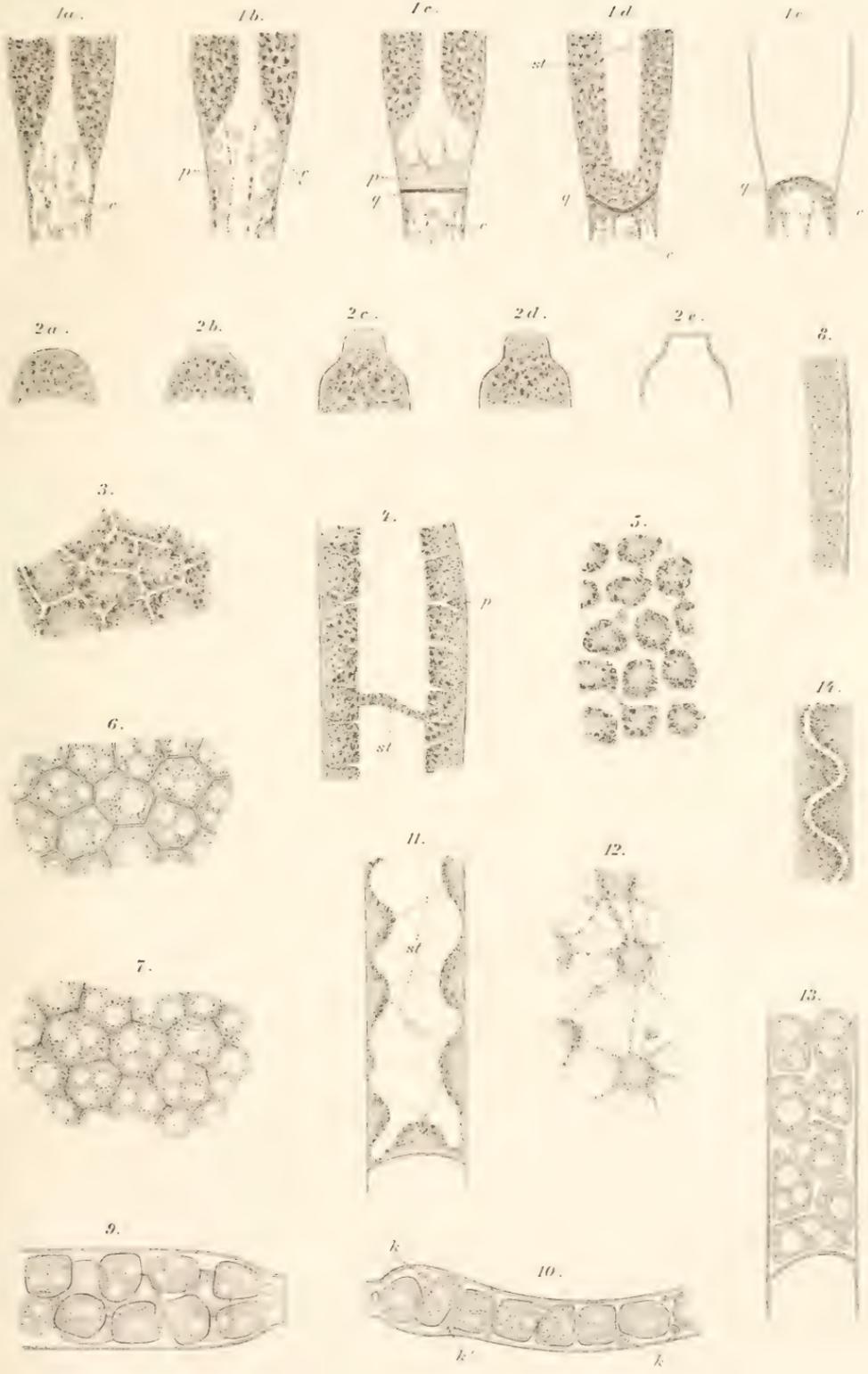
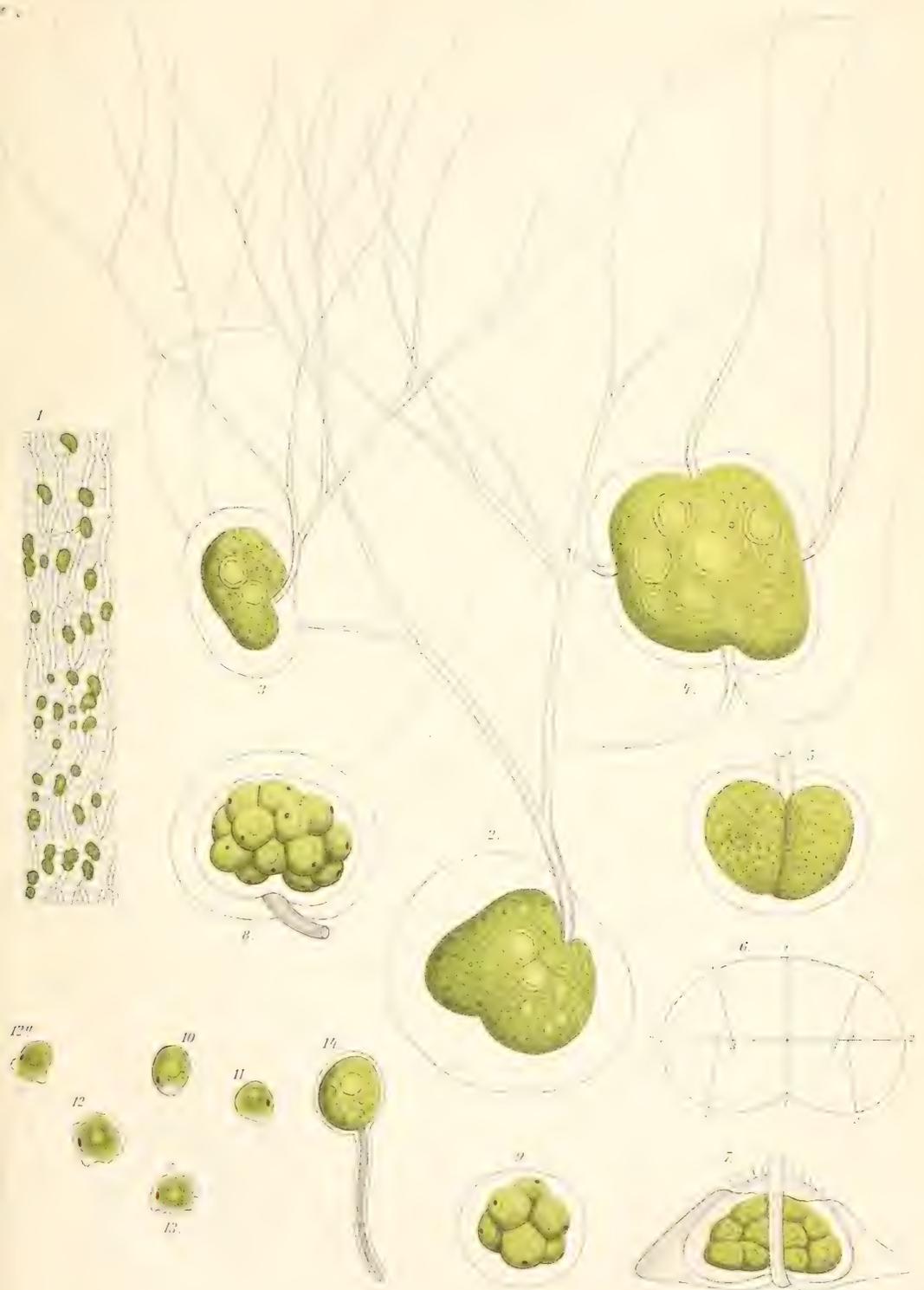


Fig. 5.

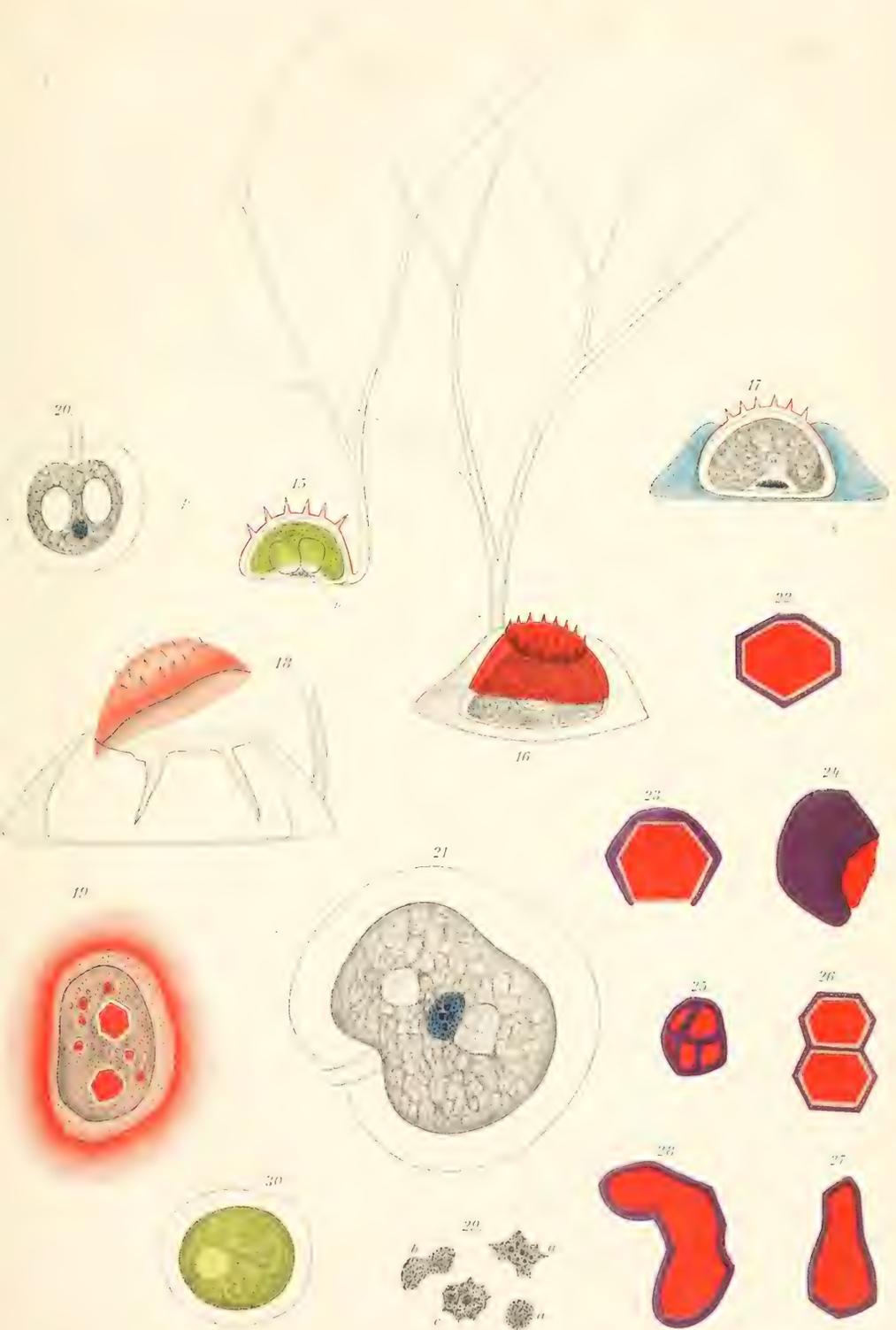














# Beiträge

zur

# Biologie der Pflanzen.

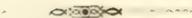
Herausgegeben

von

Dr. Ferdinand Cohn.

Fünfter Band. Drittes Heft.

Mit sechs Tafeln.



Breslau 1892.

J. U. Kern's Verlag  
(Max Müller).



## Inhalt des dritten Heftes.

	Seite.
Die Nutation der Blütenstiele der Papaver-Arten und der Sprossenden von <i>Ampelopsis quinquefolia</i> Michx. Von Dr. Max Scholtz. (Mit Tafel XIII und XIV.) . . . . .	373
Ueber den radialen Saftstrom in den Wurzeln. Von Dr. Paul Siedler. (Mit Tafel XV.) . . . . .	407
Beiträge zur Kenntniss der Pflanzenzellen. I. Ueber tinctionelle Differenzen verschiedener Kernbestandtheile und der Sexualkerne. Von F. Rosen. (Mit Tafel XVI.) . . . . .	443
Beiträge zur Morphologie und Biologie der Algen. I. <i>Glaucoecystis Nostochinearum</i> Itzigsohn. II. Die Organisation der Phycochromaceenzellen. Von G. Hieronymus. (Mit Tafel XVII und XVIII.) . . .	461



# Die Nutation der Blütenstiele der Papaver-Arten und der Sprossenden von *Ampelopsis quinquefolia* Michx.

Von  
**Dr. Max Scholtz.**  
Mit Tafel XIII. und XIV.

## I.

### Die Nutation des Blütenstiels bei *Papaver*.

Wiederholt ist die Richtung der Blütenstiele der *Papaver*-Arten Gegenstand der Untersuchung gewesen.

Frank arbeitete mit *Papaver dubium* und *P. pilosum* (1868)<sup>1)</sup>. Ein im Topf eingewurzelttes Exemplar von *P. dubium* wurde in aufrechter Stellung 48 Stunden im Dunkeln gehalten. Während dieser Zeit hatte sich ein junger Blütenstiel halbkreisförmig nach unten gekrümmt. Hierauf wurde die Pflanze umgekehrt, so dass die Concavität der Krümmung des Stieles nach oben gerichtet war. Nach 18 Stunden hatte sich der Krümmungsbogen soweit geöffnet, dass das vorher senkrecht nach Oben gerichtete Ende des Blütenstieles mit der Knospe horizontal stand. Ebenso verhielten sich abgeschnittene in Wasser stehende Pflanzen von *Papaver pilosum*, welche im dunklen Raume in verkehrter Richtung aufgestellt waren. Aus diesen Versuchen und aus der Erwägung, dass Gewebespannungen die Ursache der Krümmung nicht sein können, da dieselben während der gesammten Dauer der Umkrümmung in genau dem gleichen Sinne vorhanden sind, wie im gerade gestreckten Blütenstiele, schliesst Frank, dass der abwärts gekrümmte Theil der Blütenstiele von *Papaver* positiv geotrop sei. Einen Versuch, welcher entscheiden konnte, ob die Ausgleichung der Krümmung bei verkehrt aufgestellten Pflanzen durch das nach unten ziehende Gewicht der Knospe bewirkt wird, stellte Frank nicht an.

De Vries wiederholte diese Versuche mit demselben Erfolg (1872)<sup>2)</sup>.

1) B. Frank, Beiträge zur Pflanzenphysiologie, Leipzig 1868 pag. 49 V. und pag. 87.

2) de Vries, Ueber einige Ursachen der Richtung bilateralsymmetrischer Pflanzentheile. Arbeiten d. Bot. Inst. Würzburg Bd. I. (1874) pag. 229.

Als Kontrolversuch aber wurde bei im übrigen gleicher Versuchsanordnung das Verhalten von Exemplaren beobachtet, deren Blütenknospen entfernt worden waren. Solche decapitirte Blütenstiele in normaler Stellung gehalten streckten ihr abwärts gekrümmtes Ende senkrecht nach oben (die Krümmung wurde völlig ausgeglichen), während bei den in verkehrter Richtung befestigten Exemplaren sich das Ende des Stengeis genau senkrecht aufwärts stellte, wodurch die Krümmung bisweilen noch schärfer wurde. Ausserdem entfernte de Vries von überhängenden Blütenstielen von *Papaver pilosum* und *dubium* die Endknospen sammt dem nächsten geraden Theile des Stieles, und steckte darauf den ganzen untern geraden Theil desselben in eine enge Glasröhre, so dass nur der gekrümmte Theil frei blieb. Die so vorbereiteten Stiele wurden im dunklen feuchten Raume so befestigt, dass die Krümmungsebene derselben horizontal lag. Bei allen Versuchsobjecten hatte sich im Verlauf mehrerer Stunden der gekrümmte Theil senkrecht aufwärts gerichtet.

Durch diese Ergebnisse ist für de Vries bewiesen, dass die herabgebogenen Enden der Blütenstiele negativ geotrop sind; „und dass also die Abwärtskrümmung Folge des Gewichtes der Blütenknospe ist“, nicht, wie Frank behauptet, durch positiven Geotropismus verursacht werde. Der nothwendige entscheidende Versuch über das Verhalten decapitirter Blütenstengel, welche an ihrem Ende mit einem dem der weggesechnittenen Knospe gleichen Gewichte beschwert waren, wurde nicht angestellt.

Sachs<sup>1)</sup> vertritt die gleiche Auffassung wie de Vries bezüglich der Abwärtskrümmung von Blütenstielen. Das Streben der Stiele, sich aufwärts zu krümmen, kann deshalb nicht in die Erscheinung treten, weil die Last der Blüthe hinreicht, den Stiel abwärts zu biegen.

Am ausführlichsten wurden Richtung und Bewegung der Blütenstiele von *Papaver* (*P. Rhoeas*, *Lecocqii*, *dubium*, *somniferum*, *orientale*, *umbrosum*, *bracteatum*, *argemonoides*) von Vöchting untersucht (1882)<sup>2)</sup>.

Er wies nach, dass es nicht das Gewicht der Knospe sei, welches die Abwärtskrümmung des tragenden Stieles verursache.

Keht man knospentragende Sprosse um und schneidet die Knospen ab, so wird die Krümmung nicht ausgeglichen, sie bleibt um so genauer in ihrer ursprünglichen Form erhalten, je jünger die Knospe ist (l. c. p. 96). Dieser Umkehrungsversuch allein beweist nicht, dass das Gewicht der Knospe nicht die Krümmung des Blütenstieles verursacht. Die Möglichkeit ist nicht ausgeschlossen, dass die Krümmung durch das Gewicht der Knospe verursacht und darauf durch Wachstum fixirt wird, so dass ein Entfernen der Knospe zu der Zeit, zu welcher die Krümmung durch dieses nachträgliche Wachstum bereits unveränderlich geworden ist, keinen Einfluss mehr auf dieselbe aus-

<sup>1)</sup> Sachs, Lehrbuch der Bot., 4. Aufl. Leipzig 1874 p. 815, 816.

<sup>2)</sup> H. Vöchting, Die Bewegungen der Blüten und Früchte. Bonn (1882) pag. 92 ff.

üben kann. Werden Exemplare mit gekrümmten Stielen am Klinostaten befestigt und um horizontale Axe im Dunkeln in Rotation versetzt, so strecken sich die Stiele gerade, indem sie dabei dem Gewicht der Knospe in allen Lagen um ein Geringes nachgeben (l. c. p. 100); der Stiel mit der Knospe wird nicht schlaff hin und herbewegt, und hängt nicht je nach seiner Stellung in der Rotationsebene nach verschiedenen Seiten herab. Dies aber müsste der Fall sein, wenn das Gewicht der Knospe den oberen Theil des Blütenstiemes mechanisch herabkrümmte. Es ist, wie Vöchting hervorhebt, bei diesem Versuche nicht ausgeschlossen, dass die Stiele in Folge der Rotation ihre plastische, biegsame Beschaffenheit verlieren und ihre Gewebe festigen, in Folge dessen sie dann in gerader Richtung (rectipetal) fortwachsen, nachdem die ursprüngliche Krümmung durch verstärktes Wachstum der concaven Seite ausgeglichen wurde. Schliesslich wird die Frage nach der Beziehung zwischen dem Gewichte der Knospe und der Abwärtskrümmung der Stiele durch ein anderes Experiment klar entschieden. Schneidet man an abwärts gekrümmten Stielen die Knospen ab und befestigt sie wieder an dem decapitirten Stengel mit feinem Faden, so richtet sich das herabhängende Ende in 12 bis 48 Stunden vertikal nach oben. Als die Last, welche ein solcher sich aufrichtender decapitirter Stiel noch zu heben vermag, wird von Vöchting das Gewicht von drei Blütenknospen angegeben (ib. pag. 103). Durch diese Versuchsanordnung ist bewiesen, dass nicht das Gewicht der Knospe den oberen Theil des Stengels abwärts zieht.

Weiterhin wird nachgewiesen, dass die Abwärtskrümmung eine Erscheinung von positivem Geotropismus ist.

An einer im Topf gezogenen Pflanze wurde um eine Knospe, welche sich eben abwärts zu neigen anfing, ein Coconfaden geschlungen, dieser über eine sehr leicht bewegliche in einer Klammer befestigte hölzerne Rolle geführt und an seinem freien Ende mit einem Gewicht (0,15 g?) beschwert. Der Stiel mit der Knospe krümmte sich trotz der Belastung abwärts (l. c. p. 100). Wiederholt wurde dieser Belastungsversuch an *P. somniferum* und *P. Rhoeas* von M. Fünfstück<sup>1)</sup>. Es ergab sich, dass bei der Abwärtsbewegung des Stiemes sich eben unkrümmender Knospen eine Kraft thätig ist, die durchschnittlich das doppelte Gewicht der Knospe fortbewegen kann.

Dieser Versuch für sich allein entscheidet nicht, dass die Krümmung auf positivem Geotropismus beruht; sie könnte unter denselben Verhältnissen auch dann eintreten, wenn es sich um eine spontane Nutation handelte. Beweisend dagegen ist die Geradestreckung der Stengel am Klinostaten, nachdem durch das Verhalten der decapitirten und an ihrem Ende mit Knospen belasteten Stiele nachgewiesen war, dass das Gewicht der Knospe die Krümmung nicht verursacht.

Endlich zeigte Vöchting, dass nur diejenigen Stengel ihren oberen

<sup>1)</sup> M. Fünfstück, Zur Frage nach der aktiven Krümmung der Knospenstiele der *Papaveraceen*. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. Bd. I. 1883 p. 429.

Theil positiv geotrop abwärts krümmen, welche einen sich entwickelnden Fruchtknoten an ihrer Spitze tragen, und dass es nur der Fruchtknoten, kein anderer Blüthentheil ist, durch welchen im Blüthenstiel diejenigen Vorgänge ausgelöst werden, welche ihn positiv geotrop machen. Wird nämlich in abwärts gerichteten Knospen der Fruchtknoten zerstört, während die übrigen Blüthentheile unversehrt bleiben, so richtet sich der Stengel in kurzer Zeit vertikal aufrecht, genau so, als wenn die ganze Knospe abgeschnitten worden wäre. Bleibt dagegen das Gynoeceum erhalten, und wird nur der eine oder andere oder alle andern Kreise der Blüthe entfernt, so verhält sich der Stengel in seinem Krümmungsverlaufe wie ein solcher, welcher eine vollständige gesunde Knospe trägt. Er streckt sich erst unmittelbar vor der Empfängnisfähigkeit der Narben senkrecht nach oben.

Diesen Untersuchungen entgegen rechnet Wiesner (1880, 1890)<sup>1)</sup> die nickenden Blütenknospen des Mohnes zu den geocentrisch gekrümmten Pflanzentheilen. Der weiche spannungslose Stengel wird durch das Gewicht der Knospe herabgekrümmt (Lastkrümmung); hierdurch wächst die convexe Seite des Stengels unter Zug, die concave Seite unter Druck. Die Dehnung wirkt fördernd, der Druck hemmend auf das Wachstum ein. Das Resultat dieses Zug-Druckwachstums ist die Fixirung der Krümmung derart, dass dieselbe auch erhalten bleibt, wenn die Pflanze umgekehrt wird.

Meine eigenen Untersuchungen über die Krümmung des Knospenstieles bei *Papaver* wurden im Anschluss an Untersuchungen über Wachsthumscorrelationen ausgeführt; sie erstrecken sich auf die Arten *Papaver dubium*, *Rhoeas*, *somniferum*, *Argemone*, *hybridum* L., *P. Hookeri* Baker. Sämmtliche Versuche, mit Ausnahme derjenigen am Klimostaten, wurden mit kräftigen im botanischen Garten zu Karlsruhe im freien Lande angestellt.

Die jungen Knospenstengel wachsen Anfangs in der Richtung ihrer Anlage rectipetal<sup>2)</sup> weiter, bis sie eine Länge von 0.5 bis 2 cm erreicht haben. Hierauf beginnen sie sich abwärts zu krümmen. Diese Abwärtskrümmung erfolgt in verschiedener Weise; entweder sehr scharf und deutlich von dem basalen gerade bleibenden Theile des Stieles abgesetzt, oder sie vollzieht sich im flachen nach unten geöffneten Bogen, wobei der ganze Stengel eine leichte Krümmung erfährt. Die Längsachse der Knospe selbst fällt in der Regel mit derjenigen des abwärts geneigten Theiles des Stieles zusammen. Nicht selten aber ist die Knospe in Bezug auf das Ende des Stieles ein Wenig aufwärts gerichtet. Diese Richtungsabweichung der Knospe erklärt sich aus einem Zurückbleiben derselben in ihrer vormaligen rectipetalen Stellung, während der Stiel schon nach unten gewendet ist. Bald aber wird auch hier die Knospe abwärts geführt und in die Verlängerung der Achse

<sup>1)</sup> Wiesner, Die heliotropischen Erscheinungen im Pflanzenreiche. II. Theil. Denkschriften d. K. Academie d. Wissensch. Wien. Bd. 43 (1882) pag. 63; u. Anatomie und Physiologie der Pflanzen. Wien. (1890) pag. 293.

<sup>2)</sup> Vöchting, l. c. pag. 31.

des Stielendes gestellt. Dieses Ende richtet sich nun vertikal nach unten, während der basale Theil sich senkrecht nach oben stellt. Die gekrümmte Zone des Stengels hat meist die Gestalt eines Halbkreises. Nicht selten aber ist die Krümmung flacher und stellt ein kleineres Bogenstück einer kreisähnlichen Curve vor. Man kann denjenigen Theil der Krümmung, welcher von ihrem Culminationspunkte nach der Basis des Stengels zu liegt, zweckmässig als den aufsteigenden Ast, und den Theil, welcher nach der Knospe zu liegt, als den absteigenden Ast der Krümmung bezeichnen, und in Uebereinstimmung hiermit die sich an diese Krümmungstheile anschliessenden Stücke des Stengels als den aufsteigenden und den absteigenden Theil desselben. Ist der Knospensengel das Ende eines Hauptsprosses, so erfolgt die Abwärtskrümmung nicht in einer bestimmten Orientirung zum übrigen Aufbau der Pflanze. Seitensprosse dagegen krümmen sich in der Weise, dass die Knospen nach aussen an den Umfang des Sprosssystems zu hängen kommen. (Fig. 1).

Der Stengel selbst ist meist starr und biegungsfest, die Bezeichnungen schlaff oder weich passen zur Beschreibung desselben nicht. Auch ist derselbe nicht, wie Wiesner angiebt, spannungslos, sondern man kann fast immer deutlich ausgeprägte Spannungsverhältnisse nachweisen. Dieselben hat Frank<sup>1)</sup> näher bei *Papaver dubium* untersucht. Wird ein noch nicht gekrümmter Knospensiel der Länge nach gespalten, so spreizen die Theile auseinander. Zieht man aus Rinde und Gefässbündel bestehende Streifen von einem solchen jungen Stengel ab, so werden sie kürzer als der isolirte Markcylinder und nehmen dabei bisweilen eine schwache, an der Epidermisseite concave Krümmung an. Bei abwärts gebogenen Stielen weisen freipräparirte Rinden-Gefässbündelstreifen der convexen Oberseite, sowie der concaven Unterseite der Krümmung ebenfalls Spannungsverhältnisse in Bezug auf das Mark auf. Die entstehende Längendifferenz zwischen den Schichten der Oberseite und dem Marke ist deutlich kleiner als diejenige zwischen dem Gewebe der Unterseite und dem Markeylinder. Es herrscht also an der convexen oberen Seite eine geringere Spannung als an der concaven unteren. Alle diese Spannungsverhältnisse werden auch hier deutlicher, wenn man die präparirten Gewebestreifen in Wasser einlegt.

Diese von Frank angegebenen Gewebespannungen konnte ich für die von mir untersuchten Arten völlig bestätigen. An noch nicht gekrümmten jungen Knospensengeln werden frei präparirte Stücke der Rinde kürzer, das dazu gehörige Mark länger als sie im unverletzten Stengel sind. Die Rinden-Gefässbündelschicht ist negativ, das Mark positiv gespannt.

1) l. c. pag. 57 ff.

Es betrug bei:

I. *Papaver dubium*.

Länge des unverletzten noch nicht gekrümmten Knospenstieles.	Länge des isolirten Markes 1).	Länge des dazugehörigen Rinde-Gefässbündelstreifens 1).
1	1.1	1 cm
bei Frank sind die entsprechenden Zahlen (l. c. pag. 58):		
0.62	0.62	0.60
1.46	1.46	1.40

Die Verlängerung des isolirten Markes tritt fast ausnahmslos ein, dabei krümmt sich dasselbe bisweilen schwach bogenförmig; häufig dagegen unterbleibt die Verkürzung der frei präparirten Rindenstreifen.

II. *Papaver somniferum*<sup>2)</sup>.

Länge des mit halbkreisförmiger Krümmung nach unten gebogenen unverletzten Blütenstieles von dem Ansatz der Knospe bis zur Insertion des obersten Blattes.	Länge des aus Rinde und Gefässbündeln bestehenden Streifens der Oberseite.	Länge des Markes.	Länge des aus Rinde und Gefässbündeln bestehenden Streifens der Innenseite.	Länge der Streifen von den Flanken des Stengels.
6.2	6.5	6.7	6	6.2 cm.
(Nach halbstündigem Liegen im Wasser:				
	6.2	7.6	6	6.3 cm.)

Wie die Zahlen ergeben, ist die Rinde der Oberseite sowie das Mark positiv, die Rinde der Innenseite negativ gespannt. Die Rinde an den Flanken des Stengels ist nicht gespannt. Entfernt man die Rinde an der Innenseite des gekrümmten Stengels, so richtet sich das abwärts geneigte Stück über die Horizontale hinaus auf (Fig. 6,3). Nimmt man an der Oberseite die Rinde weg, so wird die Krümmung schärfer, das abwärts geneigte Ende bewegt sich dem aufsteigenden Stengeltheile entgegen (Fig. 6,2). Der frei präparirte Markeylinder bleibt gekrümmt, der Krümmungsbogen aber wird weiter, der Krümmungsradius vergrößert sich (Fig. 6,4). Die von den Flanken abgetragenen Gewebestreifen behalten genau die Form des unverletzten Stengels bei (Fig. 6,1).

Die Figur 8 giebt den Verlauf des Wachstums eines Blütenstieles von *Papaver somniferum* wieder. Die Lage wurde immer nach 24 Stunden gezeichnet. Man erhält diese Wachstumbilder leicht, wenn man ein Stück starkes Papier hinter den Stengel legt, denselben schwach

1) Mittelwerthe aus 5 Messungen an ursprünglich gleich langen Stielen.

2) Längs der Krümmung des Blütenstieles, bezw. der Gewebestreifen desselben wurde ein Seidenfaden angelegt und die Länge desselben gemessen.

an dasselbe andrückt und seine Richtung durch eine Reihe von Punkten auf dem Papiere bestimmt. Die Verbindung der Punkte durch eine Linie giebt dann das gewünschte Bild. Bringt man Tuschmarken am Stengel an und beobachtet das Auseinanderrücken derselben während des Wachstums, so ergibt sich, dass dasselbe eine zeitlang auf dem ganzen Stengel gleichmässig vertheilt ist, und dass sich ein schwaches Wachstumsmaximum am Scheitelpunkte der Krümmung ausbildet, sobald der Stengel die Nutation vollzieht; während gleichzeitig der untere Theil desselben stärker wächst als sein oberes Ende. Wenn der Knospentheil ungefähr seine halbe Länge erreicht hat, rückt das intensivste Längenwachsthum in den oberen Theil desselben und erreicht meist unmittelbar unterhalb der Krümmung am aufsteigenden Stengeltheile ein starkes Maximum. Bisweilen aber liegt das stärkste Wachsthum am absteigenden Stengel, und dieser wächst dann dem aufsteigenden Theile bedeutend voraus, bis durch energische Verlängerung dieses letzteren das allgemeine Wachsthumsbild, wie es in den Figuren 1, 2, 8 dargestellt ist, erreicht wird. In Fig. 8 ist einer der mit Tuschmarken versehenen Blütenstiele gezeichnet. Gemessen wurde immer nach 24 Stunden. Die in den Verlauf der Kurven eingetragenen Zahlen geben die aus fünf Ablesungen bestimmten Mitteltemperaturen für die einzelnen Tage an.

Der jedesmal höchste Punkt der Krümmung selbst wandert bei *Papaver somniferum* in 24 Stunden durchschnittlich 2.5 cm weiter nach oben. Dieses Vorrücken der Krümmung erfolgt in der Weise, dass zwar die ganze Krümmungszone wächst, aber gleichzeitig die concave Innenseite des aufsteigenden Astes der Krümmung stärker verlängert wird als die zugehörige convexe Oberseite; während umgekehrt am absteigenden Aste die Oberseite länger wird als die Innenseite. In Salzlösungen gelegt, welche Turgorspannungen aufzuheben vermögen (10% wässrige Lösung von Kalisalpeter), bleiben die Krümmungen unverändert. Wendet man die von de Vries eingeführten Bezeichnungen an, so kann man sagen, dass der aufsteigende Ast hyponastisch, der absteigende Ast epinastisch wächst<sup>1)</sup>. Da also die Krümmung auf ungleichem Längenwachsthum verschiedener Seiten des Stengels beruht, so ist sie als Nutation in der von Sachs diesem Worte gegebenen Bedeutung zu bezeichnen<sup>2)</sup>.

Während des Vorrückens der Krümmung verändert dieselbe häufig ihre Gestalt; bald wird sie schärfer zusammengezogen, bald öffnet sie sich zu einem flacheren Bogen. Die Knospe selbst bleibt dabei meist in ihrer vertikal abwärts gerichteten Lage, häufig aber wird sie auch dem aufsteigen-

<sup>1)</sup> l. c. pag. 252, 257. C. Kraus erklärt die epinastischen Krümmungen als Folgen der Belastung und ihrer Nachwirkung; sodass seine Ansicht über die Blütenstiele bei *Papaver* mit derjenigen von Wiesner übereinstimmt. (Ursachen der Richtung wachsender Laubsprosse, Flora 1878 p. 366).

<sup>2)</sup> Sachs, Lehrbuch 4. Aufl. pag. 827.

den Theile des Stengels schräg entgegengeführt (Fig. 2). Dagegen konnte ich nur bei *Papaver Rhoeas*, und auch hier nur selten, beobachten, dass diese Einkrümmung des absteigenden Stengeltheiles so energisch erfolgt, dass der vordere Theil des Stengels eine Schlinge bildet. (Vgl. Fig. 4). Bei *Papaver argemonoides* dagegen ist nach Vöchting eine derartige durch Epinastie des absteigenden Theiles des Stengels verursachte Schlingenbildung häufig; ebenso eine in der entgegengesetzten Weise durch Hyponastie dieses Stengelstückes entstehende völlige Umkrümmung<sup>1)</sup>. Eine Andeutung eines solchen hyponastischen Wachstums ist gelegentlich auch bei *P. Rhoeas* und *hybridum* zu beobachten. Es finden sich hier vereinzelt Knospensengel, welche an ihrem oberen Ende stufenförmig gewachsen sind. An der innern Ecke der Stufe fand hyponastisches Wachstum statt, dasselbe wurde aber bald durch Epinastie der entgegengesetzten Seite überholt (Fig. 3).

Kurze Zeit vor dem Aufblühen der Knospe richtet sich der abwärts geneigte Theil des Stengels senkrecht auf. Diese Aufrichtung erfolgt von der Stelle aus, an welcher zu dieser Zeit gerade die Krümmung liegt. Die Innenseite derselben wächst stärker als die Aussenseite, dadurch wird das die Knospe tragende Ende zunächst in horizontale, endlich in aufrechte Stellung gebracht. Ist der Stengel aufgerichtet, so wächst er an seinem oberen Ende noch ein Stück in die Länge. Dieses Wachstum betrug bei Stengeln nach je 24 Stunden

3, 1.2, 0.3 bez.

3.6, 2.2, 0.5, 0.1 cm.

Die im Vorhergehenden beschriebenen Richtungsverhältnisse des Stengels werden in erster Linie durch seine geotropen Eigenschaften bedingt.

Junge noch nicht gekrümmte Knospensengel besitzen noch keine geotrope Reizbarkeit; sie wachsen in der Richtung ihrer Anlage weiter. Bringt man einen Spross mit jungen Knospen in horizontale oder abwärts geneigte Lage, so wird an der Wachstumsrichtung der jungen Stiele nichts geändert, während die älteren Theile energische Krümmungen machen.

Nach dem Eintreten der Nutation ist, wie man an Exemplaren im Freien leicht beobachten kann, der aufsteigende Theil des Stengels energisch negativ geotrop. Wird dieser Theil aus der vertikalen Richtung in schräge oder horizontale Lage gebracht, so richtet er sich bei günstigen Wachstumsbedingungen in wenigen Stunden wieder auf. Das am stärksten negativ geotrope Stück des Stengels liegt unmittelbar unterhalb der Krümmung. Es erreicht bei *P. Rhoeas*, *dubium*, *Argemone* durchschnittlich eine Länge von 7—9 cm; nicht selten aber erstreckt es sich über eine Ausdehnung von 15 bis 20 cm. Nach unten geht es schnell in den erstarrten, nicht mehr wachsenden und nicht mehr geotrop reizbaren Theil des Stengels über. Ist die Knospe zur Entfaltung aufgerichtet, also der ganze Stengel gestreckt, so ist meist nur noch ein kleiner 1.5 bis 4 cm langer Theil desselben unmittelbar

<sup>1)</sup> l. c. pag. 95.

unterhalb der Knospe negativ geotrop. Der übrige Stengel hat seinen Geotropismus verloren, er verbleibt in jeder beliebigen Lage, die man ihm erteilt.

Es ist nun der Geotropismus des nutirenden Stengelendes zu bestimmen.

Auf diesen Theil des Stengels wirkt die Schwerkraft in doppelter Weise ein. Erstens durch das Gewicht der Knospe und dann als geotrop richtende Kraft. Soll der Einfluss jeder dieser beiden Componenten für sich allein bestimmt werden, so muss ihr Zusammenwirken aufgehoben werden. Dies ist leicht zu erreichen, wenn man die Knospe an ihrer Insertionsstelle abschneidet. Die Folgen davon sind, je nach der Richtung des Knospensstengels im Augenblicke der Decapitation, verschiedene. War der Stiel noch nicht abwärts gekrümmt, so wächst er fernerhin negativ geotrop; er krümmt sich während seines gesammten Wachstumsverlaufes nicht nach unten. Werden an nutirenden Stengeln die Knospen entfernt, so richtet sich das überhängende Ende negativ geotrop auf. Diese Geradestreckung erfolgt bei warmer Sommertemperatur meist innerhalb von 12 Stunden. Unmittelbar nach dem Wegschneiden der Knospe bewegt sich bei biegsameren Stengeln das nutirende Ende ein wenig nach aussen und oben. Als Maximum dieser Entfernung vom aufsteigenden Theile des Knospensstieles wurden bei *P. Rhoeus* 3 mm beobachtet. Die bei weitem festeren Stengelstücke des *P. somniferum* bewegten sich nur 1.5 bis 1.7 mm nach aussen. Starre und spröde Stengel führen eine derartige Wegbiegung überhaupt nicht aus. Die Schnittwunde am Ende des Stieles wird sofort durch ausgeschiedenen Milchsafte geschlossen und verheilt bald. Die Stengel wachsen in die Länge, aber beenden ihr Wachstum früher, als die knospentragenden Sprosse. Dass nicht die durch den Schnitt bedingte Verletzung die Ursache der Geradestreckung des Stieles ist, geht daraus hervor, dass man in der Krümmungszone und den benachbarten Stengeltheilen nutirender Blütenstiele Längs- und Quereinschnitte anbringen kann, ohne dass eine Geradestreckung des Stieles erfolgte, solange die Knospen unversehrt bleiben. (vergl. auch pag. 384). Zu diesem Decapitirungsversuch gehört ein nothwendiger Controlversuch, wenn die Frage nach der Wirkung des Knospengewichtes entschieden werden soll.

Es darf nicht vergessen werden, dass mit der Knospe von dem Ende des Stengels nicht nur ein Gewicht, sondern gleichzeitig ein sich entwickelndes Organ entfernt wird. Es ist daher zu untersuchen, wie sich der Stengel verhält, wenn die Knospe zwar entfernt, an ihre Stelle aber ein gleich grosses Gewicht gesetzt wird, und es ist zu bestimmen, ob eine Wachstumsrelation zwischen dem Stengel und der Knospe besteht. Schneidet man die Knospe ab, und befestigt statt derselben mittels eines feinen Fadens ein Steinchen von gleich grossem Gewicht am Ende des Stengels, so richtet sich derselbe ebenso auf, als wenn er völlig frei wäre<sup>1)</sup>. Er vermag bei seiner Geradestreckung eine weit grössere Last zu heben, als das Gewicht

1) Vergl. Vöchting l. c. pag. 103.

der Knospe beträgt. Die Knospen wogen bei den Versuchen mit kräftigen Sprossen von *P. hybridum* 0.67 g (Mittelwerth von 8 Wägungen). Das Gewicht, welches von decapitirten Stengeln gehoben wurde, ohne dass sich die Aufwärtskrümmung verzögerte, konnte bis auf 2.10 g gesteigert werden. Bei weniger kräftigen Sprossen betrug dieses Gewicht nur 1.24 g. Wendet man bei diesen Versuchen ein Gewicht an, welches nahe an der Grenze der genannten Zahlen liegt, oder dieselben um ein Geringes überschreitet, so wird der Stengel an einer Stelle, die vor dem Anfang der Krümmung nach seiner Basis zu liegt, rechtwinkelig umgebogen. Der längere oder kürzere auf diese Weise horizontal gestellte Theil dieses Stengels wird dabei nicht selten nach oben concav eingekrümmt. (Lastkrümmung.) Je weiter die Erstarkung des Stengels von der Basis nach der Spitze zu vorgeschritten ist, um so kürzer ist das Stengelstück, welches sich horizontal stellt (Fig. 5).

Dieses ganze umgebogene Stück befindet sich im labilen Gleichgewicht. Es genügt ein geringer Stoss um es in weite pendelförmige Schwingungen zu versetzen; der untere aufsteigende Theil des Stengels bleibt dabei unbewegt. Häufig kehrt das angestossene Ende nicht in seine alte Lage zurück, sondern es bleibt in einer anderen Ruhelage stehen. Stösst man dagegen die Knospe eines normal nutirenden Stengels an, welcher nicht mit einem Gewichte beschwert ist, so schwingt die durch aufsteigenden und absteigenden Stengel bestimmte Ebene (Nutationsebene) in ihrer ganzen Ausdehnung. Das abwärtsgebogene Ende mit der Knospe bewegt sich dabei nicht aus dieser Schwingungsebene heraus. Die schliesslich entstehende Ruhelage fällt mit der ursprünglichen Stellung zusammen.

Hängt man an das Ende eines decapitirten Stengels ein Gewicht von solcher Grösse an, dass derselbe in seinem ganzen Verlaufe von der Basis an horizontal oder schräg nach unten gezogen wird, so wächst das Ende desselben dennoch negativ geotrop nach oben. Die Aufrichtung erfolgt aber langsamer als bei der Hebung eines kleineren Gewichtes. Kann das Gewicht nicht mehr gehoben werden, so krümmt sich das Stengelende um dasselbe herum und stellt sich senkrecht nach oben.

Bei Anwendung eines grösseren Gewichtes (1,5—2 g) beobachtet man nicht selten, dass das Ende des Stengels während des Wachstums in längerem oder kürzerem Bogen in horizontaler Ebene hin und her nutirt. Diese Bewegungen werden dadurch verursacht, dass während des Wachstums durch Druck und Zug Gewebespannungen entstehen, welche wie ein äusserer Stoss wirken und das leicht bewegliche Stengelende aus der jedesmaligen Lage wegbewegen.

Ebenso wie der sich aufrichtende Stengel im Stande ist, ein beträchtliches Gewicht mit zu heben, so überwindet der sich herabkrümmende junge Knospenstiel durch in entgegengesetzter Richtung wirkenden Zug von nicht unbedeutender Grösse. Junge sich eben abwärtsneigende Knospenstiele von *P. dubium* krümmten sich in normaler Weise, wenn sie ein über eine

Rolle laufendes Gewicht von 2 g zu heben hatten. Ein grösseres Gewicht kam nicht zur Verwendung, weil eine stärkere durch ein angehängtes Gewicht verursachte Dehnung an einem wachsenden Pflanzentheil selbst eine Krümmung auszulösen im Stande ist<sup>1)</sup>.

Aus diesen Versuchen folgt, dass es nicht das Gewicht der Knospe ist, welches das Ende des Stengels herabkrümmt.

Es ist nun zu bestimmen, ob die Nutation in Correlation steht mit Entwicklungsvorgängen in der Knospe. Wie Vöechting gezeigt hat, hängt die Krümmung ab von dem sich entwickelnden Fruchtknoten<sup>2)</sup>. Entfernt man an nutirenden Stengeln von der Knospe den Kelch, oder die Blumenblätter, oder die Staubfäden, oder zwei dieser Blütenkreise, oder alle drei gleichzeitig und lässt den Fruchtknoten unversehrt, so verhält sich ein solcher Stengel genau so, als wenn er eine vollständige Knospe trüge: er bleibt zunächst gekrümmt; die Nutation schreitet nach oben weiter und wird schliesslich ausgeglichen, indem sich der herabhängende Stengeltheil mit dem Gynoceum wie eine sich entfaltende Blüthe aufrichtet. Schneidet man dagegen den Fruchtknoten aus der hängenden Knospe heraus und lässt die übrigen Blüthentheile unversehrt, so verhält sich der Stengel so, als wenn die ganze Knospe abgeschnitten worden wäre; er streckt sich je nach den äusseren Wachstumsbedingungen in 12 bis 48 Stunden gerade. Dasselbe Resultat tritt ein, wenn man nach Abtragung der Narbenfläche nur die Ovula aus dem Fruchtknoten herauskratzt, seine Wand aber stehen lässt; eine Präparation, die bei einiger Vorsicht und Uebung leicht auszuführen ist. Nimmt man diese Operationen an jungen, noch nicht nutirenden Knospenstielen vor, so wachsen diejenigen, bei denen der Fruchtknoten weggeschnitten wurde, weiter ohne dass eine Krümmung eintritt, während die übrigen, bei denen die Fruchtblätter mit den Samenanlagen erhalten blieben, bald zu nutiren anfangen. Stirbt bei den Versuchen der Fruchtknoten aus irgend einem Grunde nach der Operation ab, so verhält sich der betreffende Stengel wie ein decapitirter Blüthenstiel. Bisweilen findet man auf Beeten von *Papaver* Stengel mit gerade nach oben stehender Knospe, während gleich lange und gleich kräftige an demselben Stocke oder an den Nachbarstöcken stark nutiren. Untersucht man dann solche Knospen, so findet man immer, dass die Ovula im Fruchtknoten abgestorben sind.

Es ergibt sich aus diesen Versuchen der Schluss, dass es Entwicklungsvorgänge in den Samenknospen sind, welche die auslösende Ursache für die Nutation des Stengels bilden.

Ist nun der Fruchtknoten mit den Samenanlagen oder der oberste Stengeltheil das Aktive bei dieser Bewegung? Richten sich die Ovula selbst so, dass dadurch die Fruchtwandungen und das Stengelende passiv senkrecht

<sup>1)</sup> Scholtz, Ueber den Einfluss von Dehnung auf das Längenwachsthum der Pflanzen: in Cohn, Beiträge zur Biologie der Pflanzen. Bd. IV. pag. 351.

<sup>2)</sup> l. c. pag. 108 ff.

nach unten gezogen werden, oder krümmt sich das Ende des Stengels aktiv und bringt dadurch den Fruchtknoten mit den Samenanlagen in die vertikal abwärts geneigte Lage?

Die erste Annahme, dass die Ovula die Bewegung activ ausführten, ist von vornherein unwahrscheinlich, da man keine Meristeme kennt, welche geotropische oder heliotropische Reizbarkeit durch Wachstumsrichtung ihres eigenen Gewebes anzeigten. Auch das geotropische Verhalten decapitirter Wurzeln bietet für die hier gegebene Fragestellung kein Analogon. Mag man die Meinung von Ciesielski-Darwin oder von Sachs-Wiesner über den Geotropismus solcher Wurzeln für richtig halten, so bleibt doch die Thatsache bestehen, dass die geotropische Krümmung in der Wachstumszone der Wurzel erfolgt, und dass sich nicht der Vegetationskegel der Wurzel durch active Wachstumsbewegung in die Richtung der Schwerkraft stellt, und den darüber liegenden Wurzeltheil nur passiv mitkrümmt<sup>1)</sup>.

Der bei der Krümmung aktive Theil der Blüthensprosse von *Papaver* wurde durch drei Versuchsreihen bestimmt.

Befestigt man junge Stiele, die sich eben zu krümmen anfangen, vertikal so an Stäben, dass nur die Knospe frei und beweglich bleibt, so verharret dieselbe so lange in ihrer aufrechten Richtung, bis der Knospenstiel um ein bis drei mm über das Ende des Stabes hinausgewachsen ist, dann erst wird sie nach unten geführt. Ebenso verhalten sich ältere Knospen an normal nutirenden Stengeln, die man so an Stäben festbindet, dass nur die Knospe in senkrechter Stellung nach oben frei bleibt. Tötet man das kurze hervorgewachsene Stengelstück ab (durch Bepinseln mit verdünnter Kalilauge, durch Anbringen von Schnittwunden und Einstreichen von Jodtinctur in dieselben), wobei die Knospe nicht verletzt werden darf, so erhält sich dieselbe meist so lange am Leben, bis die Controlexemplare, deren hervorgewachsenes Stengelstück nicht getötet wurde, sich deutlich abwärts geneigt haben. Die Knospe bleibt aber dabei senkrecht nach oben gerichtet. Erst wenn sie abzusterben beginnt, sinkt sie schlaff herab. Bleiben in dem mit Jodtinctur injicirten Stielende nur einige kleine Gewebepartien von Mark und Rinde erhalten, so tritt die Nutation der Knospe unverändert ein; ein Beweis, dass zu dem Zustandekommen der Wachstumsrelation zwischen Knospe und Stengel nicht das ganze Stengelgewebe wirksam sein braucht.

Befestigt man andererseits die Knospe und das untere Ende des Sten-

<sup>1)</sup> Th. Ciesielski, Untersuchungen über die Abwärtskrümmung der Wurzel. In Cohn, Beiträge zur Biologie d. Pfl. Bd. I. 1875 p. 17 § V.

Darwin, Das Bewegungsvermögen der Pflanzen; übers. von V. Carus, Stuttgart 1881 p. 448 ff.

J. Sachs, Ueber das Wachstum der Haupt- und Nebenwurzeln. Arbeiten d. Bot. Inst. Würzburg. Bd. I. p. 439 § 25.

J. Wiesner, besonders: Untersuchungen über die Wachstumsbewegungen der Wurzeln. Sitzber. d. K. Akad. d. Wissensch. Bd. 89 I. Abth. Jahrg. 1884 März-Heft.

gels an einem Stabe und lässt das obere Stengelende frei, so krümmt sich dasselbe innerhalb 12 bis 36 Stunden (*P. dubium*) vertikal nach unten, nachdem es soweit in die Länge gewachsen ist, dass es die nöthige Bewegungsfreiheit zwischen den an der Knospe und der Basis des Stengels angebrachten Schlingen hat. Die festgebundene Knospe entwickelt sich weiter, sie erreicht unter der Fessel ihre völlige Ausbildung. Löst man das Band, sobald der Kelch durch die hervorquellenden Blumenblätter gesprengt wird, so faltet sie sich zur Blüthe auf. Nicht selten gelingt es dem sich abwärts richtenden Stengeltheile, die Knospe aus der Schlinge herauszuziehen und in ihre normale Nutationsstellung zu bringen. Das in seiner Abwärtsbewegung durch die festgebundene Knospe behinderte Stengelstück fällt dadurch auf, dass es bedeutend stärker in die Dicke anschwillt, als frei nutirende Stengel. Ausserdem zeigt es starke Torsionen, die man sehr deutlich an dem Verlaufe der Riefen am Stengel verfolgen kann. Diese Torsionen kommen dadurch zustande, dass der wachsende Stengel auf einer Seite, welche bei frei beweglichen Stengeln zur Oberseite der Nutation wird, stärker wächst, als auf den übrigen Seiten. Da die Richtung des stärker wachsenden Stengelstreifens nicht genau parallel der Achse des Stengels verläuft, sondern durch die Spannung, welche der an seinen Enden festgebundene Stengel bei seinem Ausdehnungsbestreben erfährt, aus dieser Lage verschoben wird, so ergeben sich die Torsionen als der äussere Ausdruck dieser Spannung und der Epinastie des Stengelendes<sup>1)</sup>. (Fig. 9, 11.) Würde das stärkere Längenwachsthum der einen Seite des Stengels genau parallel der Achse desselben erfolgen, so würde nur eine bogenförmige Auswärtskrümmung, aber keine Torsion entstehen.

In Bezug auf die Ursache des abnormen Anschwellens der Stengel, welche in ihrer freien Bewegung gehemmt werden, ist zu der Darstellung bei Vöchting nichts hinzuzufügen<sup>2)</sup>; sie beruht nur auf Volumenvergrösserung der Zellen aller Gewebe des Stengels.

Es wurde endlich noch ein dritter Versuch angestellt, behufs der Bestimmung desjenigen Theiles des Sprosses, welcher die Abwärtskrümmung activ ausführt und desjenigen, welcher dabei passiv mitgezogen wird.

Ueber mehrere im freien Lande dicht neben einander wachsende Pflanzen von *P. hybridum* mit zahlreichen eben aus den Blattachsen hervorschauenden Knospen, wurde ein an beiden Seiten offener Thoneylinder von passender Grösse gestellt, so dass die Pflanzen allseitig umschlossen waren. Hierauf wurde der Cylinder mit Gartenerde vollgeseibt und seine obere Oeffnung zugedeckt. Nach Verlauf von 7 Tagen wurde der Cylinder und die Erde vorsichtig entfernt. Die Pflanzen waren etiolirt und in ihrer Entwicklung gegen die normal wachsenden Vergleichsexemplare sehr zurück-

1) Vergl. Sachs, Lehrbuch (1874) pag. 832.

2) Vöchting, l. c. pag. 123.

geblieben. Die jungen, vorher mit Tuschmarken bezeichneten Knospen waren wenig gewachsen, ihr Stiel hatte die Länge von 1.5—3 cm erreicht. Die Stiele waren schwach negativ geotrop aufgerichtet, sie standen meist schräg nach oben. Bei einigen war die Abwärtsneigung ausgeblieben, andere dagegen hatten ihr vorderes Ende wie eine positiv geotrop wachsende Wurzel nach unten gekrümmt. Die Knospe selbst aber, durch die unter ihr befindliche Erdschicht gestützt, war in ihrer ursprünglichen schräg nach oben gerichteten Lage zurückgeblieben. Bisweilen stand sie horizontal, sehr selten schräg nach unten geneigt (Fig. 10).

Aus allen diesen Versuchen geht hervor, dass das sich an die Knospe anschliessende Stengelstück die Abwärtskrümmung ausführt, und dass die Knospe selbst bei dieser Bewegung passiv mit herabgebogen wird.

Es ist weiter die Art der Nutation zu bestimmen, ob sie das Resultat innerer Wachsthumsvorgänge ist (spontane Nutation), oder ob sie durch äussere Einwirkungen: Licht, Schwerkraft verursacht wird (receptive, paratonische Nutation).

Dass die Krümmung nicht durch das Licht inducirt wird, beweist der zuletzt beschriebene Versuch: die Nutation tritt auch ein, wenn die Lichtwirkung ausgeschlossen wird.

Dass ferner keine spontane Nutation vorliegt, dafür spricht schon der Umstand, dass sich das Stengelende mit der Knospe unter allen Umständen senkrecht nach unten stellt, man mag ihm eine Lage aufzwingen, welche man wolle, wenn es überhaupt nur wächst und dabei Bewegungen ausführen kann. Bemerkenswerth in dieser Hinsicht ist das Verhalten nutirender Knospen, welche aufwärts gebogen und mit einem Faden an dem absteigenden Stengelende befestigt sind. Erfolgt die Aufbindung der Knospe in der in Fig. 17 dargestellten Weise, so wird in selteneren Fällen die Richtung nach unten dadurch wieder hergestellt, dass die Krümmung *a* der Nutation durch Wachsthum ausgeglichen wird. Dadurch wird das herabhängende Stengelstück gehoben, und die Knospe kommt wieder in ihre normale Lage. Meistens aber wird die Abwärtsstellung der Knospe auf eine andere Art erreicht. Sie wird zunächst durch Wachsthum des Stengeltheils *b* in Horizontalstellung und von da aus nach unten geführt. Gleichzeitig streckt sich *a* negativ geotrop nach oben. Ganz analog verhalten sich die Knospen, die man nach aussen an den Stengel festbindet. Derjenige Theil des Stengels, welcher diese Bewegungen ausführt, schwillt stark an und macht scharfe Torsionen. (Fig. 11).

Näheren Aufschluss über das Wesen der Nutationen giebt das Verhalten der Stengel am Klinostaten. Es wurde ein gesunder im Topf gezogener Stock von *P. Rhoeas* mit Knospenstengeh in allen Stadien der Nutation an der horizontalen Achse eines Wortmann'schen Klinostaten befestigt und der Rotation unterworfen (eine Umdrehung in 15 Minuten bei gewöhnlicher Zimmertemperatur.) Der ganze Apparat wurde so an einem Fenster aufgestellt, dass die Rotationsachse parallel mit demselben lief. Nach

9tägiger Rotation waren alle Stiele gestreckt, auch diejenigen der jungen Knospen, welche bei Beginn des Versuches eben zu nitiren angingen. Vöchting kam in Bezug auf die älteren Stengel zu demselben Resultate. Die jüngeren eben gekrümmten Knospensiele dagegen erfuhren nur selten eine Streckung. Vöchting giebt die Dauer der Rotation bei seinen Versuchen nicht an; möglicherweise war dieselbe zu kurz bemessen<sup>1)</sup>.

Aus diesem Klinostatenversuch in Verbindung mit den übrigen Ergebnissen folgt, dass die Nutation der Blütenstiele der *Papaver*-Arten durch die Wirkung der Schwerkraft verursacht wird; dass sie eine Erscheinung von positivem Geotropismus ist.

Die geotrope Reactionsweise des Stengels steht, wie wir gesehen haben (pag. 383), in sehr deutlich ausgesprochener Beziehung zu den sich entwickelnden Samenknospen. Solange die Ovula sich in der unentfalteten Blüthe entwickeln, ist das Stengelende energisch positiv geotrop; wenn sich die Blüthe öffnet, wird es eben so stark negativ geotrop.

Solche durch Correlation benachbarter Organe beeinflusste geotrope Eigenschaften von Achsenorganen sind schon bekannt zwischen Haupt- und Nebenachsen derselben Pflanze. Ein sehr geläufiges Beispiel geben entgipfte Bäume, welche ihren Hauptstamm dadurch ersetzen, dass sich ein oder mehrere dem weggenommenen Gipfel zunächst stehende Seitenäste vertikal nach oben richten. Goebel beschreibt solche Correlation der Richtung zwischen Hauptachse und Seitenprossen für die Rhizome von *Stachys palustris*, *Lycopus europaeus*, *Sparganium*, *Sagittaria*, *Circaea*- und *Achimenes*-Arten<sup>2)</sup>. Diese Pflanzen bilden aus den Achseln der untersten Blätter Ausläufer, welche in den Boden eindringen, solange die Hauptachse am Leben bleibt. Stirbt diese ab, so krümmen sich einer oder mehrere der Ausläufer negativ geotrop aufwärts.

Eine correlative Beeinflussung von Blütenstiel und zugehöriger Blüthe, ähnlich wie die bei *Papaver* beschriebene, scheint weit verbreitet zu sein. *Clematis cylindrica* Sims. und viele andere Arten krümmen ebenfalls die anfangs rectipetal wachsenden Knospensiele herab; auch die entfaltete Blüthe bleibt in nitirender Stellung, erst der Fruchtstand richtet sich senkrecht nach oben. Decapitirt man Blüthenäste bei irgend einem Entwicklungsstadium der Knospe, so führen sie keine Bewegungen aus, sie wachsen überhaupt nicht weiter. Lässt man aber an jungen noch geraden Stielen von der am Ende stehenden Knospe nur das Gynoceum unverletzt und entfernt alle übrigen Blüthentheile, so tritt die gewöhnliche Abwärtskrümmung bald ein. Ebenso verhält sich der Stiel der Inflorescenz von *Dahlia variabilis*. Vor der Entfaltung der Blüthen ist derselbe an seinem oberen

<sup>1)</sup> Vöchting, l. c. pag. 100.

<sup>2)</sup> Goebel, Beiträge zur Morphologie und Physiologie des Blattes, Bot. Ztg. (1880) pag. 813.

Ende scharf herabgebogen, so dass der Hüllkelch in horizontaler oder schräger Lage nach oben gekehrt sich ausbreitet. Schneidet man die Blütenstände in diesem Entwicklungsstadium ab, so bleibt der Stiel gekrümmt. Lässt man die Infloreszenz zur Entfaltung kommen, so streckt sich der Stiel negativ geotrop. Es lässt sich durch Beseitigung der betreffenden Theile leicht nachweisen, dass an dieser Bewegung der Hüllkelch oder der äussere Kranz der Zungenblüthen keinen Antheil hat. Die junge Infloreszenz von *Allium sativum* u. a. A. ist stark abwärts gekrümmt, die Stiele der einzelnen Knospen selbst sind ebenfalls nach unten gerichtet. Bei der Entfaltung der Blüthen krümmen sich die Blüthenstiele stark negativ geotrop nach oben, und gleichzeitig damit richtet sich auch der ganze Blüthen-schaft auf. Schneidet man die Infloreszenz an der Spitze desselben weg, so bleibt seine Abwärtskrümmung dauernd erhalten. In diesen Fällen wird also der Stiel durch die Blüthe überhaupt erst geotrop reactionsfähig. Während er nach dem Wegschneiden der Knospe bei *Papaver* weiter wächst und eine eigene geotropische Reizbarkeit besitzt, bleibt er bei den oben genannten Pflanzen in der Lage, die er bei der Amputation der Knospe gerade einnahm. Hier ist eine Correlation des Wachstums derart vorhanden, dass der Stiel zu wachsen aufhört, wenn durch Entfernung der Knospen seine Funktion, Bau- und Bildungstoffe nach den sich entwickelnden Blüthen zu leiten, aufgehoben wird; dass er dagegen weiter wächst und gegen die Schwerkraft in bestimmter Weise reagirt, sobald er als Leitungsbahn in Thätigkeit bleibt.

Bei dem geringen Wissen, welches wir gegenwärtig über die inneren physikalischen und chemischen Vorgänge beim Wachsthum der Zellen besitzen, ist es unmöglich, die Abhängigkeitsbeziehungen der Wachstumsursachen des Stengels von denen der Knospe näher zu bestimmen. Wir müssen uns zunächst damit begnügen, die hier beschriebene Correlation so unter den Funktionsbegriff zu bringen, dass die Wachstumsursachen in den Samenknospen als die eine Variable, der Complex der Wachstumsursachen im Stengel als die von dieser abhängige Veränderliche aufgefasst wird. Damit ist freilich noch nichts gewonnen. Der Begriff würde erst dann fruchtbar auszunutzen sein, wenn es gelänge, die ermittelten Abhängigkeitsbeziehungen durch messbare Grössen auszudrücken.

In Bezug auf die physiologische Methodik ergiebt sich, dass Vorsicht zu gebrauchen ist bei der Entfernung von Theilen an einem zusammengesetzten Pflanzenkörper, in der Absicht, das zu beobachtende Organ reiner dem Experiment unterwerfen zu können. Es muss immer ein Controlversuch angestellt werden, ob mit den weggeschnittenen Theilen nicht auch Vorgänge entfernt worden sind, welche für das zu untersuchende Pflanzenglied Entwicklungsursachen darstellen. Durch das Vorstehende wurden also die Untersuchungen von Vöchting in allen Theilen bestätigt.

Endlich wurde noch das heliotrope Verhalten der Blüthenstiele der *Papaver*-Arten untersucht.

Ein grosser innen geschwärtzter Kasten aus Zinkblech (60 : 60 : 80 cm), dessen eine Seitenwand durch eine Glasscheibe ersetzt war, wurde über eine im freien Lande wachsende Gruppe von Pflanzen von *P. somniferum* gesetzt. Die Glaswand war nach Süd-Ost gerichtet. Die zur Beobachtung gelangenden Blüthenstiele waren bei Beginn des Versuches auf ihrer der Glasscheibe zugekehrten Seite mit einer ihrer Längsachse parallel laufenden Tuschlinie gezeichnet worden. Jede Pflanze war an einen dünnen Holzstab gebunden; an ihrem oberen Theile, welcher den zur Beobachtung kommenden Stengel trug, war sie frei beweglich. Während des Versuches eintretende Richtungsunterschiede des Stengels und des Stabes wurden in der von Pfeffer<sup>1)</sup> eingeführten Methode durch Einschieben von Pappdreiecken bestimmt. An dem Ende eines anderen Holzstabes wurde ein Kreisring aus starkem Kartonpapier befestigt, und derselbe so über den nutirenden Knospstengel gezogen, dass die Spitze der Knospe nur wenige mm von der Papierfläche entfernt war. Durch einen Bleistiftpunkt wurde die jedesmalige Lage der Knospe auf dem Papier fixirt (Fig. 21). Die Kreisringe wurden in zwei verschiedenen Grössen benutzt:

Radius des äusseren Kreises; des inneren Kreises:

- |          |          |
|----------|----------|
| 1) 10 cm | 2 cm und |
| 2) 5 cm  | 1,5 cm.  |

Temperatur im Mittel 20° C; dieselbe stieg im Kasten um die Mittagszeit nicht unbeträchtlich höher als die der äusseren Luft; der Maximalunterschied am dritten Beobachtungstage betrug 12° C; 27,5° gegen 39,5°.

Die Stiele verhalten sich je nach dem Entwicklungsstadium ihrer Knospe verschieden. Eine Knospe, die zum Aufblühen senkrecht nach oben gerichtet war, hatte ihren Stiel in zwei Stunden bei hellem Sonnenscheine aus der senkrechten Stellung um einen Winkel von 28° dem Lichte zugeneigt. Diese Pflanze stand vorn im Kasten nahe der Glaswand. Von fünf normal nutirenden Knospen in der Mitte des Kastens waren nach 6 Stunden drei genau den einfallenden Lichtstrahlen zugewendet. Die Nutationsebene stand in der Richtung der Lichtstrahlen, die Stiele selbst waren dem Lichte zugeneigt (um 22°, 26°, 12°). Das vierte Exemplar brauchte zu derselben Bewegung 9, das fünfte 24 Stunden. Zwei dieser nutirenden Stengel hatten die Nutationsebene um 180° gedreht, ihre Knospen standen zuerst nach der dem Glase gegenüberliegenden Hinterseite des Kastens zu. Die übrigen hängenden Blüthenstiele wiesen mit ihren Knospen nach der rechten, bezw. linken Seitenwand des Kastens und hatten sich aus dieser Lage bei Anfang des Versuches um 90° nach vorn gedreht, so dass sie nunmehr mit den beiden ersten parallel standen. An dem Verlauf der Tuschlinien waren an den unteren Theilen der Stengel deutlich die mit diesen Wendungen verbundenen Torsionen zu erkennen. Bei der einen von denjenigen Pflanzen, deren Stengel sich um 180° gedreht hatten, stand die Knospe aus der

<sup>1)</sup> Pfeffer, Die periodischen Bewegungen der Blattorgane. Leipzig 1875, p. 49.  
 Cohn, Beiträge zur Biologie der Pflanzen. Bd. V. Heft III.

Nutationsebene nach links heraus<sup>1)</sup>); in allen übrigen Fällen fiel die Knospensachse in diese Ebene hinein.

Von drei jungen sich eben krümmenden Knospensielen hatte sich ein vorn an der Glaswand stehender, der seine Knospe bei Beginn des Versuches dem einfallenden Lichte zugewendet schräg nach oben stehen hatte, nach 6 Stunden um 15° der Glasfläche genähert. Eine andere in der Mitte des Kastens stehende Knospe des gleichen Entwicklungszustandes war in derselben Zeit unverändert geblieben; nach Verlauf von 24 Stunden hatte sie sich um 18° dem Lichte zugeneigt. In derselben Zeit waren auch eine Anzahl decapitirter Stiele aus dem Hintergrunde des Kastens nach vorn dem Lichte zugewendet worden.

Aus diesen Versuchen folgt, dass die Blütenstiele von *P. somniferum* positiv heliotrop sind, und dass bei einseitiger Beleuchtung die Knospe in das einfallende Licht gedreht wird<sup>2)</sup>.

Der Versuch wurde mit *P. hybridum* in derselben Weise wiederholt. Die Glaswand aber war herausgenommen, und das Licht trat von Süden her frei in den Kasten ein; Kreisringe wurden nicht angebracht, eintretende Richtungsunterschiede der Stengel wurden nicht zahlenmässig bestimmt. Im ganzen wurden mehr als zwanzig Blütenstiele beobachtet. Drei kräftig nutirende Stengel wurden an Stäben so befestigt, dass nur die Krümmung und der absteigende Stengeltheil frei blieben. Fünf andere scharf umgekrümmte Stengel wurden in der Weise festgebunden, dass das nutirende Ende gestreckt wurde, und der Stiel in seinem ganzen Verlaufe am Holzstabe unbeweglich war, so dass nur die Knospen, die jetzt nach verschiedenen Richtungen schräg nach oben standen, sich drehen konnten. Bei diesen letzteren Exemplaren wuchsen die Stiele zunächst ein Stück über das Ende des Stabes hinaus und krümmten sich dann abwärts (vergl. pag. 384). Gleichzeitig neigte sich das sich abwärts krümmende Stück dem Lichte zu. Eine Drehung der Nutationsebene, wie oben beschrieben, fand nicht statt. Diejenigen festgebundenen Stengel, deren ganzes nutirendes Ende frei beweglich gelassen war, verhielten sich ähnlich. Sie wuchsen ein Stück über den Stab hinaus, und die Nutationsebene neigte sich aus ihrer ursprünglichen vertikalen Stellung schräg vor gegen das Licht. Allmählich (nach 36 bis 48 Stunden) drehte sich dann das hängende Ende weiter in die Richtung der Lichtstrahlen hinein, so dass die Knospen in dieselbe hinein zu stehen kamen.

Durch diese Versuche ist bewiesen, dass auch das nutirende Ende des Stengels positiv heliotrop ist. Decapitirte und nur am Ende frei bewegliche Stiele sind ebenfalls positiv heliotrop.

Schneller und schärfer führen die heliotropen Krümmungen diejenigen Sprosse aus, welche in ihrem ganzen Verlaufe frei beweglich sind. Die

1) Der Beschauer vor der Glasscheibe des Kastens stehend gedacht.

2) Auch Vöchting bestimmte schon durch einen vorläufigen Versuch die Stengel der von ihm untersuchten Arten als positiv heliotropisch. l. c. pag. 94.

Nutationsebene dreht sich in eine den Lichtstrahlen parallele Stellung, der aufsteigende Stengeltheil neigt sich dem Lichte zu, der absteigende Theil richtet sich schräg nach vorn, so dass hierdurch die Krümmung mehr oder minder geöffnet wird. (Zusammenwirken von positivem Geotropismus und positivem Heliotropismus.) (Fig. 12). Je weiter die Stengel von der Oefnung, durch welche das Licht einfällt, entfernt sind, um so stärker sind ihre heliotropen Bewegungen.

An der Hinterwand des Kastens stehende Blütenstiele stellten ihre Knospen in horizontaler Richtung nach vorn. Bei einigen neigte sich die Nutationsebene, ehe sie sich parallel den Lichtstrahlen stellte in ihrer ganzen Ausdehnung dem Lichte zu, so wie es oben für die festgebundenen Stiele beschrieben worden ist. In einzelnen Fällen (bei Blütenstielen, welche die Knospen nach der rechten oder linken Seitenwand des Kastens hängen hatten) war deutlich zu beobachten, dass die heliotrope Neigung zuerst an der gekrümmten Stelle des Stengels auftrat; die kreisförmige Krümmung neigte sich in 14 Stunden stark dem Lichte zu, und erst später traten die übrigen heliotropen Bewegungen ein. Diese Bewegungen wurden von jungen sich eben krümmenden Stielen in 72 bis 86 Stunden, von normal nutirenden in 48 bis 72 Stunden (trübe Witterung) ausgeführt.

Anders gestaltete sich der heliotrope Bewegungsgang bei einer scharf nutirenden Knospe, welche genau der Hinterwand des Kastens zugekehrt war. Indem der aufsteigende Stengel gerade unterhalb der beginnenden Krümmung stark positiv heliotrop wuchs, krümmte er sich nach hinten convex und führte dadurch (in 104 Stunden) das Stengelende mit der Knospe in einem in senkrechter Ebene liegenden Bogen dem Lichte zu; die frühere Oberseite der Nutation wurde also zur Innenseite derselben.

Decapitirte nutirende Stengel strecken sich negativ geotrop und krümmen sich positiv heliotrop. Die letztere Bewegung erfolgt nicht schneller als bei Stengeln, welche ihre Knospe tragen. Alle einseitig beleuchteten Blüten stellen sich so, dass sie von den Lichtstrahlen auf ihren Innenflächen annähernd unter rechtem Winkel getroffen werden.

Schliesslich wurde der Lichtversuch noch mit *P. dubium* wiederholt. Ein Stock mit mehreren nutirenden Sprossen wurde mit einer innen geschwärzten Glasglocke überdeckt, die nur an einer Stelle, in mittlerer Höhe ihrer Wand, einen nicht geschwärzten Fleck von ca. 1 dem<sup>2</sup> besass. Die Nutationsebenen neigten sich erst schräg gegen das Licht und stellten sich dann den einfallenden Strahlen parallel. Die Knospen blieben bei der Bewegung zunächst ein wenig in ihrer alten Stellung zurück, wurden aber bald in die Nutationsebene geführt.

Bei diesem Versuche trat hierauf eine Erscheinung ein, die auch bei den Pflanzen von *P. somniferum*, die sich in der mit einer Glasscheibe versehenen heliotropen Kammer befanden, vom zweiten bezw. dritten Versuchstage an beobachtet wurde.

Die Stengel wachsen lebhaft in die Länge, sie neigen sich stark nach

dem Erdboden zu, ihr vorderes Ende mit der Knospe befindet sich im labilen Gleichgewicht (pag. 382). Ihre Farbe ist blassgrün, der neue Zuwachs blassgelbgrün; sie sind mehr oder minder etiolirt. In diesem Zustande können sie das Gewicht der Knospe nicht tragen, sie verhalten sich wie Stiele, die an ihrem Ende mit einem Gewichte beschwert worden sind. Eine geringe Zuwachsbewegung des Stengels genügt, das die Knospe tragende Ende in starke Nutationen in horizontaler Ebene zu versetzen. Diese Nutationsform gehört zu den von Baranetzki<sup>1)</sup> als symmetrische Nutation bezeichneten Bewegungen. Die nutirende Spitze behält in allen Stellungen dieselbe relative Lage sowohl zum Horizonte, als zum unteren, aufrechten Stengeltheile, und die am stärksten wachsende Stengelseite wird jedesmal zur Oberseite der Nutationskrümmung. Ueber den Gang dieser Nutationen geben die Bleistiftmarken auf den Kartonringen näheren Anschluss. Wenn die Knospe über den Kartonrand hinausgewachsen war, wurde die Richtung ihrer Achse auf die Papierfläche projicirt. Die Figur 7 giebt eine von den zwölf beobachteten horizontalen Nutationen wieder. Eine geschlossene Kreisbewegung (rotirende Nutation, revolute Bewegung Sachs<sup>2)</sup>, Circumnutation Darwin<sup>3)</sup> wie in Fig. 7 wurde in zwei Fällen beobachtet; bei den übrigen beschränkten sich die Nutationen auf Dreiviertelkreise und Halbkreise. Bei der Figur geben die Zahlen an der äusseren Kreisperipherie die Nummer der Beobachtung an. Der Pfeil bedeutet die Richtung der Nutation, L. die Stellung des Stengels bei der Einnahme der Lichtlage; die dicken Striche sind die Projektionen des Stengels auf den Kreisring, nachdem die Blüthe sich entfaltet hatte. Der rechte vertikale Rand der Papierfläche der Tafel giebt die Lage der Glaswand zu dem Kreisringe an.

Die Stellungen der Knospe bezw. des Stengelendes wurden zu folgenden Zeitpunkten beobachtet:

1)	August 11.	8 <sup>v</sup>	10)	August 13.	6 <sup>n</sup>
2)	= 11.	5 <sup>n</sup>	11)	= 14.	8 <sup>v</sup>
3)	= 12.	8 <sup>v</sup>	12)	= 14.	10 <sup>v</sup>
4)	= 12.	2 <sup>n</sup>	13)	= 14.	12
5)	= 12.	5 <sup>n</sup>	14)	= 14.	3 <sup>n</sup>
6)	= 13.	8 <sup>v</sup>	15)	= 15.	4 <sup>n</sup>
7)	= 13.	2 <sup>n</sup>	16)	= 14.	6 <sup>n</sup>
8)	= 13.	4 <sup>n</sup>	17)	= 15.	7 <sup>v</sup>
9)	= 13.	5 <sup>n</sup>	18)	= 15.	12.

Von der dritten oder vierten Beobachtung an wurden die nächsten Lagen des Stengels bei allen Exemplaren immer auf dem kürzesten Wege erreicht.

In der Mehrzahl der Fälle verlaufen diese horizontalen Nutationen so, dass die Knospe vor dem Aufblühen wieder in die Nähe der Lichtlage zu

<sup>1)</sup> J. Baranetzki, Die kreisförmige Nutation und das Winden der Stengel. Mémoires de l'Académie imp. des sciences de St.-Petersbourg. VII. série. Tome XXXI., No. 8. 1883 p. 11, 18.

<sup>2)</sup> Sachs, Vorlesungen. II. Aufl. p. 560, Lehrbuch d. Bot., 3. Aufl. p. 758.

<sup>3)</sup> l. c. pag. 1.

stehen kommt. Die Blüthe selbst stellt sich dann mit ihrer Oeffnung senkrecht zu den einfallenden Strahlen, indem sich das äusserste Ende des horizontal übergeneigten Stengels schwach aufrichtet.

Die Knospentiele von unter gewöhnlichen Verhältnissen im Freien wachsenden Pflanzen zeigen keine horizontalen Nutationen. Das Gewicht der Knospe hat hier keinen Einfluss auf die Wachstumsrichtung des gefestigten Stengels. Beschwert man normal nutirende Knospen oder decapitirte Stengel mit Gewichten von solcher Grösse, dass die Stengel in der entstehenden Lastkrümmung energisch nach unten gezogen werden, so dass sie sich in stabilem Gleichgewicht befinden, so wachsen die Stengel zwar und heben das Gewicht bei ihrer negativ geotropischen Aufrichtung auch mit in die Höhe, aber horizontale Nutationen werden nicht ausgeführt. Die während des Wachsthumts entstehenden inneren Bewegungsanstösse (Gewebe-  
spannungen) kommen gegen die Wirkung des angehängten Gewichtes nicht in Betracht. Die benutzten Gewichte betragen bei den decapitirten Stengeln 2.04, 2.50, 2.56, 2.76 g; bei denjenigen, denen die Knospe belassen war, 0.95, 0.99, 1.20 g.

Endlich wurde noch das Verhalten der Pflanzen bei völligem Lichtabschluss genauer untersucht. Ein Beet von *P. Argemone* wurde mit einem geschwärzten völlig lichtdichten Kasten überdeckt. Die Sprosse wuchsen stark in die Länge und wurden etiolirt. Besonders fiel das neue Zuwachsstück durch seine weiche schlaffe Beschaffenheit, seine hellgelbgrüne Farbe und seinen Wasserreichthum auf. Decapitirte Stengel streckten sich aufwärts, wuchsen noch ein wenig und blieben dann unverändert. Bei Stengeln, welche zu Beginn des Versuches normal nutirten, traten nach 24 bis 36 Stunden scharf ausgeprägte, durch das Gewicht der Knospe verursachte Lastkrümmungen und Nutationen in horizontaler Ebene wie die oben beschriebenen ein (Fig. 13). Nur diejenigen Blüthenstiele, welche in 6 bis 12 Stunden nach Beginn des Versuches sich aufgerichtet und die Blüthe entfaltet hatten, führten diese Nutationen nicht aus. Solche Blüthen hatten auch die normale Beschaffenheit und die gewöhnliche hochrothe Färbung der Blumenblätter. Aus den zu Beginn des Versuches stark nutirenden Knospen entwickelten sich die Blüthen nicht. Bei einzelnen wurde zwar der Kelch abgeworfen, aber die Blumenblätter blieben zusammengefaltet, sie besaßen blass blauviolette Färbung, die Staubbeutel waren nicht zur Reife gekommen, die Ovula sehr klein geblieben und von erdbräuner Farbe. Die ganze Blüthe war sehr wasserreich und gerieth leicht in Fäulniss. Die jungen Knospen standen auf bis 7 cm langen Stielen schräg nach oben; es war fast nirgends die geotrope Abwärtskrümmung eingetreten, nur wenige Knospen waren durch ihr Gewicht schwach gegen die Horizontale geneigt. Bei näherer Untersuchung zeigte sich, dass in fast allen Knospen die Blüthentheile, im besonderen die Samenanlagen abgestorben waren. Dies war die Ursache für das Ausbleiben der Nutation des Stengels. Die jüngsten Knospen, die zu Anfang eben aus den Blattachsen herausschauten, waren gelb und nicht

weiter gewachsen. Stengel, aus deren Knospen der Fruchtknoten entfernt worden war, zeigten ebenfalls die Lastkrümmung, sowie horizontale Nutationen.

Ein gleicher Versuch mit *P. Hookeri* ergab dieselben Resultate.

Bei den Versuchen mit *P. somniferum* im Lichtkasten (pag. 389) wurden zwei in der Mitte desselben, also im abgeschwächten Lichte, stehende junge Knospenstiele beobachtet, welche sich eben abwärts neigen wollten. Die Stengel wuchsen nur schwach in die Länge, eine Abwärtskrümmung unterblieb, sie richteten sich den einfallenden Lichtstrahlen parallel und stellten die Knospe in dieselbe Lage. Als nach Beendigung des Versuches diese Knospen, die sich nicht weiter entwickelt hatten, untersucht wurden, zeigte sich, dass sie abgestorben waren. Die Ovula waren missfarben und sehr klein geblieben, so dass der zusammengefallene Fruchtknoten eine hohle Kapsel darstellte.

Aus diesem Verhalten der Pflanzen bei schwachem Lichte, oder bei gänzlichem Lichtabschluss folgt, dass die Knospen, und insbesondere die Samenanlagen zu ihrer Entwicklung Licht bedürfen. Bei einseitiger Beleuchtung werden sie durch Bewegungen des Stengels dem Lichte zugeführt, bei Lichtmangel sterben sie ab.

Diese Erkenntniss giebt die Grundlage zu einer möglichen Erklärung der biologischen Bedeutung der Nutation der Blüthenstiele. In der abwärts geneigten Lage der Knospe befindet sich der Fruchtknoten in der günstigsten Lichtlage. Aufrecht gedacht ist derselbe von der grossen Menge der Staubbeutel bedeckt, darüber sitzt noch der dicht zusammengefaltete Bausch der Blumenblätter, und der Kelch hält das Ganze zusammen. Es muss bei weitem weniger Licht zum Fruchtknoten gelangen, wenn es erst diese Organschichten zu passiren hat, als wenn es bei abwärts geneigter Lage der Knospe nur den Kelch und das Gehege der feinen Staubfäden durchbricht. (Fig. 14). Es breitet sich dann auf der Wandung des in abgestumpfter Kegelform entgegenstehenden Fruchtknotens aus, während das wenige Licht welches denselben bei aufrechter Stellung von der Narbe aus trüfe, auf der breiten Fläche derselben aufgefangen wird und kaum an die Placenten und die Samenanlagen gelangen kann.

Bei der jungen noch nicht abwärts geneigten Knospe kommen diese Beleuchtungsdifferenzen nicht in Betracht. In diesem frühen Stadium der Entwicklung sind die Blumenblätter noch klein, dünnhäutig, weiss, stellenweise durchsichtig; sie erreichen kaum die Höhe des jungen Fruchtknotens. Die Antheren sind ebenfalls weiss oder blasswachsgelb, und nur ein kleiner Theil derselben biegt sich über die Narbenfläche herum. Von dieser Fläche bis zur Spitze des Kelches ist ein mit der Länge des Fruchtknotens ungefähr gleich hoher Raum völlig leer und dazu bestimmt, den sich rasch entwickelnden Blumenblättern Platz zu ihrer Entfaltung zu geben.

Vöchting hat durch Kulturversuche nachgewiesen, dass die Samenanlagen in Fruchtknoten, welche von ihrer ersten Entwicklung an dauernd in senkrecht aufgerichteter Lage gehalten wurden, sich zu reifen, ent-

wicklungsfähigen Samen ausbilden, und dass im Wesentlichen kein Unterschied besteht zwischen Pflanzen, die aus derartigen invers gehaltenen Samenknospen hervorgehen, und solchen, welche sich aus Samen von unter normalen Verhältnissen erwachsenen Kapseln entwickeln<sup>1)</sup>. Die nutirende Stellung der Knospe ist somit für die Erhaltung der Art nicht unbedingt nothwendig. Dies beweist auch der Umstand, dass *P. bracteatum* Lindl. keine herabgekrümmten Knospen besitzt, sondern dieselben von Anfang an senkrecht nach oben streckt. Bei dieser Art würde der Fruchtknoten in abwärts geneigter Lage auch nicht in günstigere Belichtungsverhältnisse kommen, als wenn er in aufrechter Richtung wächst, da die laubige Aussenhülle unter der Knospe den Zutritt des Lichtes ebenfalls stark erschwert.

Öffnet man junge noch nicht nutirende Knospen, so dass der Fruchtknoten belichtet wird, so krümmen sie sich doch, sofern sie durch die Präparation nicht zum Absterben gebracht werden, in normaler Weise nach unten. Dies würde, wenn die hier geäußerte Ansicht über die biologische Bedeutung der Nutation richtig ist, darauf hinweisen, dass letztere weit in die Entwicklung der Art zurückreicht und zu den durch Vererbung fixirten Eigenschaften gehört und nicht ein Vorgang ist, der in enger Abhängigkeit von den äusseren Wachstumsbedingungen steht.

## II.

### Die hakenförmige Krümmung der Sprossenden von *Ampelopsis quinquefolia* Michx.

Auch diese Krümmung ist schon mehrfach Gegenstand der Untersuchung gewesen, ohne dass bisher ihre wahre Natur erkannt worden ist. Hofmeister (1863) lässt diese Beugung vorwiegend durch das Licht und nur nebenher durch die Schwerkraft hervorgerufen werden. Der Grund dieser Annahme ist, dass sich die Sprossenden häufig über die Lotlinie hinaus einkrümmen, und dass die Krümmung im Dunkeln mehr oder weniger ausgeglichen wird<sup>2)</sup>.

Dutrochet behauptete schon vorher (1837), dass die analogen Krümmungen bei *Vitis* und *Corylus* durch Lichtwirkungen zu Stande kämen<sup>3)</sup>.

Wiesner fasste sie zuerst (1878)<sup>4)</sup> als spontane Nutation auf und

1) l. c. pag. 116 ff.

2) Hofmeister, Ueber die durch die Schwerkraft bestimmten Richtungen von Pflanzentheilen. Pringsheim's Jahrbücher für wiss. Botanik III. 1863 pag. 110.

3) Dutrochet, De la tendance des végétaux à se diriger vers la lumière et de leur tendance à la fuir. Mémoire pour servir à l'histoire anatomique etc. Paris 1837.

4) Wiesner, Die heliotropischen Erscheinungen im Pflanzenreiche. Denkschriften der k. Akademie d. Wissensch. zu Wien. Bd. 39 (1879) pag. 150.

stellte sie den Krümmungen der Keimstengel der Dicotyledonen gleich. Später 1880<sup>1)</sup> führte er aus, dass dieselben verursacht werden durch das Eigengewicht der Sprossenden. Die nächst älteren Stengelglieder richten sich schwach negativ geotrop auf und neigen sich schwach positiv heliotrop dem Lichte zu. Das weiche, plastische Stengelende hängt in Folge dessen durch sein Gewicht nach der Lichtseite über. Zug und Druck induciren nun an den entgegengesetzten Seiten des sich beugenden Theiles neue Wachstumsverhältnisse; die Krümmung wird durch Zugwachsthum fixirt (geocentrische Krümmung).

Darwin giebt als die augenfälligste Erklärung der hakenförmig gekrümmten Spitzen von *Vitis*, *Ampelopsis*, *Cissus* die an, dass die Biegung Folge eines vermehrten Wachstums der convexen Seite entlang ist (spontane Nutation durch Epinastie). Das Gewicht des Theiles, sowie geotrope Beeinflussung kommt nur zuweilen als nebensächlich in Betracht. Dagegen soll bei *Ampelopsis hederacea* das Gewicht der Spitze bei der Hakenkrümmung eine bedeutungsvollere Rolle spielen (1880)<sup>2)</sup>

Wenn der wilde Wein eine Mauer oder einen Zaun bekleidet, so wachsen aus der Laubhülle die Sprossenden hervor und strecken die jungen Internodien oft weit hinaus dem Lichte entgegen. Im flachen, lose herabhängenden nach oben weit geöffneten Bogen erheben sie sich von den älteren durch Verholzung erstarrten Stengeltheilen. Wo die Pflanze den oberen Rand einer freistehenden Mauer oder einer Laube umhüllt, da beobachtet man sehr deutlich, dass die jungen Sprossenden strahlenförmig nach allen Himmelsrichtungen hervorwachsen, sich nicht nach einer bestimmten Seite zuwenden. Das letzte frei sichtbare Internodium trägt an seiner Spitze die Endknospe des Sprosses, welche von grossen, hellgrünen oft röthlich angehauchten, flach kahnförmigen schuppenartigen Blattgebilden, den Stipulen der Laubblätter eingehüllt wird. An der Funktion von Knospenschuppen nehmen nicht mehr Nebenblätter Theil als Laubblätter in der Knospe angelegt sind. Zu jedem Nebenblattpaar ist eine junge, sich später entwickelnde Laubblattanlage nachzuweisen.

In dieser Beziehung verhält sich also die Knospe von *Ampelopsis* ähnlich wie die von *Alnus* (*glutinosa*, *incana*, *pubescens*), wo die Stipulen des untersten in der Knospe befindlichen Laubblattes die Knospenschuppen bilden, letzteres aber selbst völlig ausgebildet ist<sup>3)</sup>.

1) Wiesner, Die heliotropischen Erscheinungen im Pflanzenreiche. ib. Bd. 43 (1882) pag. 28. Vergl. dazu Sitzungsber. K. Akad. d. Wiss. Wien, math. nat. Cl., 1. Abth. 81. Bd. pag. 16 und: Das Bewegungsvermögen der Pflanzen, Wien 1881 pag. 136, 150, und: Anatomie und Physiologie der Pflanzen, Wien 1890 pag. 293.

2) Darwin, The power of movement in plants, London, 1880. Deutsche Uebersetzung von Victor Carus, pag. 230, 231.

3) Goebel, Beiträge zur Morphologie und Physiologie des Blattes. Botanische Zeitg. 1880. (38) pag. 774.

Jenes letzte von Nebenblättern nicht verdeckte Internodium, bisweilen auch noch das vorhergehende nächst ältere, ist mit dem Sprossgipfel nach unten geneigt, während in dem oberen Ende des nach der Basis des Zweiges zu folgenden Internodiums die Abwärtskrümmung meist im scharfen halbkreisförmigen Bogen beginnt.

Das abwärts geneigte Ende hängt in der Regel vertikal nach unten; häufig ist es jedoch auch aus der Lothlinie heraus nach dem aufgerichteten Sprossende hin, bisweilen bis zur Schlingenbildung, eingekrümmt. Nur selten kommt es vor, dass die zuerst concave Unterseite der Krümmung stärker als die Oberseite zu wachsen anfängt, und dass dadurch das Sprossende schlingenförmig umgekrümmt wird. Aber auch in diesen Fällen werden schliesslich die jüngsten Internodien mit der Endknospe wiederum senkrecht nach unten gestellt.

Die Krümmung schreitet mit der Streckung der Internodien in der Endknospe immer gleichmässig mit vor, während das nach hinten folgende Internodium, das eben noch gekrümmt war, sich gerade streckt, so dass das wachsende Zweigende immer denselben Anblick bietet.

Die Gewebe der Internodien sind stark gespannt, das Mark positiv, Rinde und Gefässbündelschicht negativ. Am stärksten ist diese Spannung in der halbkreisförmigen Krümmung selbst; nach den jüngeren Internodien zu nimmt sie schneller ab, als nach den hinteren älteren.

Schneidet man die Endknospe ganz oder theilweise weg, oder verletzt dieselbe in irgend einer anderen Weise, so werden keine neuen Internodien von der Knospe aus eingeschoben, die Krümmung läuft bis an das Ende des Sprosses vor, und dieser ist dann in seinem ganzen Verlaufe gerade gestreckt. Indem sich seine Internodien schwach geotrop aufrichten, nimmt er die Form eines flachen nach oben geöffneten Bogens an. Diese Geradestreckung erfolgt je nach der Ausdehnung der Verletzung und der Lebensenergie des Sprosses in 4 bis 12 Tagen. Die kräftigsten Sprosse strecken sich am spätesten. Immer bleiben die aus einer verletzten Knospe noch hervorgehenden Internodien kurz, gestaucht. Man findet nicht selten an Hecken von *Ampelopsis* herabhängende Sprosse, deren Enden nicht gekrümmt sind. In solchen Fällen ist immer die Endknospe verdorrt, oder sonst wie beschädigt. Auch im Herbst, wenn die Pflanze das Wachstum einstellt, strecken sich die Zweigenden gerade. Dasselbe geschieht bei abgeschnittenen und in Wasser gestellten Sprossen.

Den Verlauf und die Intensität des Wachsthum für zwei gleichalterige Sprosse von *Vitis pterophora* Baker, welcher sich ebenso wie *Ampelopsis* verhält, giebt die folgende Uebersicht wieder. Die Sprossgipfel waren durch Wegschneiden einer Gewebepartie an der Spitze verletzt worden. Die unterstrichenen Zahlen bedeuten das Wachstum derjenigen Stelle, an welcher die halbkreisförmige Krümmung lag. (T im Mittel 22° C.)

Zweites Internodium unterhalb der Endknospe.		Erstes Internodium unterhalb der Endknospe.		Endknospe (das von Nebenblättern eingehüllte Sprossende)		Spätere Endknospe.	
Länge zu Beginn der Messungen in cm							
I.	II.	I.	II.	I.	II. <sup>1)</sup>	I.	II.
<u>2.4</u>	<u>2.6</u>	<u>1.3</u>	<u>1.2</u>	1.2	1.7		
Zuwachs in je 24 Stunden in mm							
0.2	0.1	<u>0.1</u>	<u>0.2</u>	0	0		
0.5	0.4	<u>0.2</u>	<u>0.3</u>	0.2	0.1		
0.5	0.6	<u>0.2</u>	<u>0.2</u>	0.1	0.2		
0.3	0.5	<u>0.4</u>	<u>0.5</u>	0.1 <sup>2)</sup>	0.1 <sup>2)</sup>		
0.1	0.6	<u>0.1</u>	<u>0.2</u>	0.1	<u>0.3</u>	0.1	0.4
0.5	0.2	<u>0.4</u>	<u>0.4</u>	<u>0.3</u>	<u>0.3</u>	0.0	0.0
0.3	0.4	<u>0.5</u>	0.2	<u>0.2</u>	<u>0.3</u>	0.1	0.3 <sup>3)</sup>
0.2	0	0.3	0.3	<u>0.3</u>	<u>0.3</u>	0.1	0.2
0		0.4	0.1	<u>0.2</u>	<u>0.1</u>	0.1	0.3
		0.6	0.6	<u>0.3</u>	<u>0.1</u>	0.2	<u>0.3</u>
		0.6	0.4	<u>0.2</u>	<u>0.2</u>	<u>0.3</u>	<u>0.4</u>
		0.3	0.1	<u>0.3</u>	<u>0.1</u>	<u>0.2</u> <sup>3)</sup>	<u>0.3</u>
		0.2	0.3	<u>0.5</u>	0.3	<u>0.1</u>	<u>0.1</u>
		0	0	0.2	0.2	<u>0.4</u>	<u>0.1</u>
				0.5	0.7	<u>0.4</u>	<u>0.9</u>
				0.5	0.4	<u>0.1</u>	<u>0.6</u>
				0.2	0.3	<u>0.0</u> <sup>4)</sup>	<u>0.2</u>
				0.3	0.1	0.2	<u>0.5</u>
				0.2	0.1	0.3	<u>0.6</u>
				0.1	0.2	0.1	<u>0.4</u>
				0	0	0	<u>0.3</u>
							<u>0.7</u>
							<u>0.8</u>
							<u>0.9</u> <sup>4)</sup>
							1.0
							0.8
							0.3
							0

1) I. Exemplar von gewöhnlicher Entwicklung, Endknospe zur Hälfte weggeschnitten,

II. sehr kräftiges Exemplar, nur die äusserste Spitze der Endknospe weggeschnitten.

2) Die Zahlen in dieser Columne geben von hier ab den Zuwachs des untersten bisher in der Knospe eingeschlossen gewesenen und nun gestreckten Internodiums an; der Zuwachs der nunmehrigen Endknospe ist in der vierten Columne verzeichnet.

3) Die von hier ab sich wieder aus der Knospe frei streckenden Internodien wurden mit dieser gemessen.

4) Der Spross war gerade gestreckt.

Eine schon oft beschriebene Folge des Gipfels ist auch bei *Ampelopsis* das Austreiben der in den Achseln der dem Sprossende zunächst liegenden Blättern stehenden Knospen. Es sind bei *Ampelopsis* in der Regel die ersten 4 bis 5 Kurztriebe (Geizen), welche sich kräftig zu Langtrieben entwickeln, alle an ihrem Ende mit einer hakenförmigen Krümmung. Einer derselben, meist nicht der oberste, sondern der zweite oder dritte überholt die übrigen und setzt den ursprünglichen Spross fort. Das Austreiben der Achselknospen bewirkt hier auch blosses Entblättern ohne Decapitation der Endknospe. Die Kurztriebe wachsen dann aus und entwickeln ihr unterstes Laubblatt sehr kräftig, so dass ein Ersatz für das abgeschnittene Blatt des Langtriebes geschaffen wird. In der Regel bewirkt eine seitliche Verletzung des Sprossgipfels ebenfalls eine Geradestreckung des Zweiges und ein Austreiben der Seitenknospen. Nur selten, und wenn die Verletzung sehr gering war, wird die Wunde geheilt, und der Spross wächst normal nitierend weiter.

Ist die Hakenkrümmung eine spontane Nutation, ist sie eine Lastkrümmung, oder eine geocentrische Krümmung, wird sie durch Geotropismus oder Heliotropismus verursacht?

Zunächst kann der Heliotropismus ausgeschlossen werden. Man beobachtet nicht selten Sprossenden, welche im tiefsten Schatten an der Fläche einer Mauer völlig verdeckt durch das Laub der darüber hängenden Zweige etiolirt wachsen, und dabei eine sehr starke Hakenkrümmung besitzen. Nicht selten auch wachsen die Sprossenden unter lose auf der Erde liegende Steine, sodass sie vom Lichte fast völlig abgeschnitten sind. Sie werden in solcher Lage stark etiolirt, nehmen gelbe und röthliche Farbe an, besitzen aber an ihrem Ende eine scharfe Umkrümmung. Genau so verhalten sich kräftige Sprosse, welche man unter eine geschwärzte Glasglocke oder in einen Dunkelkasten einführt. Die Hakenkrümmung bleibt hier immer scharf ausgebildet. Dagegen beobachtet man bei solcher Cultur im Dunklen nicht selten, dass dünne Sprosse ihr Wachsthum einstellen, sich gerade strecken und dass sich aus den Blattachsen die Kurztriebe entwickeln. Diese auf Unterdrückung des Längenwachsthums beruhende Geradestreckung der Sprossenden mag Hofmeister über die Art der Einwirkung des Lichtes getäuscht haben.

Dass die Hakenkrümmung keine Lastkrümmung ist, dass sie nicht durch das blosse Gewicht des Zweigendes verursacht wird, geht daraus hervor, dass dieselbe unverändert erhalten bleibt, wenn man den Spross umkehrt, so dass die Oeffnung der Krümmung nach oben zeigt; dass ferner häufig das herabhängende Ende über die Vertikale hinaus eingekrümmt ist, und dass das Gewebe an der Biegung nicht weich und schlaff, sondern starr und spröde und stark gespannt ist.

Wäre die Krümmung geocentrisch, so entstünde sie primär durch das Eigengewicht des Sprossendes als reine Lastkrümmung und würde dann durch Zug- und Druckwachsthum fixirt. Es wird dabei angenommen,

dass die convexe Oberseite der Krümmung durch das herabgeneigte Ende gedehnt wird, während auf die concave Innenseite aber gleichzeitig ein Druck ausgeübt wird, und dass diese Dehnung das Wachsthum steigert, der Druck aber dasselbe hemmt. Die gedehnte Seite wird hierbei also einmal durch Einlagerung von Baustoffen in ihrer Lage fixirt, andererseits aber erfährt sie ein erhöhtes Wachsthum. Die Folge davon ist, dass das herabhängende Zweigende bisweilen stärker nach innen eingekrümmt wird<sup>1)</sup>.

Dieser Anschauung steht die Thatsache gegenüber, dass ein wachsendes Organ nicht unerheblich gedehnt werden muss, damit eine Wachsthumbschleunigung eintritt.

Keimlinge von *Helianthus annuus* und *Linum usitatissimum* erfahren durch ein am Gipfel derselben mittels eines Fadens angebrachten und über eine Rolle geleiteten Gewichtes von 5 g überhaupt keine Dehnung. Die geringsten Gewichte, welche eine deutlich wahrnehmbare Dehnung und eine Steigerung des Längenwachsthums verursachen, sind bei Keimlingen von *Helianthus annuus*, *Fagopyrum esculentum*, *Tropaeolum majus*, *Linum usitatissimum*, *Cucumis sativus* 10 bis 15 g<sup>2)</sup>.

Die hängenden Enden von *Ampelopsis*, bis zum Gipfelpunkt der Krümmung genommen, wiegen bei sehr kräftigen Exemplaren, deren Stengeldurchmesser im Mittel 2.5 mm beträgt, im frischen, stark turgescenten Zustande nur 0.26 g (Mittel aus 5 Wägungen), Sprosse aber, welche annähernd dieselbe Dicke (2 mm) haben, wie das hypocotyle Glied der Keimlinge von *Helianthus annuus* (1.80 mm), wie sie bei *Ampelopsis* am häufigsten zu finden sind, wiegen nur 0.13 g (Mittel aus 6 Wägungen).

Dazu kommt folgender Versuch.

Ein normal gekrümmter kräftiger Zweig von *Ampelopsis* wurde so an einem Stabe befestigt, dass nur das ursprünglich abwärts geneigte Ende frei blieb, sich aber in horizontaler Lage befand. An der Spitze dieses 3.2 cm langen Sprossendes wurden mittels einer Schlinge Gewichte angehängt. Erst bei 1.1 g Belastung begann der Hebelarm sich eben abwärts zu neigen, bei 3.1 g stellte er sich vertikal nach unten.

Diese Verhältnisse sind jedenfalls der Annahme einer geocentrischen Krümmung nicht günstig. Widerlegt aber wird eine solche Vorstellung durch einen einfachen Versuch. Wie wir sahen, entwickeln sich an decapitirten Sprossen die obersten Kurztriebe zu Langtrieben.

Während normale Kurztriebe gestreckt bleiben, krümmen solche, die sich zu Langtrieben umwandeln, ihre Spitzen hakenförmig um. In ganz jungem Zustande aber sind auch sie gerade, sie krümmen sich erst, nachdem sie eine durchschnittliche Länge von 0.5 bis 1 cm (auch mehr) erreicht haben. Unterstützt man solche Triebe durch ein unter denselben befestigtes Stück Pappe oder dergleichen, sodass ihre Gewichtswirkung aufgehoben wird, so

1) Wiesner, l. c. de Vries, l. c. pag. 276.

2) Scholtz, l. c. pag. 332 ff.

krümmen sie ihr fortwachsendes Ende doch in normaler Weise nach unten. Sie wachsen ähnlich wie eine auf fester horizontaler Unterlage aufliegende Wurzel<sup>1)</sup>.

Die Endknospe aber ist nicht senkrecht nach unten gerichtet, sondern sie wird durch das Wachsthum der convexen Seite der Krümmung auf der Oberfläche der Unterlage hingeschoben. Häufig findet man auch Zweige des wilden Weines, welche auf der Erde aufliegen, und ihre Krümmung am Ende genau in der eben beschriebenen Weise ausgebildet haben, so dass also das sonst senkrecht nach unten hängende Sprossende horizontal auf dem Boden aufliegt.

Durch diese Beobachtung und den zuletzt beschriebenen Versuch, ist bewiesen, dass das Gewicht des Zweigendes an dem Zustandekommen der Hakenkrümmung keinen Antheil hat.

Um das geotrope Verhalten der Sprossenden zu bestimmen, wurden Versuche mit Hilfe des Klinostaten ausgeführt.

Diese Versuche sind mit Vorsicht zu deuten. Es wurden Stecklinge des wilden Weines in einen Topf eingepflanzt und an der horizontalen, dem Fenster parallel laufenden Achse in Rotation versetzt (eine Umdrehung in 20 Minuten; T. 20° C.). Diejenigen, welche nicht noch nachträglich abstarben, wurden gerade gestreckt. Ebenso aber waren auch die unter dem Einfluss der Schwerkraft wachsenden Controllexemplare (gleichalterige Stecklinge) gestreckt. Die Endknospen hatten sich nicht weiter entwickelt und durch das Austreiben der Kurztriebe waren die Stecklinge zu kleinen Büschen herangewachsen. Es ist also nicht sicher, ob die Geradestreckung der Pflanzen am Klinostaten durch die Aufhebung der einseitigen Wirkung der Schwerkraft, oder durch unterdrücktes Wachsthum der Endknospe verursacht worden war.

Sicheren Aufschluss über die Art des Geotropismus geben Sprosse, deren Enden in verkehrter Richtung befestigt werden (Fig. 18, 19, 20). Unter allen Umständen wird, sobald der Spross überhaupt noch beweglich bleibt, die Abwärtsstellung der jüngsten Internodien erreicht. Die Blätter solcher Zweige, die in einer von der normalen Lage abweichenden Richtung befestigt sind, nehmen in kurzer Zeit eine neue Lichtlage ein, und unter starken Torsionen (vergl. pag. 386), oft auch unter beträchtlicher Anschwellung der aus ihrer normalen Lage gebrachten wachsenden Theile, erfolgt die Abwärtskrümmung des Endes. Ebenso verhalten sich decapifirte Sprosse, solange sie noch wachsen.

Aus diesen Versuchen in Verbindung mit der Thatsache, dass das Gewicht keinen Einfluss auf die Krümmung ausübt, ergibt sich, dass dieselbe eine Erscheinung von positivem Geotropismus ist.

Durch den zuletzt beschriebenen Versuch wird gleichzeitig die Annahme zurückgewiesen, dass es sich um eine spontane Nutation handle; denn

1) Sachs, Ueber das Wachsthum der Haupt- und Nebenwurzeln. Arbeiten des Bot. Instituts in Würzburg. Bd. I (1874) pag. 447.

eine solche müsste immer in derselben Weise zum übrigen Körper der Pflanze gerichtet sein.

Der Sitz der positiv geotropen Reactionsweise liegt in dem halbkreisförmig gebogenen, stark gespannten Theile des Hakens. Das Sprossende selbst mit der Knospe wird passiv gerichtet. Indem der absteigende Ast der kreisförmigen Biegung sich genau senkrecht nach unten stellt, wird das nicht geotrop reizbare Ende des Sprosses häufig nach hinten zurückgeworfen und dem aufsteigenden Ende des Zweiges schlingenförmig genähert.

Die jungen Internodien, welche aus der Krümmung gerade gestreckt hervorgehen und die Verlängerung des Zweiges bilden, verändern mit dieser Streckung ihren Geotropismus. Sie werden schwach negativ geotrop und richten sich schräg nach oben auf. In Fig. 16 ist die Richtung eines durch Decapitation des Sprossgipfels sich zum Langtrieb entwickelnden Kurztriebes von *Vitis pterophora*, der in horizontale Stellung gebracht war, nach je 24 Stunden abgebildet. Die stärkere Linie giebt die Lage des Hauptsprosses an. Der junge Trieb wächst zunächst energisch positiv geotrop nach unten, und richtet dann die sich streckenden hinteren Internodien negativ geotrop auf.

Der negativ geotrope Zweigtheil ist gleichzeitig positiv heliotrop. Führt man die Enden von im Freien wachsenden Zweigen in den Lichtkasten ein (pag. 389), so krümmen sich die eben gestreckten Internodien, nach welcher Richtung auch die nutirenden Enden stehen mögen, dem Lichte zu. Eine so scharfe Lichtstellung wie sie die nutirenden Blütenstiele der *Papaver*-Arten bei einseitiger Beleuchtung einnehmen, wird aber nicht erreicht. Die Nutationsebene bei *Ampelopsis* stellt sich nicht in die Richtung des einfallenden Lichtes. Zeigt das nutirende Ende nach der dunklen Rückwand des Kastens, so wird dasselbe durch die heliotrope Krümmung der auf dasselbe nach unten zu folgenden Internodien ein wenig nach vorn dem Lichte entgegengezogen (Fig. 15).

Auch bei der Nutation von *Ampelopsis* scheint es sich darum zu handeln, die Zweigspitze in die günstigste Lichtlage zu bringen. Dass der Endknospe zu ihrer Entwicklung Licht zuträglich ist, beweist das oft zu beobachtende Verhalten der Sprossenden bei völligem Abschluss von Licht, wo die Knospe ihr Wachsthum einstellt.

Bei der Entwicklung unter normalen Verhältnissen wird durch das negativ geotrope und positiv heliotrope Verhalten der sich streckenden Internodien das Sprossende zunächst aus der Beschattung der Laubhülle der älteren Zweige an das Licht hervorgestreckt. Indem sich nun das vordere Ende des Sprosses positiv geotrop nach unten krümmt, wird die eine Seite desselben (die nunmehrige Oberseite) wie eine Blattfläche senkrecht zu den einfallenden Lichtstrahlen gestellt. Hierdurch wird die Lichtwirkung vollkommener ausgenutzt, die Zweigspitze stärker durchleuchtet, als wenn die Lichtstrahlen parallel der Wachsthumachse des Sprosses auf denselben einwirken.

Auch hier ist die Nutation durch Vererbung in den Entwicklungsgang der Art fest eingefügt. Sie tritt auch dann ein, wenn die Sprosse von allen Seiten gleichmässig beleuchtet werden, oder wenn sie im tiefen Schatten stehen.

*Vitis vinifera* scheint sich in allen Beziehungen wie *Ampelopsis* zu verhalten; jedoch habe ich mit dieser Pflanze nur unvollständige Versuchsreihen ausgeführt. Dasselbe gilt von *Micania*- und *Tropaeolum*-Arten mit nutirenden Zweigspitzen.

Es muss besonderen Untersuchungen vorbehalten bleiben, zu ermitteln, wie weit die im Pflanzenreiche so verbreiteten Nutationen der Enden vegetativer Sprosse oder von Blüten- und Inflorescenzstielen auf positivem Geotropismus beruhen, oder auf andere Ursachen zurückzuführen sind.

Die beschriebenen Richtungsverhältnisse der Knospentiele von *Papaver* und des Sprossendes von *Ampelopsis* bieten einen interessanten Fall von Anisotropie<sup>1)</sup> dar. Der eine Theil des Organs wächst in gerade entgegengesetzter Richtung, als der übrige Theil desselben; das obere und das untere Ende der Axe sind antitrop. Diese Antitropie ist verursacht durch ein entgegengesetztes geotropisches Verhalten der Theile der Axe. Bemerkenswerth dabei ist die Thatsache, dass dieselben Theile der Axe ihre Reactionsweise gegen die unverändert bleibende Einwirkung der Schwerkraft im Laufe ihrer Entwicklung verändern. Derjenige Theil, der eben noch positiv geotrop wuchs, gewinnt allmählig negativen Geotropismus und kehrt dadurch seine Wachstumsrichtung um.

Anisotropie an einem und demselben Sprosse derart, dass der fortwachsende Theil desselben seine geotrope oder heliotrope Reizbarkeit umkehrt, dann aber unverändert beibehält, solange die Richtung der Schwerkraft und des Lichtes zu seiner Wachstumsrichtung unverändert bleibt, ist keine seltene Erscheinung. Die Endknospe plagiotroper dorsiventraler Kletter- und Schwebesprosse des Epheus wandelt sich häufig plötzlich oder allmählich in einen orthotropen Spross um. Die dorsiventralen Ausläufer der Erdbeere liegen zuerst plagiotrop dem Erdboden dicht an, die Endknospe ist dabei bisweilen nach dem Erdboden zu schwach eingerollt. Plötzlich erhebt sich diese Endknospe und bildet einen orthotropen Spross aus. Der dorsiventrale und plagiotrope Thallus von *Marchantia* erzeugt unmittelbar aus seinen Vegetationspunkten orthotrope Archegonien- und Antheridienträger. Das hypocotyle Glied der Keimpflanze des Epheus, sowie das epicotyle Glied des *Tropaeolum*-Keimlings sind anfangs stark positiv heliotrop, später wenden sie sich von der Lichtquelle negativ heliotrop weg.

Durch die Schwerkraftwirkung bildet sich an den Blütenstielen von *Papaver* und an den Sprossenden von *Ampelopsis* in der Krümmungszone eine Oberseite und eine Unterseite aus; die Sprosse werden an dieser Stelle

<sup>1)</sup> Vgl. hierüber, sowie über das Folgende: Sachs, Ueber orthotrope und plagiotrope Pflanzentheile. Arb. d. Bot. Inst. in Würzburg Bd. II 1882 p. 226 ff.

dorsiventral. Diese durch eine bestimmte Anfangslage des Organs ausgebildete Dorsiventralität wird aber dem Organ nicht unveränderlich aufgeprägt; Ober- und Unterseite werden vielmehr vertauscht, sobald die Lage der Axe gegen die Schwerkraft umgekehrt wird. In dieser Beziehung verhält sich *Papaver* und *Ampelopsis* analog den plagiotropen Sprossen von *Hedera* und *Tropaeolum*. Hier wird immer die beleuchtete Seite der Axe zur Rückenseite, die beschattete Seite wird Bauchseite und zur Anlage von Wurzeln disponirt. Kehrt man bei unveränderter Lichtrichtung die Lage der Sprosse um, sodass die Wurzelseite beleuchtet wird, so gestaltet sich die frühere Rückenseite zur Bauchseite um.

Karlsruhe i. B., September 1891.

---

## Figurenerklärung.

- Fig. 1. *Papaver hybridum* L. Knospen am Ende von Seitensprossen hängen nach aussen am Umfange des Sprosssystems (pag. 377).
- Fig. 2. Nutirende Knospen von *P. dubium* L. (pag. 380).
- Fig. 3. *Papaver Rhoeas* L., stufenförmiges Wachstum des nutirenden Endes eines Knospenstieles (pag. 380).
- Fig. 4. *P. Rhoeas*, Schlingenbildung am nutirenden Ende (pag. 380).
- Fig. 5. *P. hybridum*, Lastkrümmung des Knospenstieles verursacht durch ein an der Knospe befestigtes Steinchen (pag. 382).
- Fig. 6. Gewebespannung im nutirenden Ende des Knospenstieles von *P. somniferum*. 1. der unverletzte Stiel; 2. derselbe nach Wegnahme des Rinden-Gefässbündelstreifens an der Oberseite; 3. nach Wegnahme des entsprechenden Streifens an der Innenseite der Krümmung; 4. der frei präparierte Markeylinder (pag. 378).
- Fig. 7. Verlauf der horizontalen (rotirenden) Nutation eines Blütenstieles von *P. somniferum* (pag. 392).
- Fig. 8. Verlauf des Wachsthumms an einem Stengel von *P. hybridum* (pag. 378).
- Fig. 9. *P. dubium* L. Krümmungen von Blütenstielen, die in ihrer freien Bewegung gehindert waren. Die Knospe war festgebunden, ebenso das untere Ende des Stieles. Die Anschwellung des sich geotrop richtenden Stengelstückes sowie dessen Torsionen sind deutlich zu sehen (pag. 385).
- Fig. 10. *P. hybridum*. Zwei Knospen, die in Erde wuchsen. Der Stiel ist an seinem vorderen Ende positiv geotrop gekrümmt (pag. 386).
- Fig. 11. Zwei der in Fig. 9 beschriebenen Knospen nach ihrem Aufblühen; Anschwellung und Torsionen am ursprünglich nutirenden Ende (pag. 385).
- Fig. 12. *P. hybridum*. Lichtstellung einer Knospe. Die untere Kante des Papiers giebt die Lage der schwarzen Hinterwand des Lichtkastens an (pag. 391).
- Fig. 13. Lastkrümmung eines etiolirten Knospenstengels von *P. Argemone* L. verursacht durch das Gewicht der Knospe (pag. 393). Spiritusexemplar.
- Fig. 14. Längsschnitt einer Knospe von *P. hybridum* (pag. 394).
- Fig. 15. Sprossenden von *Ampelopsis quinquefolia* mit positiv heliotropischer Krümmung dicht unter dem Ansatz des nutirenden Endes (pag. 402). Die Zweige waren zu Anfang des Versuches genau vertikal nach oben gerichtet.

- Fig. 16. Verlauf der Nutation eines Zweigendes von *Vitis pterophora* Baker, (pag. 402).
- Fig. 17. *P. hybridum*. Zwei Blütenstiele, deren Knospen an das nutirende Ende heraufgebunden wurden. Die Knospen werden zuerst in horizontale Ebene dann senkrecht nach unten gestellt (pag. 386).
- Fig. 18, 19, 20. Abwärtskrümmung eines in verkehrter Lage festgebundenen Sprossendes von *Ampelopsis quinquefolia*. 18. ursprüngliche Stellung; 19. die Zweigspitze wird horizontal gestellt; 20. dieselbe richtet sich positiv geotrop nach unten, die hinteren Internodien strecken sich negativ geotrop schräg nach oben (pag. 401).
- Fig. 21. Vorrichtung zur Bestimmung der heliotropischen Bewegungen und der horiz. Nutationen der nutirenden Blütenstiele von *Papaver* (pag. 389, 392).

Die Figuren sind verkleinert. Die Objekte wurden von Herrn F. Schmidt, Dozenten für Photographie und verwandte Fächer an der technischen Hochschule Karlsruhe photographirt.

# Ueber den radialen Saftstrom in den Wurzeln.

Von **Dr. Paul Siedler.**

Mit Tafel XV.

Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Landwirthschaftlichen Hochschule zu Berlin.

Noch ist es nicht gelungen die Bewegung des Wassers auf dem Wege von seinem Eintritt in den Organismus der Pflanze bis zu der Stelle seines Verbrauches direkt zu verfolgen. Man weiss bis jetzt nur, dass die Gefässe resp. Tracheiden die Vermittler der Wasserbahn sind, und dass der Saft, um zu diesen zu gelangen, das Parenchym der Rinde sowie einige andere Gewebe auf osmotischem Wege durchwandern muss.

Beim Nachdenken über diesen letzteren, also radialen und zwar centripetalen Saftstrom drängt sich uns die Frage auf, ob diese Uebertragung des Wassers von den Wurzelhaaren nach den Elementen der Rinde und von diesen nach denen des axilen Cylinders nur mittelst einer einfachen, continüirlich wirksamen Diösmose geschehe, oder ob die Wurzel vielleicht besondere Vorrichtungen habe, welche bestimmt sind, diese Thätigkeit überhaupt zu ermöglichen, einzuleiten und in das geeignete quantitative Verhältniss zu bringen?

Um dies zu ermitteln, untersuchte ich eine Anzahl von Wurzeln mit besonderer Berücksichtigung der Betheiligung der einzelnen Gewebe an der Zufuhr und Abgabe des Wassers.

Um bei den äussersten Geweben zu beginnen, so entstand zunächst die Frage, ob die Zellen der Epidermis vielleicht Vorrichtungen besitzen, welche verhindern, dass das einmal aufgenommene Wasser wieder in das Nährsubstrat zurücktreten kann. Dass letztere Erscheinung unter gewissen Umständen stattfindet, ist bekannt; giebt es doch überhaupt keine pflanzliche Membran, welche dem Austrocknen einen dauernden Widerstand entgegenzubringen im Stande ist. Die Epidermis der Wurzel hat aber die Aufgabe das Wasser festzuhalten, und zugleich die, dasselbe dem centripetalen Saftstrom zu übergeben. Beide Funktionen werden nicht durch mechanische Vorrichtungen unterstützt; es ist mir wenigstens nicht gelungen, solche zu

ermitteln. Die oft zu beobachtende grössere Wandstärke der äusseren Zellwand beweist nichts; denn da die verdickte Membran für das eintretende Wasser permeabel sein muss, so könnte sie auch den Austritt von Flüssigkeit gestatten; die erwähnten Fähigkeiten scheinen vielmehr ihre natürliche Erklärung in der durch fortlaufende Wasseraufnahme stetig wachsenden Turgescenz der Epidermiszellen zu finden, und ausserdem durch die chemischen Verschiedenheiten der Membranen einer und derselben Epidermiszelle unterstützt zu werden.<sup>1)</sup> Die Reactionen dieser weisen nämlich darauf hin, dass die innere Tangentialwand stets diejenige ist, welche der Osmose den geringsten Widerstand entgegenbringt; bei der Behandlung mit concentrirter Schwefelsäure bleiben die äusseren, wie die Radialwände, und mit diesen auch die Wurzelhaare, welche ja nur als Verlängerungen der Epidermiszellen zu betrachten sind, in den meisten Fällen erhalten, während die inneren Tangentialwände gewöhnlich gelöst werden. Auch bei der Behandlung mit Phloroglucin und Salzsäure habe ich mitunter ein verschiedenes Verhalten der einzelnen Membranen bemerkt; es wurde dadurch die innere Tangentialwand oft geröthet, während die übrigen Membranen ungefärbt blieben. Mit Thallin, Anilin und Kali färbten sich die äusseren und radialen Wände in der Regel intensiver als die inneren; bei der Behandlung mit plasmolytischer Flüssigkeit (Glycerin) wurden die Radialwände bisweilen wellig verbogen, die inneren nicht. Letzteres Verhalten erinnert an das der Endodermis, deren tangentiale, in der Jugend unter allen Umständen permeable Wände ebensowenig wie die tangentialen Epidermiswände eine Veränderung zeigen, während an den Radialwänden als Folge des Nachlassens der Spannung die Caspary'schen Punkte hervortreten.

Alle diese Erscheinungen dürften Beweise dafür bilden, dass die Innenwände der Epidermiszellen permeabler seien, als die übrigen; das einmal aufgenommene Wasser wird also bei einem Ueberdruck in den Zellen stets seinen Weg nach innen nehmen, in den Erdboden dagegen nur in ganz abnormen Fällen zurücktreten, welche letztere Möglichkeit durch Böhm<sup>2)</sup> an Pflanzen von *Helianthus annuus*, die in gewisser Höhe über dem Erdboden ihrer oberirdischen Gebilde beraubt worden waren, experimentell nachgewiesen worden ist.

Eine weitere Frage ist die, ob die Wurzelhaare, oder in den Fällen, wo die Epidermiszellen ihre Stelle vertreten, diese continuirlich oder nur periodisch funktionieren?

Das rasche Wachsthum der Wurzelspitzen und die damit verbundene schnelle Bildung der Haare, sowie das Absterben derselben nach relativ

1) Frank Schwarz (Wurzelhaare. Unters. aus dem bot. Institut zu Tübingen 1883. Band I, Heft 2) fand eine Verschiedenheit in den Schichten einer und derselben Membran der Wurzelhaare.

2) Berichte der D. Bot. Ges. Band 8, Heft 9.

kurzer Lebensdauer sprechen für die Annahme einer permanenten Funktion. Vergegenwärtigt man sich ferner ein an irgend einer Stelle des Pflanzenkörpers auftretendes Wasserbedürfniss, so gelangt man ebenfalls zu dem Resultat, dass die Reizleitung zur Befriedigung desselben sich kaum jedes Mal bis auf die Wurzelhaare erstrecken kann, und diese erst dann zu funktionieren anfangen werden, wenn sie einen Impuls dazu erhalten. Das Wasserbedürfniss der Pflanze wird bisweilen ganz plötzlich vermehrt, und sinkt wieder in so schneller Zeitfolge, dass auch aus diesem Grunde nicht anzunehmen ist, dass sich die Wurzelhaare diesen wechselnden Verhältnissen jedes Mal anzupassen vermögen. Es kommen daher im Leben der Pflanze bisweilen Stadien vor, in denen der gesammte Organismus mit Wasser übersättigt ist, so dass dieses einen Ausweg suchen muss, und in den bekannten Fällen, wo es sich in Form von Tropfen aus den Spitzen und dünnen Stellen der Blätter ergiesst, auch findet. Wo ein Ausfliessen jedoch nicht stattfinden kann, wird der im Innern des Pflanzenkörpers befindliche Ueberdruck der weiteren Aufnahme von Flüssigkeit und damit der periodischen Funktion der Wurzelhaare einen nicht zu überwindenden Widerstand entgegensetzen, und es kann dann sogar das von Frank Schwarz beobachtete Platzen der Wurzelhaare eintreten.

Solche anomale Fälle können aber die Regelmässigkeit der Wurzelarbeit nur gelegentlich beeinflussen, und brauchen hier nur oberflächliche Erwähnung zu finden.

Glauht man nun zur Annahme der ununterbrochenen Thätigkeit der unter den erforderlichen äusseren Bedingungen vegetirenden Wurzelhaare berechtigt zu sein, so folgt daraus, dass man nach Stellen suchen muss, welche ein Ansammeln des augenblicklich nicht gebrauchten Wassers ermöglichen, da das Wasserbedürfniss der Pflanze nicht zu allen Tageszeiten und unter allen Umständen dasselbe ist.

Es liegt nun die Vermuthung nahe, dass das parenchymatische Grundgewebe der Wurzel im Verein mit der Epidermis und den Haaren, welche ja bisweilen recht beträchtliche Lumina besitzen, dem Zwecke der Wassersammlung vollkommen entspreche, da in den elastischen Zellen dieser Organe Turgescenzänderungen nach Bedürfniss vorsichgehen können. Bei *Beta*, *Campanulaceen* und gewissen *Compositen* ist auch ein besonderes Saftparenchym nachgewiesen worden, welches de Bary<sup>1)</sup> mit folgenden Worten beschreibt: „Im Gegensatz etc. finden sich andere dünnwandige Parenchymzellen, in welchen innerhalb eines sehr zarten und schwach entwickelten Protoplasmas alle festen und geformten Bestandtheile bis zum völligen Fehlen zurücktreten gegen wässrigen oder dünnen Schleim enthaltenden, fast die ganze Zelle erfüllenden Zellsaft. Man kann sie hiernach „Saftparenchym“ nennen.“ — „Es tritt besonders massenhaft auf in

1) De Bary, vergleichende Anatomie der Gewächse pag. 123.

chlorophyllfreien, Inulin und Zucker reichlich enthaltenden Theilen, wie Knollen und Wurzeln von *Compositen*, *Campanulaceen*, *Beta* u. a. m.“

Unterliegt nun die wasserspeichernde Fähigkeit dieser Gewebearten keinem Zweifel, so glaube ich eingehenden Untersuchungen zufolge in vielen Fällen doch noch einem besonderen vom übrigen Rindenparenchym scharf differenzirten Gewebe ganz besonders die Funktion der Regulirung des centripetalen Saftstromes zuzusprechen zu müssen.

Das fragliche Gewebe besteht aus der unter der Epidermis liegenden, in vielen Fällen ausserdem auch noch aus der nächstinneren, bisweilen auch noch aus einer dritten, vierten und fünften hypodermalen Zellschicht (Fig. 1, 4, 5, 7). Dieses „Wurzel-Hypoderma“<sup>1)</sup>, wie ich das Gewebe kurz bezeichnen will, charakterisirt sich durch folgende Merkmale: Die Zellen desselben stehen untereinander, sowie mit der Epidermis und der inneren Grenzschicht in lückenlosem Verbinde.

Sie sind radial gestreckt, und grösser als die des angrenzenden Rindenparenchyms. Ihre Wände sind gradflächig, in oberen Wurzelregionen widerstandsfähiger als die des übrigen Rindengewebes. Ihr Bau ist sehr regelmässig und zeigt auf dem Querschnitt meist die Gestalt eines Sechsecks, dessen radiale Wände länger sind als die übrigen.

Die Membranen bestehen schon in frühester Jugend aus anderer Substanz als die des übrigen Parenchyms, also nicht aus reiner Cellulose, sondern, den angestellten Reactionen zufolge, aus Stoffen, welche sich mitunter holzähnlich, mitunter korkähnlich verhalten, gewöhnlich aber eine Mischung mehrerer zu sein scheinen. In concentrirter Schwefelsäure sind sie (nebst den Haaren, der Epidermis und der Endodermis) bei vielen Wurzeln schon dicht über dem Vegetationspunkte unlöslich, bisweilen löst sich nur die Innenwand, meist entsteht damit eine Wellung wie die an der zartwandigen Endodermis bei gleicher Behandlung schon oft beobachtete.

Die Verschiedenheit der Membransubstanz tritt meist im späteren Alter der betreffenden Wurzeln noch deutlicher hervor. Das Hypoderma übernimmt dann gewöhnlich mechanische Funktionen. Juel<sup>2)</sup> äussert sich hierüber folgendermassen: „Im Allgemeinen scheint auch bei diesen Wurzeln die „epidermoïdale Zellschicht“ eine schützende und relativ impermeable Scheide zu sein. Ihre Wände sind nämlich meist etwas verdickt, wenigstens die äusseren tangentialen, die radialen und die horizontalen. Die epidermoïdale

1) Mit dem Namen „Hypoderma“ sind bisher so verschiedenartige Organe bezeichnet worden, dass ich die Unsicherheit desselben abstellen und ihn zur Präcisirung des fraglichen Gewebes benutzen zu dürfen glaube. Vide: Pfitzer: Beiträge zur Kenntniss des Hautgewebes. Pringsh. Jahrb. VIII, pag. 54. Vuillemin bezeichnet gewisse subepidermale Zellschichten mit: Exodermis.

2) Juel, Hauptgewebe der Wurzeln. Meddelanden fran Stockholms Högskola N. 18. 1884,

Zellschicht wird von concentrirter Schwefelsäure nicht gelöst. Auch die Epidermis widerstand im Allgemeinen dieser Säure.“

Die Ansicht Juels, dass die subepidermale Schicht eine schützende Scheide darstelle, ist für ältere Stadien der Wurzel zweifellos richtig; wenn aber die Unlöslichkeit einer Membran in concentrirter Schwefelsäure als Beweis für ihre relative Impermeabilität gelten soll, so gehen meine Beobachtungen dahin, dass dies keineswegs in allen Fällen zutrifft. Da sich, wie schon erwähnt, gewisse jugendliche Membranen, bisweilen sogar ganze Querschnitte in einem Stadium des Wachstums gegen Schwefelsäure resistent erwiesen, in welchem die Aufnahme des Saftes aus dem Boden erfolgen muss, die betreffenden Organe daher einer sehr grossen Permeabilität bedürfen. Die spätere schützende Funktion des Hypoderma hindert dasselbe daher nicht, in jugendlichen Stadien zur Speicherung des Saftes zu dienen.

Auch durch seinen Inhalt unterscheidet sich das fragliche Gewebe wesentlich von dem benachbarten. Das Protoplasma ist meist auf einen sehr dünnen, unentbehrlichen Primordialschlauch reduziert, in welchem der Zellkern schwer zu ermitteln ist. Wo das Grundparenchym der Rinde Stärke enthält, bleiben die Zellen des Hypoderma gewöhnlich davon frei. Sie machen den Eindruck, als seien sie nur mit Wasser erfüllt und befänden sich unter hydrostatischem Druck.

Die äusserste Schicht des Hypoderma, also die der Epidermis anliegende, besteht bei manchen Wurzeln, z. B. bei denen der *Orchideen* aus verschieden gebauten Zellen; es wechseln in diesen Fällen auf dem tangentialen Längsschnitt lange und kurze Zellen ziemlich regelmässig miteinander ab (Fig. 2). Juel fand diesen Bau besonders bei *Liliaceen*, *Smilaceen*, *Amaryllideen*, *Primulaceen* und anderen; in den Luftwurzeln der *Orchideen* ist die subepidermale Schicht von Oudemans<sup>1)</sup> und Leitgeb<sup>2)</sup> näher beschrieben worden. Die kurzen Zellen unterscheiden sich hinsichtlich ihres Inhaltes nicht unwesentlich von den längeren. Während in diesen gewöhnlich nichts als ein ganz schwacher Primordialschlauch zu sehen ist, enthalten erstere reichlich Protoplasma und Baustoffe, von denen ich besonders Stärke und Oeltröpfchen bemerkte.

Diese Verschiedenheit des Inhaltes lässt auf verschiedenartige Funktionen schliessen, welche auch von den angeführten Autoren in dem hypodermalen Gewebe vermuthet worden sind.

Es lag nahe, diese Schicht mit der „Hülle“ der Luftwurzeln der Orchideen zu vergleichen, deren wassersammelnde Fähigkeit wohl über jeden Zweifel erhaben ist. Man stellte die kurzen Zellen jener den Durchgangsstellen dieser gegenüber, und schrieb ihnen ähnliche Funktionen zu, zumal

1) Oudemans, Ueber den Sitz der Oberhaut bei den Luftwurzeln der Orchideen. Verh. d. Kon. Akad. d. Wetensch. in Amsterdam. 9. Decemb. 1861.

2) Leitgeb, Die Luftwurzeln der Orchideen. Denkschr. d. Akad. d. Wissensch. in Wien. 24. Bd. 1865.

bei *Ruscus* und anderen Pflanzen eine im späteren Alter der Wurzel stattgefundene Verdickung einiger unter den kurzen Zellen liegenden Parenchymzellen, bei anderen eine nachträgliche Verdickung der Aussenwände der kurzen Zellen, bei noch anderen eine spätere Verdickung der inneren Epidermiswände über den kurzen Zellen bemerkt wurde, und man in dieser Verdickung einen mechanischen Verschluss ehemaliger Durchgangsstellen erblickte.

Die Regelmässigkeit dieser Erscheinung ist jedoch noch keineswegs erwiesen, auch habe ich in älteren Stadien fast aller untersuchter Wurzeln, gleichviel ob dieselben nur einerlei oder verschiedenartige Zellen im Hypoderma hatten, eine geringe Verdickung der äusseren Wände der subepidermalen Schicht bemerkt, und kann dieser Erscheinung keine andere Bedeutung zuschreiben, als die einer mechanischen Schutzvorrichtung gegen äussere Einflüsse. Es ist bekannt, dass die Epidermis vieler Wurzeln im späteren Alter collabirt, und die subepidermale Schicht dann die schützende Funktion jener übernehmen muss; im Hinblick hierauf ist es natürlich, dass sich diese schon in früheren Stadien durch Verstärkung ihrer Aussenwände auf diesen Beruf vorbereitet.

Juel sagt in Bezug auf die Durchgangsstellen sehr richtig: „Wenn Durchgangsstellen für Wasser in dieser Scheide sein sollen, dürften sie nahe der Spitze zu suchen sein; denn weiter von der Wurzelspitze dürfte die Epidermis das Vermögen, Wasser aufzusaugen, verlieren und die epidermoïdale Zellschicht ganz impermeabel sein. Ich habe in dieser Rücksicht junge, von Haaren dicht bedeckte Wurzeln von *Agapanthus umbellatus*, *Clivia miniata* und *Ruscus aculeatus* untersucht, habe aber nicht finden können, dass die Wände der kurzen Zellen dünner sind, oder weniger den Säuren widerstehen, als die langen.“

Schliesslich gelangt Juel zu folgendem Resultate: „Es geht aus dem vorstehenden hervor, dass man noch nicht bewiesen hat, dass die kurzen Zellen der epidermoïdalen Schicht bei unterirdischen Wurzeln Durchgangsstellen für Wasser sind. Ich muss aber gestehen, dass ich keine andere Deutung der eigenthümlichen Differenzirung dieser Zellschicht habe ersinnen können.“

Auch nach meiner Ansicht ist es nicht unberechtigt, diese Erscheinung mit der radialen Saftleitung in Verbindung zu bringen, doch komme ich zu umgekehrten Resultaten wie die genannten Autoren. Mit Rücksicht auf den oben beschriebenen Inhalt der betreffenden Zellen scheint es mir nämlich zweifellos, dass die langen Zellen zur Aufnahme und Speicherung des Saftes, die kurzen zu der der plastischen Baustoffe dienen, welche für die Ernährung des Hautgewebes der Wurzel nothwendig sind. Auch die bisweilen beobachtete Erscheinung der Wellung der Wände der langen Zellen (Fig. 2, 3), während die der kurzen bei der Präparation unverändert bleiben, dürfte bei der Entscheidung der Frage, welche von beiden Zellarten speciell der Saftleitung diene, zu Gunsten der längeren ausfallen.

Für die Luftwurzeln der *Orchideen* ist, wie schon erwähnt, die wasser-sammelnde Eigenschaft gewisser Zellschichten allgemein bestätigt; gesteht man dieselbe den Hypodermazellen der unterirdischen Orchideenwurzeln ebenfalls zu, so ist damit auf Grund der allgemeinen Analogieen der Wachsthumsercheinungen auch die Möglichkeit derselben Funktion bei Wurzeln mit nur einerlei Zellen enthaltendem Hypodermis nicht ausgeschlossen.

Als einen ferneren Beweis für die wasserspeichernde Fähigkeit des Hypodermis könnte man die bisweilen beobachtete Erscheinung der Wellung der radialen Zellwände ansehen. Schon Nicolai<sup>1)</sup>, welcher die unter der Epidermis liegende Zellschicht mit dem Namen „Endodermis“ bezeichnete, sagt: „Ihre radialen Wände zeigen bisweilen Wellung.“ Juel bestätigte dies bei *Ruscus aculeatus*, *Ruscus Hypoglossum*, *Narcissus poeticus*, *Narcissus Tazetta*, *Galanthus nivalis*; ich füge noch *Bromelia longifolia*, *Iris germanica*, *Phlox paniculata* und *Epipactis sylvestris* hinzu. Es ist erklärlich, dass bei Abgabe von Flüssigkeit aus einer Zelle die Spannung der Wände nachlässt, und diese bei fortwährendem Wasserverlust sogar blasebalgähnlich verbogen werden können, wie in einem gewissen Gewebe der Blätter von *Peperomia*-Arten durch Westermaier überzeugend nachgewiesen worden ist.

Van Wisselingh<sup>2)</sup> hat die Differenzirung der subepidermalen Schicht ebenfalls einer Bearbeitung unterzogen. Nach ihm unterscheidet sich die „äussere Endodermis“, wie er das Gewebe nennt, von der „inneren“ dadurch, dass ihre Wände gleich in der ganzen Ausdehnung verkorkt werden; auch hat er bemerkt, dass sie bisweilen (bei *Luzula silvatica*, *Andropogon muricatus*, *Hemerocallis Kwanza* u. A.) mehrschichtig sei, und endlich ist ihm ihre an manchen Wurzeln auftretende Differenzirung in lange und kurze Zellen nicht entgangen.

Gelangt man nun nach Zusammenfassung aller erwähnter Momente zu der Folgerung, dass die Zellen des Hypodermis das von den Wurzelhaaren continuirlich aufgesogene Wasser so lange aufzuspeichern im Stande sind, bis ein Bedürfniss zur Abgabe desselben an sie herantritt, so ist andererseits zu beachten, dass ein Hineinpressen von Wasser in das innere Gewebe, ähnlich wie vom Holzparenchym in die Gefässe nicht stattfinden kann, da die Rindenzellen ja individuell abgeschlossene Organe sind, die einem so gewaltsamen Eindringen energischen Widerstand entgegenbringen würden; es scheint vielmehr einzig mittelst eines vermehrten Turgors in dem Raume einer und derselben Zelle ein bald grösseres, bald geringeres Quantum von Saft zusammengehalten zu werden, dessen Ueberschuss jederzeit nach Bedarf an das innere Gewebe abgegeben werden kann.

1) Nicolai, Das Wachsthum der Wurzeln. Schriften der phys. ökonom. Ges. zu Königsberg 1865.

2) Van Wisselingh, Sur l'endoderme. Arch. néerlandaises. Bd. XX.

Die feinsten Verzweigungen mancher Wurzeln zeigen ein wesentlich anders gebautes Rindengewebe, als das ihrer zugehörigen stärkeren Wurzeln. Eine Differenzirung in hypodermatische und gewöhnliche Parenchymzellen ist in diesen Fällen nicht vorhanden, sondern nur ein lückenlos verbundener Ring keilförmiger Zellen, dem bisweilen noch ein zweiter und dritter aus ebensolchen Zellen folgt (Fig. 6a und b). Es fragt sich nun, welcher Art des Rindengewebes diese Formation entspricht. — Da die grösste Anzahl der Wurzelhaare stets an den jüngsten Particen der feinsten Wurzelverzweigungen zu suchen ist, so können diese wohl hauptsächlich als wasser-aufnehmend betrachtet werden, während das Rindenparenchym der stärkeren Wurzeln mehr zur Ansammlung der Baustoffe dient. Es lag daher die Vermuthung nahe, dass das geringe Parenchym der feinen Nebenwurzeln dem Hypoderma der stärkeren Wurzeln entspräche, zumal der lückenlose Verband und der geringe plastische Inhalt darauf schliessen lassen. Die Behandlung der Schnitte mit concentrirter Schwefelsäure bildet einen ferneren Beweis für die Richtigkeit dieser Annahme, da in den meisten Fällen das fragile Gewebe dadurch kaum angegriffen wurde.

In dem das Hypoderma nach innen begrenzenden Gewebe zeigen sich bisweilen ebenfalls Einrichtungen, welche den radialen Saftstrom beeinflussen. So findet sich bei vielen Wurzeln z. B. bei *Panicum miliaceum*, *Carex hirta*, *Zea Mais*, *Bromelia longifolia* und anderen (Fig. 1, 4, 7) unter dem Hypoderma ein mehrschichtiger Ring kleinzelligen Gewebes, dessen einzelne, ebenfalls lückenlos miteinander verbundene Elemente sich allmählig verdicken und schliesslich nur mechanischen Functionen zu dienen scheinen. Sie zeigen dann gewöhnlich korkähnliche Reactionen, aus welchem Grunde dieses Gewebe von Juel<sup>1)</sup> mit „Suberoïd“ bezeichnet wird.

Nach meinen Beobachtungen bleiben bisweilen, z. B. bei *Maranta arundinacea* und *Bromelia longifolia* (Fig. 7, 4) einzelne Stellen des Ringes noch lange Zeit dünnwandig und bilden dann echte für den Austausch des Saftes bestimmte Durchgangsstellen, ähnlich denen der verdickten Endodermis. In anderen Fällen lassen sich solche Durchgangsstellen nicht finden; es muss dann angenommen werden, dass die Membranverdickungen des Suberoïdgewebes so lange permeabel bleiben, wie ein Saftaustausch nöthig ist.

Es will mir scheinen, als sei die Bildung und Beschaffenheit dieses Gewebes nicht ganz unabhängig von äusseren Einflüssen, von der Zusammensetzung des Nährsubstrates, von der Art und Weise der Cultur der Pflanze u. s. w., und ich behalte mir ein näheres Eingehen auf diese Verhältnisse an dieser Stelle vor.

Überall, wo dieser kleinzellige Schutzring vorhanden ist, tritt das Hypoderma sehr klar und deutlich hervor. Die Wahrscheinlichkeit der wasser-

1) Auf Grund des von Olivier, Recherches sur l'appareil tégumentaire des racines. Ann. d. sc. nat. 6. sér. 11. t. 1881, pag. 58 gesagten.

speichernden Eigenschaft desselben vergrössert sich daher im Hinblick auf diese Erscheinung; denn wenn die Zellen des Hypoderma denselben Funktionen zu dienen hätten, wie ihre inneren Nachbarinnen, so läge ein Grund zu ihrem anders gestalteten Bau nicht vor.

Auch das innerste Grundparenchym der Rinde zeigt Eigenthümlichkeiten, welche mit dem radialen Saftstrome zusammenhängen; doch ist es hier nur die Anordnung der Elemente, welche in Betracht kommt. Ich bemerkte zwei verschiedene Formen des Verbandes: erstens, streng radial gestellte Zellen, deren also je vier einen Intercellularraum bilden, und zweitens: einen derartigen Verband, bei welchem immer je drei Zellen einen Zwischenraum einfassen.

Die erste Ordnung traf ich bei allen untersuchten Wasserpflanzen, (mit Ausnahme der ein ganz anomales Rindengewebe besitzenden, wie *Acorus Calamus*, *Sagittaria sagittifolia*, die letztere mehr bei den Bewohnern festen Bodens an.

In dem fraglichen Gewebe der Wasserwurzeln traf ich ausserdem meist grosse Lücken an, welche von radialen Zellstreifen begrenzt waren. Die Entstehungsweise dieser Cavernen ist die, dass zunächst ein Auseinanderweichen der betreffenden Zellstreifen stattfindet, und die so entstandenen Lücken durch Zerreißen der benachbarten Membranen vergrössert werden (Fig. 5).

Durch das unversehrte Erhaltenbleiben einiger radialer Zellstreifen ist der radiale Saftstrom immer gesichert. In allen Fällen zeigten sich ausserdem die beiden innersten Zell-schichten rings um die Endodermis vollkommen erhalten, und auch bei den erwähnten Wurzeln mit anomalem Rindengewebe hatten diese die Gestalt und Anordnung gewöhnlicher isodiametrischer Parenchymzellen. Diese beiden Factoren müssen daher wohl für die Vermittelung des Saftstromes nothwendig sein, worauf meines Wissens bis jetzt noch nicht aufmerksam gemacht worden ist.

Die Bedeutung des Endodermisringes für die Leitung des Saftes ist von Schwendener<sup>1)</sup> erschöpfend dargestellt worden; auf einen Punkt möchte ich an dieser Stelle jedoch noch hinweisen, welcher bisher noch nicht besprochen worden ist. Die Verdickungen der Endodermiszellen beginnen bekanntlich nicht gleich über dem Vegetationspunkte, sondern erst in einer gewissen Höhe der Wurzel. Nach abgeschlossenem Längenwachsthum dieser bilden sich jedoch auch an den unteren, bisher dünnwandigen Stellen Verdickungen, sodass die Region derselben alsdann schon dicht über der Spitze beginnt.

Was die Art und Weise der Verstärkungen der Zellwände der Endo-

<sup>1)</sup> Schwendener, Die Schutzscheiden und ihre Verstärkungen. Abhandl. d. K. Akad. d. Wissensch. Berlin 1882.

dermis mit ihrer Tüpfelung und Freilassung von Durchgangsstellen, sowie die chemische Beschaffenheit ihrer Membranen in Bezug auf die Erreichung der verschiedenen Zwecke der Festigung, des Schutzes und der Saftleitung anbetrifft, so herrscht eine solche Mannigfaltigkeit der Erscheinungen, dass ich es für zweckmässiger halte, dieselben von Fall zu Fall zu besprechen, als hier schon alle Möglichkeiten zu erwähnen. Es sei nur bemerkt, dass in keiner Wurzel, so lange das Rindengewebe noch vegetirt, durch die Endodermis dem Austausch des Saftes ein Hinderniss erwächst. Ist die Membran der Endodermiszellen ringsum verdickt, so zeigt sie wenigstens Tüpfelung, welche zur Ermöglichung des Wassertransportes beiträgt; sind Durchgangsstellen vorhanden, so ist die Bildung von Poren nicht nothwendig, in vielen Fällen aber dennoch vorhanden.

Ebenso wie die Endodermis spielt auch das Pericambium bezüglich der Wasserleitung eine mehr negative Rolle. dürfte in manchen Fällen für diesen Zweck sogar vollkommen entbehrlich sein, wie das Beispiel von *Scirpus lacustris* zeigt, wo die primären Gefässe unter Durchbrechung des Pericambiums bis direct an die Endodermis reichen. Andererseits ist es jedoch der Leitung des Wassers selbst in den Fällen nicht hinderlich, wo seine Membranen sklerotisieren; es bilden sich dann stets Tüpfel, welche mit den correspondirenden der verdickten Endodermiszellen zu Porenkanälen werden, die dem Saftaustausch ihre bequemen Bahnen offenhalten.

Was die Uebertragung des Saftes nach den Gefässen betrifft, so ist das Bestreben der Gefässstrahlen gewisser Wurzeln zu erwähnen, sich am Pericambium nach beiden Seiten auszubreiten, dem herantretenden Saft mithin eine möglichst grosse Absorptionfläche darzubieten, während bei anderen Wurzeln die Strahlen mit einem einzigen Gefäss am Pericambium beginnen, aber dann an den Flanken von saftleitendem Gewebe begrenzt sind.

Charakteristisch für viele Wurzeln ist auch der Umstand, dass — im Gegensatze zu den Bündeln des Holzes der Stämme, in denen das die Gefässe seitlich begrenzende Parenchym dünnwandig bleibt — die analoge Zellschicht der Wurzeln das Bestreben hat, zu verholzen, wobei gewöhnlich Tüpfelung eintritt.

Im Innern des Gefässbündelcylinders der Monocotyledonenwurzeln bildet sich vielfach ein Gewebe mechanischer Zellen aus, dessen Elemente bisweilen zwischen Sieb- und Holztheil hindurchgehend, bis an das Pericambium heranreichen. Durch diese Elemente würde nun der Saftaustausch zwischen Xylem und Phloëm unterbrochen werden, wenn sich nicht sporadisch dünnwandig gebliebene Elemente fänden, welche denselben wiederherstellen.

Diese Erscheinungen sind in den meisten Monocotyledonenwurzeln in höherem oder geringerem Grade anzutreffen und von Reinhardt <sup>1)</sup> speziell für Musaceen und Palmen bearbeitet worden.

<sup>1)</sup> Reinhardt, Das leitende Gewebe einiger anomaler gebauten Monocotylenwurzeln. Pringsh. Jahrb. für wissenschaftl. Botanik, Bd. XVI. Heft 3.

Die Anordnung der Gefässe zum Siebtheil, sowie die der übrigen Elemente des axilen Cylinders bieten hinsichtlich des radialen Saftstromes wenig bemerkenswerthes.

Als wichtiges Moment für die Versorgung der Wurzel mit Wasser ist noch des Auftretens von Mycorrhizen zu erwähnen, deren Fähigkeit, den gesammten Organismus der Pflanze mit der nöthigen Flüssigkeit zu versorgen, zuerst von Frank<sup>1)</sup> erkannt worden ist. Im Laufe der Untersuchungen sind mir Mycorrhizen vielfach begegnet, und, ohne mich mit denselben näher zu beschäftigen, fiel auch mir die bekannte Erscheinung auf, dass an denjenigen Wurzelstellen, welche mit dem Pilze behaftet waren, Haare nur spärlich oder garnicht aufzufinden waren, sodass der Wurzelpilz geeignet sein muss, die Arbeit der Haare voll und ganz zu übernehmen.

Hieran möchte ich noch einige Bemerkungen über die chemische Beschaffenheit einiger Zellenmembranen in Bezug auf ihre Permeabilität knüpfen.

Bei den vielen Versuchen, welche ich mit den betreffenden Wurzelschnitten anstellte, war ich mitunter über das völlig unerwartete Verhalten der einzelnen Organe den verschiedenen Chemikalien gegenüber überrascht. Besonders waren es die Epidermis mit den Haaren, das Hypoderma und die Endodermis, deren Reactionen es in vielen Fällen unmöglich machten, die Substanz der betreffenden Membranen mit den uns bisher als zellwandbauend bekannten Stoffen zu identifiziren, indem meist eine Combination der Eigenschaften zweier oder mehrerer der letzteren beobachtet wurde. Es handelte sich in den untersuchten Fällen um lebende unverdickte Membranen, welche sich noch im imbibitionsfähigen Zustande befanden und trotzdem Reactionen zeigten, welche denen des Korkes ähnlicher waren, als denen des Holzes und der Cellulose. Die oben genannten Gewebe besaßen beispielsweise schon in sehr jugendlichen Stadien eine ungemaine Resistenz gegen Schwefelsäure wie Chromsäure, und färbten sich mit allen möglichen Substanzen, so auch mit allen Korkreagentien ohne Schwierigkeit. Da nun sowohl Haare, als Epidermis und Endodermis der Wurzeln im jugendlichen Alter permeable Organe sein müssen, mit dem Begriffe der Verkorkung jedoch gewöhnlich der einer relativen Impermeabilität verbunden wird, so ergibt sich hieraus eine Unsicherheit für die Kenntniss der Substanz der erwähnten Membranen, welche aufzuklären, und damit zugleich auf die physiologische Bedeutung dieser im Pflanzenreiche so allgemein verbreiteten Erscheinung ein Licht zu werfen, ein verdienstvolles Werk eines Meisters der microchemischen Forschung wäre.

Im Laufe dieser Arbeit finden sich öfters die Ausdrücke „im späteren Alter“ und „in höheren Regionen der Wurzel“. Mit diesen Bezeichnungen

1) Frank, Berichte d. D. bot. Ges. 1885. Heft 4 u. 11; 1887 Heft 8; 1888 Heft 7.

ist das Stadium gemeint, in welchem die Wurzel kein Wasser mehr von aussen aufnimmt, daher nicht mehr ein centripetaler, sondern nur noch ein centrifugaler Saftverkehr stattfinden kann. Es wäre vielleicht präciser gewesen, diese Stellen in ausgemessenen Entfernungen über der Wurzelspitze auszudrücken, was auch bisweilen geschehen ist; doch würde in Anbetracht der verschieden grossen Wachstumsenergie der Wurzeln verschiedener Individuen derselben Art diese Angabe sich jedesmal nur auf den Einzelfall beziehen können. Mit obigen Bezeichnungen ist dagegen ein ganz bestimmtes Lebensstadium der Wurzel gemeint, welches irrthümliche Deutungen ausschliesst.

Die einfachsten nur zur Aufnahme des Wassers bestimmten unterirdischen Organe, denen wir im Pflanzenreiche begegnen, die Rhizoïden der Moose<sup>1)</sup>, haben mit den echten Wurzeln weniger Aehnlichkeit, als mit den Haaren derselben, deren Funktionen sie thatsächlich in den Regionen ihrer Spitzen übernehmen, wo sie mit den kleinen Bodentheilen in der charakteristischen Weise wie jene verwachsen. Da das Rhizoïd auf dem Querschnitt aus nur einer einzigen Zelle besteht, so kann hier von einem radialen Saftstrom natürlich nicht die Rede sein, und ich beschränke mich an dieser Stelle auf die Erwähnung ihrer braunen Farbe, welche mit der Färbung der Haare der Gefässeryptogamenwurzeln übereinstimmt, und gleich dieser durch Stoffe hervorgebracht werden muss, welche der Aufnahme des Wassers nicht hinderlich sein können.

### Gefäss - Kryptogamen.

Die Wurzeln der Gefäss-Kryptogamen zeigen als charakteristisches Merkmal eine Braunfärbung der Membranen und bisweilen auch des Zellinhaltes, der Haare, der Epidermis und bisweilen auch eines Theiles des Rindengewebes. Die Spitzen der Wurzeln sind farblos, schon in einer Höhe von circa 5 mm beginnt jedoch die Färbung aufzutreten, welche circa 30 bis 50 mm höher eine definitive tiefdunkelbraune Nüance annimmt. Ist man nun gewohnt, diese Braunfärbung von Membranen der zarteren Organe einer mehr oder minder starken Verkorkung zuzuschreiben, andererseits mit dem Begriffe der Verkorkung den einer relativen Impermeabilität zu verbinden, so stösst man hier auf Widersprüche, die ein näheres Eingehen auf die Natur der bräunenden Substanz nöthig machen.

Bei den Wurzeln der Gefäss-Kryptogamen ist nämlich die Vertheilung der Haare derartig, dass die ersten derselben in der Region der beginnenden Bräunung entstehen, dass sie an Zahl und Länge nach oben zunehmen, und das Maximum ihrer Ausbildung circa 3 bis 5 cm höher erreichen, in einer Region, wo die Membranen des gesammten Rindengewebes mit Aus-

<sup>1)</sup> Sachs, Lehrbuch der Botanik, pag. 366.

nahme der Endodermis durch Einlagerung einer braunen Substanz eine so bedeutende Umwandlung erlitten haben, dass die Cellulosereaction mittelst Chlorzinkjodlösung nicht mehr zu erzielen ist. Sehr eigenthümlich ist dabei der Umstand, dass die Membranen der Haare dieselbe Färbung zeigen, wie die der Rindenzellen, wodurch die Frage nach der Identität dieser Haare mit echten Wurzelhaaren eine gewisse Berechtigung erhält. Das charakteristische Verwachsen der Haare mit den Theilchen des Bodens, welches hier wie bei allen echten Wurzelhaaren, sowie bei den ebenfalls braun gefärbten Rhizoïden der Moose unschwer zu beobachten ist, schliesst jedoch jeden Zweifel darüber aus, dass wir es hier mit echten wasseraufsaugenden Organen zu thun haben, und es bleibt nur noch übrig, die Natur des bräunenden Stoffes zu ermitteln. In concentrirter Schwefelsäure löste sich das Rindengewebe der *Filicinaen*-Wurzeln nur an einigen Stellen, das der *Equisetaceen*-Wurzeln dagegen ohne Schwierigkeit vollkommen; doch zeigten die Haare, die Epidermis und die Endodermis in allen Fällen eine grössere Resistenz gegen dieses Agens. In Chromsäure lösten sich die Schnitte vollkommen auf. Bei der Behandlung mit Kali wurde die braune Membranfärbung in eine tief violette verwandelt, wobei Farbstoff in Lösung ging. Durch schweflige Säure wurde die färbende Substanz nicht vollständig zerstört. Bei längerer Behandlung mit Eisenchlorid nahmen die Membranen tiefschwarzbraune Färbung an, beim längeren Liegen in Kaliumdichromatlösung wurden sie etwas dunkler als in der frischen Wurzel, und es entstand ein starker brauner Niedererschlag in den innersten Zellen der Rinde.

Aus diesen Versuchen schliesse ich, dass die Bräunung nicht von einer Verkorkung, sondern von einer Ablagerung von Gerbstoffen und ihren Wasserabspaltungsproducten, den Phlobaphenen, herrührt.

Hinsichtlich ihrer Anatomie, soweit diese auf die Frage des radialen Saftstromes Bezug hat, unterscheiden sich die Wurzeln der *Filicinaen* nicht unwesentlich von denen der *Equisetaceen*.

### Filicinae.

Unter der mit Haaren reich besetzten Epidermis befindet sich das 5 bis 10-schichtige Rindengewebe, dessen isodiametrische Zellen lückenlos miteinander verbunden sind und durch die Grösse ihrer Lumina auffallen.

Die aus einer Schicht tangential gestreckter Zellen bestehende Endodermis bleibt dünnwandig, ebenso wie das einschichtige Pericambium, an welches die beiden Gefässstrahlen mit ihren Erstlingen grenzen.

Der lückenlose Verband des Rindengewebes, sowie die Resistenz des letzteren gegen concentrirte Schwefelsäure und die auffallende Grösse seiner Elemente lassen die Annahme nicht unberechtigt erscheinen, dass hier das gesammte Rindengewebe als wasserspeicherndes Hypoderma funktionire, zumal gewöhnliche Parenchymzellen nicht zu finden sind.

Zur Untersuchung gelangten Wurzeln von *Pteris arguta*, *Pteris aquilina*, *Aspidium Filix mas* und *Aspidium macrophyllum*. Die ana-

tomischen Verschiedenheiten derselben haben auf die Frage der Wasserleitung keinen Bezug.

### **Equisitinae.**

Die Epidermiszellen, deren Behaarung der der *Filicineen*-Wurzeln analog ist, zeichnen sich durch erhebliche radiale Streckung, sowie durch auffallende Grösse ihrer Lumina aus, in welchen sie ein beträchtliches Quantum von Flüssigkeit zu sammeln im Stande sind.

Mit der Epidermis stehen eine bis mehrere Schichten isodiametrischer Zellen in lückenlosem Verbands. Diese Zellen zeigen schon 4 mm über der Wurzelspitze verdickte Wände, welche in den Regionen, wo ein centripetaler Saftstrom nicht mehr stattfindet, verhärtet, Tüpfel bekommen und sowohl Holz- wie Korkreactionen geben. Als wasserspeicherndes Hypoderma können diese Zellschichten trotz ihres lückenlosen Verbandes nicht angesprochen werden, da ihnen die radiale Streckung, die Unlöslichkeit in concentrirter Schwefelsäure, sowie das Kennzeichen des Mangels an plastischen Substanzen fehlen; ihre Aufgabe ist vielmehr in der Festigung des Gewebes zu suchen, wobei die Tüpfelbildung darauf schliessen lässt, dass auch in diesen Stadien ein Saftaustausch noch erforderlich ist.

An diese lückenlos verbundenen Zellen reihen sich nach innen mehrere Schichten dünnwandig bleibender, streng radial angeordneter Zellen, welche den axialen Cylinder, mit der aus tangential gestreckten, dünnwandig bleibenden Elementen der Endodermis, und die innerste, das fehlende Pericambium ersetzende Parenchymschicht derartig umgeben, dass ein directer radialer Saftstrom nach den Gefässen hin erfolgen kann.

### **Coniferen.**

Bei den Wurzeln der Coniferen ist zunächst ein erheblicher Unterschied zu machen zwischen den saugenden Stellen der unverletzten Triebwurzeln und den Mycorrhizen-Saugwurzeln. Während letztere ausschliesslich der Wasseraufnahme dienen und nach Vollendung dieser Funktion absterben, ohne in das Stadium des Dickenwachsthums eingetreten zu sein, kommt bei ersteren als wesentliches Moment für die Beeinflussung des radialen Saftstromes das zeitige Beginnen des sekundären Dickenwachsthums in Betracht, nach dessen Eintreten ein centripetaler Saftstrom naturgemäss nicht mehr stattfinden kann, sondern nur noch ein solcher in centrifugaler Richtung, welcher sich von dem der oberirdischen Organe im Prinzip nicht unterscheidet. Für die Ermittlung besonderer Einrichtungen für die Aufnahme und radiale Leitung des Saftes können daher in beiden Arten der Wurzeln nur diejenigen Zonen in Betracht kommen, in denen noch alle Elemente der Rinde, einschliesslich der Endodermis, dünnwandig sind; doch zeigen diese bei den untersuchten Coniferen-Wurzeln eine so einfache Anatomie, dass hinsichtlich unserer Frage nur wenige Momente erwähnenswerth erscheinen.

Unter der mit Haaren meist reich besetzten Epidermis befindet sich das aus gewöhnlich lückenlos verbundenen, im Querschnitt isodiametrischen Zellen bestehende Rindengewebe, dessen innerste Schicht bei *Taxus* die charakteristischen Verdickungen der radialen Wände zeigt, deren Vorkommen im Rindengewebe vieler Wurzeln von van Tieghem<sup>1)</sup> einer speciellen Bearbeitung unterzogen worden ist.

Alle untersuchten Coniferenwurzeln waren mit dem Mycorrhizenpilze versehen, dessen Vorkommen und physiologische Bedeutung für diese Familie zuerst von Rees<sup>2)</sup> nachgewiesen worden ist.

Eine bestimmte Differenzirung hinsichtlich der Anordnung und des Inhaltes habe ich in den Zellen des Rindengewebes nicht bemerkt; die erhebliche Resistenz gegen concentrirte Schwefelsäure, welche die ersten beiden subepidermalen Schichten einiger Wurzeln zeigten, genügt nicht, um ihnen eine besondere Funktion zuzusprechen.

Bei *Taxus* finden sich im Grundgewebe der Rinde sehr kleine Interzellularräume; das gesammte, ausserhalb des Pericambiums liegende Gewebe giebt hier die Xylophilinreaction. Erwähnenswerth ist noch der braune Farbstoff, mit welchem die Membranen und zum Theil auch der Inhalt der Wurzelhaare, der Epidermis und bisweilen mehrerer Schichten der Rinde durchsetzt sind, ohne dass die Einlagerung desselben die Permeabilität der betreffenden Membranen verringerte, sowie der Umstand, dass die färbenden Substanzen dieselben Reactionen geben wie bei den untersuchten Cryptogamenwurzeln.

Zur Berücksichtigung gelangten die Wurzeln von *Pinus silvestris*, *Pinus Strobus*, *Abies alba*, *Araucaria excelsa*, *Araucaria imbricata*<sup>3)</sup> und *Taxus baccata*.

## Monocotyledonen.

Der Typus der Monocotyledonenwurzeln ist bei den ersten der in Folgendem abgehandelten Wurzeln erschöpfend wiedergegeben. Zu diesem Zwecke ist auf die Anatomie der betreffenden Wurzeln auch in denjenigen Erscheinungen, welche mit dem radialen Saftstrom nicht unmittelbar zusammenhängen, genauer eingegangen worden, um bei den übrigen Wurzeln auf diese zurückzugreifen und Wiederholungen thunlichst vermeiden zu können.

Nur die das Thema berührenden Momente sollen von Fall zu Fall ausführlicher besprochen werden.

1) Van Tieghem: Sur le réseau de soutien de l'écorce de la racine. (Ann. sc. nat. Paris, 7. sér. T. 7. 1888, p. 375—378.

2) Rees: Sitzungsberichte der physikalisch-medicinischen Societät. Erlangen. 16. Mai 1880.

3) Haubenlose Wurzeln (Wurzelschnüre), wie sie Swen Berggreen bei *Araucaria*- und *Podocarpus*-arten, sowie van Tieghem und Borzi bei letzteren fanden, hatte ich nicht zu beobachten Gelegenheit. Bot. Centralblatt 31, p. 257.

## Liliiflorae.

*Liliaceae: Yucca gloriosa.*

Die junge Saugwurzel zeigt eine spärlich mit Wurzelhaaren bekleidete, aus etwas papillös ausgestülpten Zellen bestehende Epidermis. Unter dieser befindet sich ein einschichtiges Hypoderma, dessen auf dem Querschnitt sechseckige, gradflächige Zellen deutlich radial gestreckt sind, und eine Differenzirung in lange und kurze Zellen zeigen, wodurch sie sich von den Elementen des inneren Rindengewebes auffallend unterscheiden, ebenso wie durch ihre grösseren Lumina und ihren geringeren plastischen Inhalt.

Mit dem Hypoderma, wie untereinander, sind noch vier weitere Zellschichten lückenlos verbunden, welche schon sehr frühzeitig radiale Streckung annehmen, ihre Membranen ein wenig verdicken und einen schützenden Suberoïdcylinder um die Wurzel bilden, dessen innerste Zellschicht Xylophilinreaction zeigt, während die Membranen der äusseren Reihen, wie die der Epidermis, sich den Reagentien gegenüber korkähnlich verhalten.

Das im übrigen noch circa achtschichtige parenchymatische Grundgewebe der Rinde besteht aus isodiametrischen Zellen, welche unregelmässig angeordnet sind, und Intercellularräume bilden, welche von je drei bis vier Zellen begrenzt sind.

Die im jugendlichen Zustande aus ziemlich regelmässigen Zellen bestehende Endodermis verdickt im späteren Alter ihre Membranen an den inneren tangentialen und an den radialen Wänden, wodurch die betreffenden Zellen ein U-förmiges Aussehen bekommen, unter Bildung von Tüpfelung und Durchgangsstellen, welche fast vor jedem Gefässstrahle bemerkbar sind. Zugleich mit der Endodermis verholzen die Wände der an sie grenzenden innersten Rindenparenchymsehicht, ebenso wie die radialen der folgenden Lage; die Verdickungen zeigen dann unregelmässige Tüpfel, welche mit denen der Endodermis communiciren.

Bei dieser Wurzel bleibt das gesammte Rindengewebe erhalten, und dient zur Aufhäufung plastischer Baustoffe. Das Gewebe muss also zugleich gefestigt und ernährt werden. Zur Erreichung des ersteren Zweckes dient die Bildung des äusseren Suberoïd-Schutzringes, sowie die Verdickung der Wände der Endodermis und der beiden angrenzenden Zellschichten; der zweite wird erreicht durch Erhaltung der Durchgangsstellen in der Endodermis, sowie durch die Tüpfelung der verdickten Membranen, durch welche Einrichtungen dem radialen Saftstrom in centrifugaler Richtung bequeme Wege zur Verfügung gestellt werden.

Vom einschichtigen Pericambium aus erstrecken sich zwischen Holz- und Siebtheil zusammenhängende Reihen parenchymatischen Gewebes, das Phloëm nach innen umfassend, das Xylem seitlich begrenzend, und so eine Trennung, oder in physiologischer Hinsicht zum Zwecke des Saftaustausches eine Verbindung beider Gewebe herstellend.

Diese dünnwandigen Elemente, welche dem Holzparenchym der ober-

irdischen Organe entsprechen, sind nebst dem Pericambium als diejenigen Organe zu betrachten, welche das aufgenommene Wasser aus der Rinde nach den Gefässen transportiren und welche zugleich als die Vermittler, zwischen Holz- und Siebtheil funktioniren. Ihre Erhaltung ist für den Saftaustausch durchaus nothwendig, was sich bei der Wurzel von *Yucca gloriosa* deutlich zeigt, da im späteren Alter der Wurzel die zahlreich auftretenden mechanischen Elemente, welche sich aus dem Innern des Cylinders bisweilen bis an das Pericambium fortsetzen, doch keine vollständige Trennung von Xylem und Phloëm bewirken, sondern stets einige Stellen offenlassen, an denen das Gefäss-Parenchym erhalten bleibt und in Wirkung treten kann.

Die Orientirung der übrigen Organe des 12- bis 31- vielleicht auch mehrstrahligen Gefässbündelcylinders hat auf den radialen Saftstrom wenig Bezug, stimmt mit dem normalen Bau der *Monocotylen*-Wurzeln überein und kann daher an dieser Stelle übergangen werden.

*Melanthiaceae: Veratrum nigrum.*

An der Wurzel dieser Pflanze fällt zunächst der gänzliche Mangel an Haaren auf, deren Funktionen daher die etwas papillös ausgestülpten Epidermiszellen übernehmen müssen.

Mit diesen steht eine Schicht im Querschnitt etwas radial gestellter Zellen in lückenloser Verbindung, welche sich von dem darunterliegenden Gewebe ausser durch den Mangel an Intercellularräumen noch durch den an plastischen Baustoffen, sowie durch die Resistenz ihrer Membranen gegen concentrirte Schwefelsäure und durch den Umstand unterscheiden, dass ihre Wände im späteren Alter korkähnlich verändert werden. Diese subepidermale Schicht kann also als echtes wasserspeicherndes Hypoderma angesprochen werden.

Das Parenchym der Rinde besteht aus unregelmässig angeordneten, geräumigen, kleine Intercellularräume bildenden, im Querschnitt isodiametrischen Zellen, welche, wie bei den meisten Monocotyledonen, auch dieser Wurzel als Reservestoffspeicher erhalten bleiben.

Ihnen schliesst sich nach innen die einschichtige Endodermis an, deren Membranen sich schon in sehr jungem Alter, wo sie noch vollkommen dünnwandig und permeabel sind, gegen concentrirte Schwefelsäure vollkommen resistent erweisen.

Hinsichtlich dieser Erscheinung ist daher hier zu wiederholen, was im allgemeinen Theil dieser Arbeit über die korkähnliche Beschaffenheit mancher Membranen bemerkt worden ist.

Schon 3 bis 4 cm über der Wurzelspitze beginnen innerhalb der Membran einzelner Endodermiszellen Verdickungen aufzutreten, und zwar liegen diese Zellen stets der Mitte je eines Siebtheiles gegenüber. Die Verdickungen zeigen sich dann nach und nach in den benachbarten Endodermiszellen, doch bleiben den Gefässstrahlen gegenüber noch lange Zeit

Durchgangsstellen offen. In den alten Wurzeln werden diese endlich ebenfalls geschlossen. Die Verdickungen sind wie bei *Yucca* U-förmig, deutlich geschichtet, mit zahlreichen Tüpfeln versehen und geben die Xylophilin-reaction. In älteren Stadien der Wurzel verdicken auch die äusseren Tangentialwände der Endodermis, sowie bisweilen die an diese grenzenden Membranen der innersten Parenchymschicht. Diese sind dann ebenfalls getüpfelt, und es wird durch diese Einrichtungen das Zustandekommen des centrifugalen Saftverkehrs in der ganzen Wurzel ermöglicht.

Der Bau des Gefässbündelcylinders unterscheidet sich von dem der *Yucca*-Wurzel sehr wenig, und ist hinsichtlich unserer Frage das für diese gültige zu wiederholen.

*Smilacaceae: Dracaena rubra.*

Die mit Haaren in normaler Weise versehene Epidermis der Wurzel zeigt nichts auffallendes.

Unter ihr befindet sich ein dreischichtiges Hypoderma, welches mit Ausnahme der radialen Streckung der Zellen alle Eigenthümlichkeiten dieses Gewebes in deutlicher Weise zeigt. Die äusserste Schicht desselben lässt eine Differenzirung in lange und kurze Zellen erkennen.

Das unter Bildung von Intercellularräumen nicht sehr regelmässig angeordnete Gewebe der inneren Rinde bleibt auch hier als Stapelplatz für Baustoffe erhalten, und muss daher dauernd ernährt werden, auf welchen Zweck verschiedene Einrichtungen hinweisen. Die tangential gestreckten Zellen der Endodermis verholzen nämlich in späterem Alter an den vertikalen Wänden; doch bleiben in der gesammten Wurzel Durchgangsstellen erhalten. Die verholzten Membranen zeigen ausserdem Tüpfelung. Oft wird auch die innerste Schicht des Rindengewebes sowie das Pericambium in die Sklerose hineingezogen und zwar an den Stellen, welche den verdickten Zellen der Endodermis benachbart sind.

Die uns hier zum ersten Male begegnenden Verdickungen des Pericambiums, sowie die der innersten Rindenschichtenmembranen bilden ebenfalls Tüpfel, welche mit denen der Endodermis communiciren.

Am Bau des Gefässbündelcylinders ist bemerkenswerth, dass sich jeder Gefässstrahl am Pericambium, den Durchgangsstellen gegenüber, nach beiden Seiten hin zu mehreren Elementen (engen Spiralfässen) ausbreitet, um der Aufnahme des Wassers eine möglichst grosse Absorptionsfläche darzubieten.

*Juncaceae: Juncus obtusiflorus.*

Der Bau dieser Wurzeln ist der für die monocotylen Wasserpflanzen und auch für die dicotylen, soweit das secundäre Dickenwachsthum bei diesen nicht in Betracht kommt, typische; mit seiner Beschreibung ist zugleich die der übrigen untersuchten Wasserwurzeln fast erschöpft, und es handelt sich bei diesen dann nur noch um die Erwähnung geringer Abweichungen.

Die Epidermis ist mit langen und starken Haaren reich versehen.

Unter ihr befindet sich ein einschichtiges mit allen charakteristischen

Eigenthümlichkeiten ausgestattetes Hypoderma, unter diesem zwei Schichten ebenfalls lückenlos verbundener englumiger Zellen, welche nach dem Aufhören der Wasseraufnahme an ihren Vertikalwänden verholzen<sup>1)</sup>.

Das innere Rindengewebe besteht aus streng radial angeordneten Zellen, von denen immer je vier einen Intercellularraum bilden. Schon wenige Centimeter über der Spitze beginnen einige Radialstreifen dieses Rindengewebes auseinander zu weichen, auf diese Weise zuerst kleine schizogene Spalten bildend, welche allmählig durch Zerreißen der sie begrenzenden Zellen zu grossen Luftlücken werden. In allen Fällen bleiben jedoch die äusseren lückenlos verbundenen, sowie mehrere der innersten Zellschichten der Wurzel erhalten, und hängen dann mittelst der fadenartigen Trümmer des Grundgewebes zusammen.

Die Endodermis verdickt in den Regionen, wo eine Aufnahme flüssiger Nahrung nicht mehr erfolgt, allmählig an allen vertikalen Wänden ohne Bildung von Tüpfeln oder Freilassung von Durchgangstellen. An der Verdickung nehmen die benachbarten zwei bis drei Zellschichten des Rindenchymys ebenfalls Theil<sup>2)</sup>. Die Substanz der Verdickungen zeigt Holz- und Korkreactionen.

Durch den Eintritt der Sklerose wird das Absterben des die Endodermis umgebenden Gewebes bedingt; dieses bleibt jedoch als todter Schutzmantel am Gefässbündelcylinder haften. Bei den Wurzeln der Wasserpflanzen ist hinsichtlich des radialen Saftstromes zu vermuthen, dass derselbe nach Bildung der Lücken unterbrochen werden würde, wenn das Rindengewebe nicht die streng radiale Anordnung seiner Zellen zeigte. Es wird durch diese Einrichtung ein Saftstrom auch in den Fällen ermöglicht, wo nur noch wenige zusammenhängende radiale Zellstreifen vorhanden sind.

Ob die Erhaltung der die Endodermis umkleidenden Zellschichten ebenfalls direct für die Vermittelung der Wasserleitung bestimmt ist, bedarf einer näheren Untersuchung; doch scheint der frühzeitige Eintritt der Veränderungen im Rindengewebe, zu einer Zeit, wo der radiale Saftstrom noch nicht unterbrochen ist, darauf hinzudeuten.

#### *Amaryllideae.*

Die Wurzeln der *Amaryllideen* charakterisiren sich durch das Vorhandensein eines wohl ausgebildeten Hypoderma's, welches bei einigen Arten einschichtig, bei anderen mehrschichtig ist, in allen Fällen jedoch die Differenzirung der äussersten Schicht in lange und kurze Zellen zeigt. Die Angabe von Juel, welcher letzteres Verhältniss bei sechzehn Arten fand, kann ich bei einigen derselben bestätigen, und füge noch *Amaryllis formosissima* und *Agave americana* hinzu.

#### *Amaryllis formosissima.*

Die Anatomie dieser Wurzel ist eine sehr einfache, und zeigt mit Aus-

1) Die Verholzung dieser Membranen tritt nicht bei allen Wasserwurzeln auf.

2) Auch diese Erscheinung ist nicht bei allen Wasserwurzeln verbreitet.

nahme des Vorhandenseins eines einschichtigen, aus abwechselnd langen und kurzen Zellen bestehenden Hypoderma's wenig bemerkenswerthes.

Interessant ist das Verhalten der jungen Wurzelpartien gegen concentrirte Schwefelsäure. Es lösen sich in dieser nämlich nur die zwischen Hypoderma und Endodermis gelegenen Elemente, sowie die des Gefäßbündelcylinders mit Ausnahme der Gefässe selbst. Die Wurzelhaare werden dabei gelblichbraun, und ihre Membranen wellen sich fast unmerklich, im Uebrigen erscheinen sie völlig intact, ebenso wie die Wände der Epidermis, des Hypoderma's, dessen innere Vertikalwände jedoch bisweilen gelöst werden, und der Endodermis, und zwar schon in ganz jugendlichen Wurzelstellen, wo, auch wenn partielle Verkorkung eingetreten sein sollte, die betreffenden Organe doch noch diosmotisch thätig sein müssen.

*Agave americana.*

Unter der kleinzelligen, mit Haaren reich besetzten Epidermis findet sich hier ein dreischichtiges Hypoderma, dessen Zellen einen mehr als doppelt so grossen Querdurchmesser haben, als die der Epidermis, und dessen äusserste Schicht aus alternirend langen und kurzen Zellen besteht.

Unter diesem Gewebe liegt ein vielschichtiges Parenchym, dessen isodiametrische Zellen von je dreien derselben eingefasste Intercellularräume bilden.

Die innersten drei bis fünf Zellschichten sind wieder lückenlos miteinander verbunden; und dadurch denen des Hypoderma sehr ähnlich da sie aber im übrigen alle microchemischen und physikalischen Eigenschaften des inneren Rindenparenchyms zeigen, müssen sie als gleichwerthig mit diesem betrachtet werden.

Der lückenlose Verband dieser Zellschichten scheint jedoch für den Austausch des Saftes bedeutungsvoll zu sein.

Da die Membranen der fraglichen Schichten im späteren Alter der Wurzel zugleich mit denen der Endodermis sklerotisiren, und zwar unter Bildung von Tüpfeln, welche mit denen der Endodermiszellen communiciren, so ist mittelst des lückenlosen Verbandes die Bildung von Tüpfelkanälen an jeder Stelle der Endodermis ermöglicht, während beim Vorhandensein von Intercellularräumen eine Berührung der Tüpfel nur an den aneinandergrenzenden Flächen denkbar wäre; mit Hilfe der bestehenden Einrichtung werden dem Saftaustausche daher zahlreiche Wege zur Verfügung gestellt.

Die Verholzung (durch Xylophilinreaction erwiesen) tritt bei der Endodermis gleichzeitig an allen Vertikalwänden auf; die Rindenzellen verdicken in centrifugaler Richtung, also so, dass zuerst die innerste Tangentialwand, später die radialen Wände, und so fort die nächstäusseren Zellen in derselben Weise verholzen, so dass schliesslich die äusserste sklerotisirte Schicht durch Verdickung ihrer inneren Tangentialwände und ihrer radialen Wände hufeisenförmige Zellen bekommt.

Das einschichtige Pericambium zeigt nichts bemerkenswerthes.

Hinsichtlich des Gefässbündelcylinders ist das von den Monocotyledonen im allgemeinen gesagte zu wiederholen.

*Irideae: Iris germanica.*

Die Epidermis einer saugenden Wurzelstelle besteht aus eigenthümlich papillös ausgestülpten Zellen, und ist meist reichlich mit Haaren versehen.

Unter ihr findet sich ein meist dreischichtiges Hypoderma, welches mit allen charakteristischen Eigenschaften dieser Gewebeart begabt ist, und besonders durch die Grösse der Lumina seiner Zellen auffällt. Im späteren Alter verändern sich seine Membranen, ohne jedoch zu verdicken. Sie werden dann bei der Behandlung mit Phloroglucin und Salzsäure röthlich, mit Thallin gelblich, mit Chlorzinkjodlösung braun, mit Kali gelb, scheinen demnach in diesen Stadien aus einem Mittelding zwischen Holz- und Korksubstanz zu bestehen.

Die hypodermalen Zellschichten dienen dann mittelst ihrer festen Wände zum Schutz gegen äussere, mechanische Einflüsse, und mittelst ihres saftreichen Inhaltes zum Schutz gegen Austrocknen.

Bei der Behandlung mit plasmolytischer Flüssigkeit (Glycerin) bemerkte ich an Längsschnitten durch jugendliche Wurzelstellen regelmässig eine geringe aber deutliche Faltung oder Wellung der Radialwände der hypodermalen Zellen, und nehme ich keinen Anstand, diese Fähigkeit der besprochenen Wände, sich bei Abgabe von Flüssigkeit wellig zu verbiegen, als eine Einrichtung anzusprechen, welche dazu dient, in den betreffenden Zellen eine Speicherung des Saftes zu ermöglichen.

Das übrige Rindengewebe ist circa vierzelm-schichtig, seine Zellen sind auf dem Querschnitt isodiametrisch, von variabler Grösse, und bilden Inter-cellularräume, welche von drei, auch vier Elementen begrenzt sind. Die untersuchten waren nicht sehr inhaltsreich, zeigten aber deutlicher, als die des Hypoderma, Plasma und Kern.

Die Endodermis erscheint auf dem Querschnitt aus U-förmigen Zellen bestehend; sie verdickt ihre Wände in einem gewissen Stadium des Wachstums. Die Verdickungen treten bei verschiedenen Wurzeln derselben Pflanze in verschiedener Höhe auf und zwar ziemlich gleichmässig in der ganzen Endodermis mit Ausnahme der den Gefässstrahlen gegenüberliegenden Durchgangsstellen, ohne Bildung von Tüpfeln.

Durchgangsstellen finden sich in der ganzen Wurzel zwar fast auf jedem Schnitt, aber doch immer nur vereinzelt und keineswegs vor jedem Gefässstrahle. In den oberen Regionen mancher feinen Wurzeln bemerkte ich keine Durchgangsstellen mehr. Da nun Tüpfelung nicht vorhanden ist, so wird durch den vollkommenen Verschluss des Endodermisringes eine Wasserzufuhr von innen nach aussen zur Unmöglichkeit, und das gesammte Rindengewebe stirbt ab<sup>1)</sup>.

1) Die radialen Wände der Endodermis sind länger als die tangentialen; von diesen ist in der Regel die äussere die längere. Es folgen auf dem Querschnitt ge-

Das einschichtige Pericambium zeigt an den Stellen, welche den Durchgangsstellen der Endodermis benachbart sind, oft bedeutend grössere Zellen, als die übrigen. Diese Erscheinung ist hinsichtlich des Saftausgleiches ganz erklärlich; denn der gesammte Saftstrom wird durch diese Zellen geleitet, sie müssen daher ihres vereinzeltten Vorkommens wegen geeignet sein, gelegentlich auch grössere Mengen von Wasser behufs allmählichen Ausgleiches des hydrostatischen Druckes eine Zeit hindurch zu beherbergen.

Im Bau des Gefässbündelcylinders sind besondere, den radialen Saftstrom beeinflussende Einrichtungen nicht anzutreffen.

*Dioscoreae: Dioscorea bonariensis.*

Bei dieser Wurzel ist das Vorhandensein eines wohl ausgebildeten Hypodermas wichtig, welches aus einer einzigen Zelllage besteht, deren Elemente die typischen Eigenthümlichkeiten dieser Gewebeart in deutlicher Weise zeigen.

Im übrigen ist nur noch das Verhalten eines Querschnitts durch eine saugende Wurzelstelle gegen concentrirte Schwefelsäure bemerkenswerth, da von dieser nur die zartwandigen inneren Organe gelöst werden, während die Membranen der jungen Haare, der Epidermis, des Hypoderma und der Endodermis vollkommen erhalten bleiben. Am resistentesten verhalten sich dabei die Haare, während die Wände der übrigen genannten Organe etwas gewellte Form erhalten.

Die aus diesen Erscheinungen zu ziehenden Folgerungen finden sich bereits im allgemeinen Theil dieser Arbeit unter dem über die chemische Beschaffenheit der Zellmembranen gesagten, erwähnt.

*Pontederiaceae: Pontederia crassipes und Pontederia cordata.*

Bei diesen beiden *Pontederiaceen* ist zunächst der Umstand sehr auffallend, dass der Bau der sehr dünnen, haarähnlichen Abzweigungen der stärkeren Adventivwurzeln von dem der letzteren erheblich abweicht. Die ersteren zeigen eine Epidermis, welche aus langen und breiten Zellen besteht (Fig. 6), deren radialer Durchmesser so gering ist, dass die äusseren und inneren Wände der Epidermis fast aufeinander zu liegen scheinen, und erst bei mehr als 150facher Vergrösserung deutlich unterschieden werden können.

Auf die Epidermis folgt ein Ring keilförmiger Zellen, deren Radialdurch-

wöhnlich auf einige dieser Zellen einige solche, deren innere Tangentialwand länger ist als die äussere; hierdurch wird die Verbindung des Ringes, welche durch lauter Zellen der ersten Art schliesslich unterbrochen werden würde, wiederhergestellt. Auch wird zu diesem Zwecke mitunter eine kleine Zelle keilförmig hineingeschoben.

Die Caspar'y'schen Punkte an den unverdickten Zellen erscheinen meist nicht genau in der Mitte, sondern mehr nach dem inneren Ende der radialen Wände gelegen. Starke Vergrösserungen lassen auch hier deutlich ihr Entstehen aus der Wellung der Wände in Folge Nachlassens der Spannung des umgebenden Gewebes erkennen; eine Verdickung, wie sie von Wisselingh an der correspondirenden Stelle bei *Iris Güldenstädtiana* bemerkt hat, ist hier nicht vorhanden.

messer mehr als das Zwanzigfache der ersteren beträgt. Sie besitzen geringen plastischen Inhalt, und zeigen auch die übrigen hypodermalen Eigenschaften in so ausgeprägtem Masse, dass sie als das Hypoderma der Wurzel bezeichnet werden müssen. Ihre Lamina sind so beträchtlich, dass das innere Gewebe neben ihnen einen fast verschwindenden Eindruck macht, sie scheinen die wichtigsten Organe der feinen Wurzelfäden, und fast ausschliesslich zum Aufspeichern des Saftes bestimmt zu sein.

Das von diesem Ringe grosslumiger Zellen umschlossene Gewebe ist wegen des geringen Querdurchmessers seiner Elemente schwer zu analysiren. Es besteht aus mehreren Schichten inhaltsreicher Zellen; das Centrum der Wachstumsaxe wird von einem einzigen Spiralgefäss gebildet.

Die stärkeren Wurzeln zeigen die schon mehrfach erwähnte Struktur der Wasserwurzeln. Sie besitzen ein dreischichtiges Hypoderma und unter diesen das zerklüftete Grundgewebe der Rinde, dessen innerste drei Zelllagen auch hier vollkommen unversehrt erhalten bleiben.

Die Endodermis verdickt an einigen Stellen des Ringes ihre Wände, das von ihr umschlossene Gewebe zeigt nichts bemerkenswerthes.

Wir sehen hier wieder, dass die feinsten Wurzelverzweigungen wesentlich anderen Zwecken dienen, als die stärkeren, und dass die Pflanze hier, um diesen Zweck, nämlich den der Aufnahme und besonders der Aufspeicherung des Wassers, zu erreichen, ganz eigenthümliche Vorrichtungen trifft, welche hier in einer höchst auffallend starken Ausbildung des Wassergewebes bestehen, gegen welches alle übrigen Organe fast verschwinden.

*Bromeliaceae: Bromelia longifolia* (Fig. 4).

Unter der mit Haaren reich besetzten Epidermis findet sich hier ein 2—5 schichtiges Hypoderma, dessen Zellen ziemlich regelmässig und isodiametrisch gebaut, lückenlos miteinander verbunden und mit einem spärlichen Primordialschlauch ausgerüstet sind. Auf dieses Gewebe folgen vier Schichten kleinzelligen Suberoids, dessen Wände verholzt und ebenfalls ohne Interzellularräume miteinander verbunden sind.

Dieser Ring tritt schon an ganz jugendlichen saugenden Wurzelstellen auf, und bildet für den centripetalen Saftstrom keineswegs ein Hinderniss, da er bisweilen von grosslumigen Zellen durchbrochen wird, mittelst welcher das Hypoderma und das Grundgewebe der Rinde in Verbindung stehen, welche daher als Durchgangszellen zu betrachten sind.

Erst im späteren Alter der Wurzel schliesst sich der Ring vollkommen, eine Ernährung des ausserhalb desselben befindlichen Gewebes kann nicht mehr stattfinden, und dieses stirbt schliesslich ab.

Die Endodermis verdickt ihre Wände unter Freilassung von Durchgangsstellen schon sehr zeitig, Tüpfel konnte ich an den Verdickungen nicht bemerken, dagegen reichlichen plastischen Inhalt noch in weit vorgeschrittenem Stadium der Verdickung, welcher Umstand darauf schliessen lässt, dass die verdickten Membranen noch lange Zeit permeabel sein müssen.

### Enantioblastae.

*Commelinaceae: Tradescantia virginica.*

Hier fällt zunächst ein dreischichtiges Hypoderma auf, welches aus radial gestreckten, ziemlich grossen Zellen besteht, und auch die übrigen charakteristischen, schon mehrfach erwähnten Eigenschaften dieser Gewebeart zeigt. In höheren Regionen der Wurzel war in den untersuchten Schnitten das gesammte innere Rindengewebe mit Stärke erfüllt, während das Hypoderma zum Theil davon freigeblichen war, und in Folge dieses Umstandes besonders scharf hervortrat.

Die übrigen Organe der Wurzel, einschliesslich der dünnwandig bleibenden Endodermis zeigen nichts bezüglich des radialen Saftstromes bemerkenswerthes.

Das Verhalten eines Querschnittes durch eine jugendliche Wurzelstelle gleicht dem gelegentlich der Beschreibung von *Dioscorea* erwähnten.

### Spadiciflorae.

*Araceae: Philodendron Schott.*

Hinsichtlich der Einrichtungen, welche für den radialen Saftstrom bestimmt sind, ist bei dieser Wurzel das bei *Tradescantia* gesagte in allen Punkten zu wiederholen, nur mit dem Unterschiede, dass das Hypoderma hier aus einer einzigen Zelllage besteht.

Auch die Resistenz der Membranen der Haare, der Epidermis, des Hypoderma und der Endodermis gleicht der bei *Dioscorea* erwähnten.

*Orontieae: Calla palustris.*

Der typische Bau der Wurzeln der Wasserpflanzen trifft auch bei *Calla* zu. Das Hypoderma ist zweischichtig, seine äusserste Schicht ist auch dazu bestimmt, die frühzeitig collabirende Epidermis zu vertreten.

Die Endodermis verdickt ihre Wände im späteren Alter ein wenig ohne Tüpfelung, jedoch unter Freilassung von Durchgangsstellen.

*Pandaneae: Pandanus Veitchii.*

An der jungen Saugwurzel konnte ich weder Wurzelhaare noch eine besondere Wasserschicht entdecken.

In dem vielschichtigen Grundgewebe der Rinde liegen zahlreiche Bündel mechanischer Elemente, welche jedoch auf keinem Querschnitt eine Trennung des inneren und äusseren Gewebes und eine dadurch bedingte Unterbrechung des radialen Saftstromes bewirken. — Die Endodermis bleibt dünnwandig.

Hinsichtlich des Gefässbündelcylinders ist zu bemerken, dass der Verkehr zwischen Holz- und Siebtheil hier in vielen Fällen durch mechanische Elemente, welche sich zwischen diesen Gewebearten häufig bilden, unterbrochen werden würde, wenn sich nicht auf jedem Querschnitt dünnwandig gebliebene Elemente fänden, welche eine Communication des Saftes ermöglichen.

*Typhaceae: Sparganium simplex.*

Auch für die Wurzel dieser Pflanze gilt das für die Wasserwurzeln gesagte, doch finden sich hier einige besondere Eigenthümlichkeiten.

Das Hypoderma besteht aus einer einzigen Schicht auffallend grosser Zellen. Unter ihm liegt ein zweischichtiges Suberoid-Gewebe, dessen Zellen erst im späteren Alter der Wurzel, und zwar an sämtlichen Wänden verdicken.

In diesem Stadium zeigen auch die innersten drei Zellreihen des Rindengewebes eine mässige Verdickung sämtlicher Wände, ebenso wie die Endodermis, welche unter Bildung von Tüpfeln verholzt.

*Palmae: Phoenix dactylifera.*

Hier ist zunächst ein vierschichtiges Hypoderma zu erwähnen, dessen Zellen schon in sehr früher Jugend auffallend die Xylophilinreaction ergaben.

Unter ihm findet sich ein drei- bis fünfreihiges Suberoid, welches schon dicht über dem Vegetationspunkte angelegt wird, und später schwache Tüpfelung zeigt, durch welche Einrichtung der Saftaustausch zwischen innerem und äusserem Gewebe auch in den ältesten Stadien der Wurzel ermöglicht wird.

Das Parenchym des Grundgewebes der Rinde ist durch grosse Luftlücken unterbrochen, welche viele radiale Streifen unversehrter Zellen übrig lassen, durch welche der Gefässbündelcylinder mit dem Gewebe der Rinde communicirt.

In diesen Streifen liegen zahlreiche, aus je 8 bis 40 mechanischen Elementen bestehende Bündel, welche so angeordnet sind, dass keiner der Streifen eine vollkommene Unterbrechung erleidet, sondern stets noch einige unveränderte Zellen für die Wasserleitung übrig bleiben.

Die Endodermis verdickt ihre Wände schon in ziemlich frühen Stadien U-förmig, ohne Freilassung von Durchgangsstellen, jedoch unter Bildung von reichlicher Tüpfelung, so, dass also auch durch die Verdickungen dem Saftaustausch ein Hinderniss nicht erwächst, und dieser in allen Fällen gesichert ist.

### Glumiflorae.

*Scirpeae: Scirpus lacustris.*

Das Hypoderma dieser Wurzel ist zweischichtig, seine Wandungen verholzen im späteren Alter und bilden alsdann im Verein mit der collabirten Epidermis und den abgestorbenen Haaren einen mechanischen Schutzring um den axilen Cylinder.

Der Bau des Grundparenchyms der Rinde gleicht dem der Wasserpflanzen im allgemeinen.

Die Endodermis wird im späteren Alter dickwandig; Durchgangsstellen bleiben nur bis zu einem gewissen Stadium offen, mit dem Verschluss derselben ist das Absterben des gesammten Rindengewebes in Folge der Unterbrechung des centrifugalen Saftstromes eingeleitet.

Das einschichtige Pericambium wird hier von den primären Gefässen durchbrochen, sodass diese direct an die Endodermis grenzen.

*Caricineae: Carex hirta.*

Hier findet sich unter dem ein- bis dreischichtigen Hypoderma wieder ein circa achtschichtiges Suberoid, in dessen Verbände Unterbrechungen

durch dünnwandige Elemente nicht aufzufinden sind, dessen schon in früher Jugend verdickte Membranen mithin permeabel sein müssen, um den Austausch des Saftes nicht zu verhindern.

Das übrige Rindengewebe ist kleinzellig, die Elemente der Endodermis zeigen bei dieser Wurzel auf dem Querschnitt radiale Streckung, sind ziemlich grosslumig und bleiben unverdickt.

*Gramineae: Zea Mays* und *Panicum miliaceum*.

Ein bisweilen zweischichtiges, gewöhnlich aber einschichtiges, sehr charakteristisch ausgebildetes Hypoderma, unter diesem ein aus drei bis fünf Zellschichten bestehendes Suberoïd (Fig. 1), in welchem ich bei *Panicum* dünnwandige Zellen als Durchgangsstellen ganz vereinzelt bemerkte, streng radiale Anordnung des übrigen Rindengewebes, sowie Verdickung der Endodermiswände unter Bildung von Tüpfeln, aber ohne Freilassung von Durchgangsstellen, sind die für diese Wurzeln bedeutungsvollen Einrichtungen, welche den radialen Saftstrom characterisiren.

Zu erwähnen ist noch der Umstand, dass auch die horizontalen Wände der Endodermis im Stadium der Verdickung nicht getüpfelt sind.

Bezüglich ihres chemischen Verhaltens liessen sich im Rindengewebe dieser Wurzel drei Gruppen von Elementen unterscheiden. Zur ersten gehören die Epidermis mit den Haaren, das Hypoderma und die Endodermis, die zweite wird von dem Suberoïd, die dritte von dem Grundparenchym der Rinde gebildet.

*Phragmites vulgaris* (Fig. 5).

Hier ist in hohem Grade bemerkenswerth, dass die Aufnahme des Saftes nur durch die sehr feinen Nebenwurzeln erfolgen kann, während in den stärkeren Wurzeln ein Saftstrom nur in centrifugaler Richtung möglich ist.

Letztere zeigen nämlich schon dicht über der Wurzelspitze ein Festigungsgewebe, welches der Aufnahme und radialen Weiterführung von Flüssigkeit unüberwindliche Hindernisse in den Weg stellt. Schon 5 mm über dem Vegetationspunkt verholzen hier die Wände der ersten drei subepidermalen Zellschichten, und zwar tritt die Sklerose am stärksten an den tangentialen Wänden derselben auf, weder Durchgangsstellen freilassend: noch Tüpfel bildend, sodass also eine Wasseraufnahme von aussen nicht mehr stattfinden kann. Diesem Momente entsprechend findet sich auch ein eigentliches Wassergewebe nicht vor. Der übrige Bau des Rindengewebes ist der für die Wasserwurzeln typische.

Die Endodermis verholzt an ihren Membranen hufeisenförmig ohne Freilassung von Durchgangsstellen, jedoch unter reicher Tüpfelbildung.

Die Nebenwurzeln zeigen einen wesentlich anderen Bau. Hier sind mit Ausnahme sehr weniger centraler spiraliger Gefässe alle Elemente dünnwandig.

Unter der mit Haaren reich besetzten Epidermis liegt ein dreischichtiges, sehr grosszelliges Hypoderma, auf welches einige Lagen engzelligen Gewebes folgen, dessen Wachsthumscentrum von den wenigen Spiralgefässen gebildet wird.

Die Anatomie der feinen Nebenwürzlehen macht den Eindruck, als hätten diese vorzugsweise die Bestimmung der Aufnahme und Speicherung des Saftes zu erfüllen.

### Scitamineae.

#### *Musaceae: Musa Ensete.*

Im Rindengewebe von *Musa* habe ich besondere, den radialen Saftstrom beeinflussende Einrichtungen nicht angetroffen. Was den Bau des axilen Cylinders betrifft, so verweise ich auf die oben citirte Arbeit von Reinhardt, in welcher er als eine Anomalie der Musaceen-Wurzeln die starke Ausbildung von mechanischem Gewebe im Innern des Cylinders, sowie zwischen Xylem und Phloëm, die dadurch bewirkte Trennung der beiden Gewebsarten, sowie die Wiederherstellung ihres Saftaustausches durch dünnwandig gebliebene Elemente beschreibt.

#### *Cannaceae: Canna indica.*

Hier ist ein fünfschichtiges Hypoderma vorhanden, dessen Radialwände bei der Behandlung mit plasmolytischer Flüssigkeit deutliche Wellung annehmen.

Die Anatomie der übrigen Organe der Wurzel lässt besondere, den radialen Saftstrom beeinflussende Einrichtungen nicht erkennen.

Das chemische Verhalten der Membranen gleicht dem im allgemeinen Theil dieser Arbeit öfters erwähnten.

#### *Marantaceae: Maranta arundinacea Var. indica.*

Ein zwei- bis fünfschichtiges, hier aus etwas tangential gestreckten Zellen bestehendes Hypoderma ist auch bei dieser Wurzel vorhanden.

Unter ihm befindet sich ein mehrere Lagen starkes Suberoid, welches an vielen Stellen von dünnwandigen grösseren Zellen durchbrochen wird, wodurch der Saftverkehr zwischen innerem und äusserem Rindengewebe ermöglicht wird (Fig. 7).

Ob die Endodermis im späteren Alter verdickt, konnte an den zur Verfügung stehenden, ausschliesslich jugendlichen Wurzeln nicht ermittelt werden.

### Gynandrae.

#### *Orchideae: Epipactis palustris.*

Da bei den *Orchideen* auch die Luftwurzeln als wasseraufnehmende Organe functioniren, so ist auch bei diesen nach hierzu dienenden besonderen Einrichtungen und Organen zu suchen. Die wasserspeichernde Fähigkeit der sogenannten „äusseren Endodermis“ ist bekannt, die übrigen Organe zeigen nichts für unsere Frage bemerkenswerthes, und ich kann mich hier mit dem Hinweise auf das im allgemeinen Theil dieser Arbeit über die Luftwurzeln der Orchideen gesagte begnügen.

Die haarlose, aber mit Mycorrhizen reich versehene Wurzel von *Epipactis palustris* zeigt im späteren Alter eine ziemlich starke Verdickung der äusseren Epidermiswände.

Ein einschichtiges, aus nicht genau alternirend langen und kurzen Zellen bestehendes Hypoderma schliesst sich der Epidermis lückenlos an. (Fig. 2.) Die radialen Wände der langen Zellen zeigen geringe Wellung. Die Endodermis verdickt ihre Wände U-förmig, ohne Tüpfelbildung aber unter Freilassung von Durchgangsstellen.

Hinsichtlich der Anordnung der Gefässe ist bemerkenswerth, dass die Enden jedes Strahles sich den Durchgangsstellen der Endodermis gegenüber plattenförmig nach beiden Seiten ausbreiten, um dem Saftstrome eine möglichst grosse Vermittlungsfläche darzubieten.

## Helobiae.

### *Alismaceae: Alisma Plantago.*

Bei dieser Pflanze scheint die Aufnahme des Saftes ähnlich wie bei *Phragmitis* nur durch die feinen Nebenwurzeln zu erfolgen, da die stärkeren schon in früher Jugend an den äusseren Tangentialwänden der subepidermalen Schicht verkorken.

Ein wassersammelndes Hypoderma ist auch hier nicht vorhanden.

Das Grundgewebe der Rinde zeigt den für die Wasserwurzeln typischen Bau. Die Endodermis verholzt unter Freilassung weniger Durchgangsstellen an ihren vertikalen Wänden. In die Sklerose werden bisweilen die Zellen des Pericambiums und der innersten Rindenparenchymsschicht hineingezogen. Den Durchgangsstellen entsprechend bleiben jedoch auf jedem Querschnitt einige unverdickte Elemente frei, durch welche der Saftstrom ungehindert vorsehen kann.

Das Rindengewebe der zarten Nebenwurzeln besteht aus wenigen, sehr grossen, keilförmigen, auffallend turgescens aussehenden Zellen. Die Verdickungen der Endodermis sind hier seltener.

### *Sagittaria sagittaeifolia.*

Ein zweischichtiges Hypoderma besitzen auch die starken Wurzeln dieser Pflanze. Das charakteristische der Rinde sind jedoch ihre bekannten armartig verbundenen Grundgewebszellen, welche in Sachs' Lehrbuch der Botanik (1874) auf Seite 75 abgebildet sind.

Der Bau der innersten drei Rindenzellschichten weicht von dem dieser Armzellen wieder ab, und gleicht dem gewöhnlicher Parenchymzellen.

Die Endodermis verdickt ihre Wände ein wenig unter Bildung von Durchgangsstellen.

Die sehr zarten Nebenwurzeln zeigen einen von dem beschriebenen wesentlich verschiedenen Bau.

Hier finden sich im Rindengewebe keine anormal gebildeten, sondern nur isodiametrische bis tangential gestreckte Zellen vor, die in radialer Anordnung stehen.

Wie schon öfters erwähnt, glaube ich den feinen Nebenwürzelchen ganz besonders die Bestimmung der Wasseraufnahme zusprechen zu müssen. Da nun den Nebenwürzelchen der *Sagittaria* die charakteristischen Elemente des

Rindengewebes der stärkeren Wurzeln fehlen, so glaube ich zu der Annahme berechtigt zu sein, dass diese Armzellen für die Leitung des Saftes nur negative Bedeutung haben. Aber auch einen besonders reichen plastischen Inhalt konnte ich in den fraglichen Zellen nicht ermitteln, und es bleibt somit nur noch die Annahme übrig, dass mittelst des armartigen Verbandes eine besonders grosse Festigung des Gewebes erzielt werden soll, um dem bei den Wurzeln der Wasserpflanzen so leicht eintretenden Zerreißen des Rindenparenchyms vorzubeugen.

*Butomus umbellatus.*

Die Wurzel von *Butomus umbellatus* zeigt weder Haare noch Hypodermis, und besitzt im Uebrigen den Bau der Wasserpflanzenwurzeln.

Endodermis und Pericambium verholzen unter Bildung gemeinsamer Durchgangsstellen und Tüpfeln, welche miteinander communiciren.

*Hydrocharideae: Hydrocharis morsus ranae.*

Auch die Wurzeln dieser Pflanze sind nach dem bekannten Typus der in Wasser, Moor und Sumpf lebenden Monocotyledonen gebaut; verdickte Organe habe ich hier ausser den Gefässen nicht aufgefunden, ebensowenig wie sonstige den radialen Saftstrom beeinflussende Einrichtungen.

## Dicotyledonen.

Während bei den Wurzeln der *Monocotyledonen* bezüglich unserer Frage eine Fülle von Erscheinungen herrscht, welche fast bei jeder Wurzel ein Eingehen auf ihre Anatomie gestatten, ist bei denen der *Dicotyledonen* im wesentlichen das für die Coniferenwurzeln geltende zu wiederholen. Auch hier kann nur in derjenigen Zeitperiode, in welcher das secundäre Dickenwachsthum der Wurzel noch nicht begonnen hat, von einem centripetalen Saftstrom die Rede sein; wir brauchen nicht mit den mannigfachen Vorrichtungen zu rechnen, welche die Wurzeln der *Monocotyledonen*, bei denen ja das gesammte Rindengewebe meist erhalten bleibt, schon frühzeitig treffen, um dieses für seinen zukünftigen Beruf vorzubereiten, um ihm zugleich Festigkeit und Permeabilität zu verleihen, und es so in den Stand setzen, als Speichergewebe für feste und flüssige Materie zu funktionieren.

Seltener als bei den bisher besprochenen Wurzeln wird daher bei denen der *Dicotyledonen* von mehr als einer einfachen Diosmose die Rede sein können; die einzelnen Verschiedenheiten sollen von Fall zu Fall besprochen werden.

## Amentaceae.

Bei den Wurzeln der *Amentaceen* fällt zunächst der Umstand auf, dass, ähnlich wie bei den Gefässcryptogamen und Coniferen, ihre Epidermis und bisweilen auch einige Schichten des Rindengewebes gelblichen bis braunen Inhalt, sowie ebensolche Färbung ihrer Membranen zeigen, welche von Gerbstoffen oder gerbstoffartigen Körpern und Phlobaphenen herrührt.

Was die Anatomie der Rinden betrifft, so konnte ich an saugenden Wurzelstellen von *Populus nigra*, *Juglans regia* und *Corylus Avellana*

eine Differenzirung des Gewebes in verschiedenartige Elemente nicht bemerken. Das gesammte Parenchym besteht vielmehr aus gleichwerthigen lückenlos verbundenen Zellen, welche sehr turgescens aussehen, und deren Wände sich sämmtlich gegen die verschiedenen Reagentien wie die des Hypoderma anderer Wurzeln verhalten. Auch gegen concentrirte Schwefelsäure erweisen sie sich resistent, und ich nehme keinen Anstand aus der Summe dieser Erscheinungen den Schluss zu ziehen, dass wir es hier mit einem Rindengewebe zu thun haben, welches in seiner Gesamtheit als Hypoderma funktioniert.

Etwas anders gestalten sich die Verhältnisse bei *Fagus silvatica*.

Hier fällt am Querschnitt durch eine saugende Wurzelstelle sofort die hypodermale Zellschicht durch ihr vom übrigen Gewebe durchaus verschiedenartiges Aussehen auf. Sie zeigt alle Eigenschaften eines wassersammelnden Hypodermas, und muss als solches betrachtet werden.

Die Zellen des Grundgewebes sind rundlich und bilden bisweilen recht beträchtliche Intercellularräume.

Bei allen genannten *Amentaceen*wurzeln zeigen die übrigen Organe hinsichtlich des radialen Saftstromes nichts bemerkenswerthes.

### Urticineae.

*Cannabineae: Humulus japonicus.*

Im Grundgewebe der Wurzelrinde finden sich einzelne Bündel mechanischer Elemente, jedoch nicht in solcher Menge, dass die Leitung der aufgenommenen Nahrung nach den Organen des axilen Cylinders durch die Anwesenheit der Bündel unterbrochen würde. Ein Wassergewebe ist nicht vorhanden, und auch der übrige Bau der Wurzel zeigt nichts auf das Thema bezügliches.

### Centrospermeae.

*Chenopodiaceae: Beta vulgaris.*

Das massenartig ausgebildete Parenchym der Rübe besteht aus Zellen verschiedenartigen Inhaltes. Viele enthalten Farbstoff in Lösung und sind mit Plasma, in welchem der Zellkern deutlich sichtbar ist, reichlich versehen; in anderen tritt das Plasma in Form eines dünnen Wandbelages zurück. Diese Zellen enthalten dann scheinbar weiter nichts als farblose, selten gefärbte Flüssigkeit; ihre wasserspeichernde Bestimmung ist augenfällig und unterliegt keinem Zweifel; in de Bary's vergleichender Anatomie der Gewächse sind ihr, wie schon oben erwähnt, auf S. 123 einige Bemerkungen gewidmet.

Da die Pflanze in der starken Hauptwurzel ein ergiebiges Wasserreservoir besitzt, so war zu vermuthen, dass die feinen Nebenwurzeln eines solchen entbehren dürften, welche Annahme sich bei der Untersuchung vollkommen bestätigte, da auch der subepidermalen Schicht alle Kennzeichen eines Hypoderma's fehlen.

*Caryophyllaceae: Dianthus barbatus.*

Schr geringer Querdurchmesser der Epidermiszellen, dagegen auffallende Grösse der Elemente der subepidermalen Schicht sind die Kennzeichen der jugendlichen Saugwurzeln dieser Pflanze. Die letzterwähnten Zellen sind von keilförmiger Gestalt und zeigen im übrigen weder in der Art ihres Verbandes, noch in ihrem chemischen Verhalten irgend welche für das Hypoderma Gewebe charakteristischen Eigenschaften. Sie machen jedoch den Eindruck einer grossen Turgescenz, und da sie auch arm an plastischen Substanzen sind, so glaube ich ihnen vorzugsweise wasserspeichernde Eigenschaften zuschreiben zu dürfen, worauf auch ihre abnorme Grösse hindeutet.

**Polycarpicae.***Helleboreae: Helleborus viridis.*

Da das gesammte Rindenparenchym dieser Wurzel bis in ihr hohes Alter erhalten bleibt, so liegt von vornherein die Wahrscheinlichkeit nahe, dass sich auch den radialen Saftstrom beeinflussende Einrichtungen finden werden. Solche sind thatsächlich bei der Endodermis anzutreffen, welche im späteren Alter unter Bildung von Durchgangsstellen dickwandig wird.

Das Gewebe der Rinde zeigt ebensowenig wie das der inneren Organe etwas bemerkenswerthes.

*Paeonicae: Paeonia officinalis.*

Hinsichtlich unserer Frage sind bei dieser Wurzel besondere Einrichtungen nicht anzutreffen.

**Cistiflorae.***Resedaceae: Reseda lutea.*

Bei dieser Wurzel ist zwar schon in frühen Stadien eine Differenzirung des Gewebes der Rinde bemerkbar dasselbe bietet jedoch nur rein anatomisches Interesse; bezüglich des Saftstromes sind besondere Einrichtungen nicht vorhanden.

*Vioaceae: Viola tricolor.*

Das gesammte Rindengewebe ist hier zwar lückenlos verbunden, verhält sich jedoch gegen conc. Schwefelsäure nicht resistent, und zeigt auch keine der übrigen Eigenschaften eines hypodermalen Wassergewebes.

*Ternstroemiaceae: Camellia japonica.*

Auch bei dieser Wurzel zeigt das Gewebe der Rinde einen lückenlosen Verband, die subepidermale Schicht unterscheidet sich aber ausserdem noch sehr wesentlich von ihren Nachbarinnen durch die Rothfärbung ihrer Wände bei der Behandlung mit Phloroglucin und Salzsäure, wodurch eine Verschiedenheit ihrer Funktion erwiesen zu sein scheint. Gegen conc. Schwefelsäure verhält sich der Schnitt wie der von *Dioscorea*, wobei in den untersuchten Fällen eine blutrothe Färbung auftrat.

## Columniferae.

### *Malvaceae: Malva Alcea.*

Am Querschnitt einer jugendlichen Wurzelstelle ist ein wohl ausgebildetes Hypoderma bemerkbar, welches aus einer einzigen Zellschicht besteht und alle charakteristischen Eigenschaften zeigt. Andere auf das Thema bezügliche Einrichtungen sind nicht anzutreffen.

## Grinales.

### *Geraniaceae: Pelargonium roseum.*

Hier zeigt das gesammte Rindenparenchym lückenlosen Verband, sowie vollkommene Resistenz gegen conc. Schwefelsäure, und scheint daher als Hypoderma zu funktionieren.

## Terebinthineae.

### *Rutaceae: Diosma rubra.*

Ogleich auch bei dieser Wurzel das gesammte Parenchym der Rinde lückenlos verbunden ist, differenzirt sich die subepidermale Schicht doch sehr deutlich durch die radiale Streckung und Grösse ihrer Zellen. Auch sind ihre Membranen im Gegensatze zu denen des übrigen Gewebes resistent gegen Schwefelsäure, und geben auch andere Färbungsreactionen. Ihr Inhalt ist wässrig, ihre Radialwände zeigen bei der Behandlung mit plasmolytischer Flüssigkeit geringe Wellung, die Aussenwände erleiden im späteren Alter erhebliche Verdickung.

Aus der Summe dieser Erscheinungen schliesse ich, dass das fragliche Gewebe als echtes wassersammelndes Hypoderma zu betrachten sei.

## Aesculineae.

### *Sapindaceae: Aesculus indica und Aesculus Hippocastanum.*

In den normalen Verzweigungen dieser Wurzeln wurden auf den radialen Saftstrom bezügliche Einrichtungen nicht angetroffen, dagegen sind gewisse knöllchenartige Gebilde sehr bemerkenswerth, welche bei sehr vielen *Aesculinen*-Wurzeln angetroffen werden. Dieselben sind von Waage<sup>1)</sup> als wasserspeichernde Organe erkannt und mit dem Namen „Kurzurzeln“ belegt worden.

### *Acer polymorphum.*

Ausser einem zweischichtigen, wohl ausgebildeten Hypoderma sind besondere Einrichtungen hinsichtlich unserer Frage nicht anzutreffen.

## Umbelliflorae.

### *Corneae: Cornus sanguinea.*

Ein aus einer einzigen Zellreihe bestehendes Hypoderma kennzeichnete sich bei dieser Wurzel ausser durch seine Grösse ganz besonders deutlich

1) Waage, über haubenlose Wurzeln der Hippocastanaceen und Sapindaceen. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. 1891.

durch den Umstand, dass seine Zellen jeglichen plastischen Inhaltes baar zu sein schienen, während die des übrigen Rindengewebes in den untersuchten Fällen mit Stärke erfüllt waren.

Die übrigen Organe der Wurzel zeigen nichts bemerkenswerthes.

### Saxifragineae.

*Crassulaceae: Sempervivum tectorum.*

Hier tritt der seltene Fall ein, dass die Epidermis mit der unter ihr befindlichen Zellschicht unter Bildung von Intercellularräumen verbunden ist. Von einem Hypoderma kann also schon aus dem Grunde keine Rede sein, weil das wichtige Kennzeichen des lückenlosen Verbandes fehlt. Diese Anordnung der Epidermiszellen und die dadurch bedingte geringe Berührungsfläche mit der hypodermalen Schicht geben zu dem Gedanken Veranlassung, dass bei den fleischigen Gewächsen, welche ein wasserspeicherndes Gewebe in dem weitzelligen Parenchym ihrer oberirdischen Organe besitzen, eine verhältnissmässig nur geringe Zuleitung von flüssiger Nahrung nothwendig ist, was mit dem normalen Bau der genannten Gewebe zusammenhängen dürfte.

### Myrtiflorae.

*Onagraceae: Fuchsia.*

Die subepidermale Schicht besitzt hier alle Kennzeichen eines echten Hypoderma, und kann daher als solches angesprochen werden, obgleich das innere Rindengewebe ebenfalls lückenlos verbunden ist. Von diesem unterscheidet es sich jedoch sehr wesentlich durch seine Resistenz gegen concentrirte Schwefelsäure, sowie durch die radiale Streckung seiner Zellen.

### Rosiflorae.

*Pomaceae: Sorbus aucuparia. Roseae: Rosa canina. Poterieae: Sanguisorba offic.*

Es gelang mir nicht, an den Wurzeln der genannten Pflanzen besondere, für den radialen Saftstrom bestimmte Einrichtungen anzutreffen.

### Leguminosae.

*Papilionaceae: Phaseolus vulgaris und Vicia Faba.*

Die Wurzeln dieser Pflanzen besitzen eine sehr grosse Anzahl sehr langer und starker Haare, welche sehr wohl im Stande sind, ein beträchtliches Quantum von Saft in ihrem Lumen zu speichern. Andere auf den radialen Saftstrom bezügliche Einrichtungen habe ich nicht angetroffen.

### Primulineae.

*Primulaceae: Primula chinensis.*

Hier besitzt die subepidermale Schicht zwar verschiedene Kennzeichen eines Hypodermas; da jedoch die Zellen des übrigen Rindengewebes unver-

hältnissmässig grösser sind, und ebenfalls lückenlosen Verband zeigen, so liegt es nahe, auch dem grosszelligen Gewebe eine wesentliche Funktion zur Regulirung des radialen Saftstromes zuzusprechen.

### **Tubiflorae.**

*Asperifoliae: Myosotis palustris.*

Die Untersuchung dieser Wurzel ergab, dass das Rindengewebe in seiner Gesamtheit im Stande ist, mittelst seiner auffallend grossen und turgescenten Zellen für die Pflanze als Wasserreservoir zu funktioniren. Ein besonders ausgebildetes Hypoderma oder andere bezügliche Einrichtungen waren nicht anzutreffen.

*Solaneae: Solanum nigrum.*

An den feinsten Verzweigungen dieser Wurzel befindet sich unter der sehr engzelligen Epidermis eine Schicht auffallend grosser und inhaltsarmer Elemente, deren radialer Durchmesser circa das sechsfache der Epidermiszellen beträgt und deren Wände sich gegen concentrirte Schwefelsäure resistenter als die des übrigen Rindengewebes verhalten. Dieses letztere ist ebenfalls grosszellig, jedoch nicht in dem Maasse wie die subepidermale Schicht, sodass diese sich von allen übrigen Organen der Wurzel auffallend unterscheidet, und ein echtes Hypoderma darstellt.

### **Labiatiflorae.**

*Labiatae: Satureja hortensis.*

Das einschichtige Hypoderma, welches diese Wurzel besitzt, zeigt sehr verschiedene Grösse seiner Zellen; die meisten derselben haben jedoch einen auffallend grösseren Radialdurchmesser als die des Grundgewebes.

Weitere, den radialen Saftstrom beeinflussende Einrichtungen waren nicht anzutreffen.

*Scrophularineae: Antirrhinum majus.*

Das auch hier vorhandene einschichtige Hypoderma wird besonders durch den Umstand deutlich hervorgehoben, dass die Zellen des übrigen Rindenparenchyms tangentiale Streckung haben und von je vier Elementen begrenzte Intercellularräume bilden.

### **Contortae.**

*Apocynae: Nerium Oleander.*

Die Oleanderwurzel besitzt ebenfalls ein einschichtiges Hypoderma, welches in den untersuchten Fällen besonders dadurch auffiel, dass dasselbe einen gänzlichen Mangel an plastischen Baustoffen zeigte, während das übrige Parenchym der Rinde mit Stärke erfüllt war.

### **Campanulineae.**

*Lobeliaceae: Lobelia inflata.*

Bei dieser Wurzel unterscheidet sich die subepidermale Schicht vom meren Rindengewebe durch die Unlöslichkeit ihrer Membranen in concen-

trirter Schwefelsäure. Alle andern Merkmale eines Wassergewebes fehlen, und es kann daher der subepidermalen Schicht eine den radialen Saftstrom besonders beeinflussende Thätigkeit nicht zugeschrieben werden.

Das gesammte Rindengewebe zeigt im übrigen streng radiale Anordnung seiner Elemente.

### Aggregatae.

*Compositae: Bellis perennis.*

Das bei der Wurzel von *Lobelia* sowohl über die subepidermale Schicht, als über das Grundparenchym der Rinde gesagte trifft hier in allen Punkten zu; andere unsere Frage berührende Einrichtungen sind ebensowenig wie dort anzutreffen.

## Figurenerklärung.

- Fig. 1. *Zea Mays*, junge Wurzel, Querschnitt. Vergr. 260.
- Fig. 2. *Epipactis palustris*, junge Wurzel; äusserster tangentialer Längsschnitt, bestehend aus Epidermis mit darunter liegender, in lange und kurze Zellen differenzirter Hypoderma-Schicht. Vergr. 195.
- Fig. 3. *Phlox paniculata*, ältere Wurzel; Längsschnitt bestehend aus Hypoderma und darunter liegender Parenchymschicht. Vergr. 480.
- Fig. 4. *Bromelia longifolia*, junge Wurzel; Querschnitt. Vergr. 260.
- Fig. 5. *Phragmites*, stärkere Wurzel; Querschnitt. Vergr. 260.
- Fig. 6. *Pontederia crassipes*, junge Wurzel. a. Querschnitt, b. radialer Längsschnitt. Vergr. 195.
- Fig. 7. *Maranta arundinacea*, junge Wurzel; Querschnitt. Vergr. 260.
- ep = Epidermis. h = Hypoderma. r = inneres Rindengewebe. s = Suberoid.  
d = Durchgangsstelle. en = Endodermis.

# Beiträge zur Kenntniss der Pflanzenzellen.

Von **F. Rosen.**

Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut zu Breslau.

## I.

### Ueber functionelle Unterscheidung verschiedener Kernbestandtheile und der Sexualkerne.

Mit Tafel XVI.

Die Erforschung des feineren Baues der Pflanzenzelle hat in den letzten Jahren so vielfach und mit so gutem Erfolge an die Resultate der Thierhistologie angeknüpft, dass eine Untersuchung, welche, wie die vorliegende, ganz durch eine Entdeckung auf zoologischem Gebiet angeregt wurde, einer besonderen Motivirung nicht bedarf. Denn wenn die unsere Wissenschaft beherrschende Lehre von der Einheit der organischen Welt vielleicht nirgends so starke Stützen findet, wie gerade in der Histologie, welche die überraschendsten Uebereinstimmungen im Bau der thierischen und der pflanzlichen Zellen erwiesen hat, so ist die Aufdeckung neuer Beziehungen und Aehnlichkeiten beider zu einander, als ein weiteres Glied in der Kette von Argumenten, auf welche jene fundamentale Lehre begründet ist, sicher, ihren Platz zu finden.

Leopold Auerbach zeigte in seiner „Zur Kenntniss der thierischen Zellen“<sup>1)</sup> betitelten Abhandlung, dass in den ruhenden, d. h. nicht in mitotischer Vermehrung begriffenen Zellkernen der Amphibien sich zweierlei Nucleolen unterscheiden lassen, welche er als „erythrophile“ und „kyanophile“ bezeichnete. Diese Benennung bezieht sich darauf, dass die zweierlei Nucleolen neben anderen Unterschieden bei Doppelfärbungen eine tinctionelle Differenz zeigen, derart, dass, wenn ihnen gleichzeitig oder nacheinander ein rother und ein blauer Farbstoff geboten wird, gewisse Nucleolen sich roth, andere sich blau färben. Als geeignete Farbstoffe bezeichnete Auerbach<sup>2)</sup> Eosin, Fuchsin, Aurantia, Carmin und Pierocarmin einerseits und Methylgrün, Anilinblau und Haematoxylin andererseits; später

1) Sitzungsberichte der Kgl. preuss. Academie der Wissenschaften, 26. Juni 1890.

2) l. c. pag. 737.

hat der genannte Autor die beiden Reihen von Farbstoffen noch um eine beträchtliche Anzahl neuer Glieder vermehrt, so dass die ursprünglich nur mit Bezug auf einige ganz bestimmte Färbemethoden gewählten Bezeichnungen Erythrophilie und Kyanophilie anscheinend auf alle diejenigen Kerndoppelfärbungen passen, bei welchen neben einem rothen (oder gelben) Farbstoff ein blauer, grüner oder violetter zur Anwendung gelangt. Wie sich nun schon aus der ersten Zusammenstellung von Tinctionsmitteln ergibt, würden, den Angaben unseres Autors zufolge, die Nucleolen in den Zellkernen der Amphibien eine ganz bestimmte Färbung bevorzugen, gleichviel, welches die chemische Natur des Färbemittels selbst ist; ja, es würde beispielsweise die Färbewirkung zweier chemisch so verschiedener Körper wie Fuchsin und Carmin gleich sein, während das dem Fuchsin constitutionell verwandte Methylgrün sich nicht wie dieses, sondern vielmehr wie Haematoxylin verhalten würde, welches letztere wiederum vielleicht dem Carmin näher steht.

Wenn uns nun die Thatsache, dass die nämlichen Bestandtheile der Zellen von chemisch sehr differenten Farbkörpern tingirt werden, keineswegs neu oder überraschend ist, so muss uns doch die Bevorzugung einer gewissen Farbe durch die Nucleolen sehr auffallend erscheinen; haben wir doch zur Zeit keinerlei Mittel, uns eine Vorstellung von der Wirkungsweise des speciellen Auswahlvermögens zu machen, welches die Nucleolen bezüglich der ihnen gebotenen Farbstoffe besitzen müssen. Complicirt wird der Thatbestand noch dadurch, dass die erythrophilen Nucleolen bei Abwesenheit eines rothen Farbstoffes auch blau, und umgekehrt die kyanophilen durch einen rothen Farbstoff allein auch roth gefärbt werden. Nur wenn beide Farbstoffe zur Anwendung kommen, zeigt sich die spezifische Affinität der erythrophilen Substanz zum Roth, der kyanophilen zum Blau.

Als ich im Frühjahr 1891 mit den Auerbach'schen Arbeiten bekannt wurde, versuchte ich, selbst mit Kerndoppelfärbungen beschäftigt, mir ein Urtheil darüber zu bilden, ob man in pflanzlichen Zellen auf functionellem Wege eine ähnliche Unterscheidung der geformten Bestandtheile ruhender Kerne erlangen könnte. Als Untersuchungsmaterial dienten mir mit sogenannter Merkel'scher Flüssigkeit (Chromsäure-Platinchlorid) fixirte junge Blüthen von *Scilla sibirica* und *Hyacinthus orientalis*, welche, in Paraffin eingebettet, mit dem Mikrotom geschnitten wurden. Sehr bald erhielt ich Resultate, welche, mit einigen Modificationen, den Auerbach'schen an die Seite gestellt werden konnten; jedoch fiel mir, zumal auf Querschnitten durch ganze Blüthen, das eigenthümliche Verhalten der Kerne des Embryosackes und des Pollens den gebotenen Farbstoffen gegenüber auf. Kurz darauf erschien eine neue Abhandlung von Auerbach, welche die Erklärung der von mir anderer Arbeiten wegen zunächst nicht eingehender verfolgten Beobachtungen an den Sexualzellen von *Scilla* und *Hyacinthus* gab. Es war dies die Abhandlung: „Ueber einen sexuellen Gegensatz in

der Chromatophilie der Keimsubstanzen<sup>1)</sup>, in welcher der Verfasser die interessante Thatsache nachweist, dass, wie die zweierlei Nucleolen in gewissen vegetativen Zellkernen, so in den Sexualzellen die Kerne selbst sich „erythrophil“ und „cyanophil“ erweisen. Während meine eigenen fragmentarischen Beobachtungen über die Sexualkerne sich ausschliesslich auf Monocotylen bezogen, erhielt Herr Paul Schottländer, welcher im hiesigen pflanzenphysiologischen Institut auf Veranlassung des Herrn Geheimrath Professor Dr. Ferdinand Cohn eine entsprechende Untersuchung über die Sexualkerne von Kryptogamen anstellte, gleichfalls Resultate, welche mit denen Auerbach's übereinstimmen, — soweit man wenigstens bis jetzt sehen kann, — und über welche er in einer vorläufigen Mittheilung in den Berichten der Deutschen Botanischen Gesellschaft soeben einige Angaben macht<sup>2)</sup>. Es veranlasste mich dies, meine eigene Untersuchung wieder aufzunehmen und zu Ende zu führen.

Doch gehen wir nunmehr zu unseren Beobachtungen über.

Die vegetativen Kerne in den Blüten von *Scilla sibirica* enthalten im Ruhezustand eine nicht unbedeutende Anzahl von Kernkörperchen (vier bis zwölf), welche an ungefärbten Mikrotompräparaten zwar deutlich hervortreten, aber bei ihrem starken Lichtbrechungsvermögen alle ziemlich gleich erscheinen. Figur 1 zeigt einige dem Bündelparenchym des Funiculus entnommene Kerne, welche, entsprechend der stark gestreckten Gestalt der Zellen, wurst- oder bandförmig ausgebildet sind und nach der Tinction mit Fuchsin<sup>3)</sup> auf röthlichem Grunde die intensiv rothgefärbten Kernkörperchen überaus klar zeigen. Dieselben besitzen recht verschiedene Grösse und sind theils ziemlich genau kugelig, theils unregelmässig elliptisch oder eckig. Ein oder zwei grössere rundliche Kernkörperchen sind meistens von einem hellen körnchenfreien Hof umgeben und zeigen, frisch in den Canadabalsam gebracht, meist einige winzige glänzende Pünktchen, über welche ich unten Näheres mitzutheilen haben werde. Die eckigen Kernkörperchen dagegen liegen stets unmittelbar in der körnigen Grundmasse des Kernes. Aus Gründen, welche sich später ergeben werden, sollen die runden, von einem Hof umgebenen Kernkörperchen vorläufig als „Eunucleolen“, die übrigen als „Pseudonucleolen“ bezeichnet werden.

1) Sitzungsbericht der Kgl. preuss. Academie der Wissenschaften, 25. Juni 1891.

2) l. c. 1892, pag. 27.

3) Das Präparat ist auf folgende Weise hergestellt: die Schnitte wurden etwa 1 Stunde in wässriger Fuchsinlösung gefärbt, darauf kurz mit starkem Alkohol abgespült und getrocknet, sodann mit Nelkenöl behandelt und nunmehr so lange mit Alkohol absolutus gewaschen, als sich noch Farbe ausziehen liess; der Alkohol wurde endlich durch Xylol verdrängt, und die Schnitte in Canadabalsam montirt. Ich will diese Methode der Kürze wegen mit der Ziffer I bezeichnen. Bezüglich dieser wie der folgenden Tinctionsmethoden, welche ich, wenn nichts Anderes bemerkt, selbstständig ausprobiert habe, und welche ich zur Erleichterung einer Nachuntersuchung genau angebe, beanspruche ich kein Autorrecht.

Versuchen wir nunmehr eine tinctionelle Unterscheidung der beiderlei Kernkörperchen zu gewinnen. Es kann uns hierzu die Säurefuchsin-Methylenblau-Färbung dienen, welche sich mehrfach modificiren lässt. Es gelingt uns un schwer, die Nucleolen theils roth, theils blau zu färben, wenn wir, beispielsweise, zunächst mit Altmann'schem Säurefuchsin<sup>1)</sup> färben, mit Pierinsäure-Alkohol und darauf mit Wasser waschen, alsdann mit Methylenblau nachfärben und mit Alkohol extrahiren (Methode II). In Canadabalsam eingeschlossen, zeigen die Kerne nunmehr eine mattbläuliche körnige Grundsubstanz (Fig. 2), in welcher 1--2 rothe und eine grössere Anzahl grünblauer Kernkörperchen eingebettet sind. Die ersteren erkennen wir leicht als diejenigen wieder, welche wir oben als Eunucleolen bezeichnet haben; ihre geringe Anzahl, ihre abgerundete Form, der hyaline umgebende Hof macht sie leicht kenntlich; die blauen Körner dagegen sind die Pseudonucleolen.

Bei der Tinction mit Altmann'schem Säurefuchsin nehmen zunächst alle festen Bestandtheile des Kernes die rothe Färbung nahezu gleichmässig an. Spült man mit alkoholischer Pierinsäure-Lösung ab, so kann man durch den folgenden Auswascheprocess ganz verschiedene Bilder erzielen, je nachdem man zum Auswaschen Wasser oder Alkohol verwendet. Im ersteren Falle bleiben nur die Eunucleolen intensiv roth, im zweiten nur die Pseudonucleolen, während alles Uebrige fast ganz entfärbt wird. Dieser Umstand giebt uns die Möglichkeit, mit den gleichen Farbstoffen durch geeignetes Vor- oder Nachfärben mit Methylenblau die Tinction derartig verschieden zu gestalten, dass einmal die Eunucleolen roth, die Pseudonucleolen blau, das andere Mal umgekehrt die Eunucleolen blau, die Pseudonucleolen dagegen roth gefärbt werden (Fig. 3 und 4). Diese letztere Vertheilung der Farben ist allerdings viel schwieriger zu erhalten, ja häufig misslingt der Versuch ganz.

Ich will auf die Einzelheiten bei diesen Färbemethoden nicht näher eingehen, da die Umständlichkeit des Verfahrens die Uebersichtlichkeit der Erscheinungen zu sehr beeinträchtigt, und will vielmehr zu einer anderen Doppelfärbung übergehen, zu welcher ich durch folgende Ueberlegung geführt wurde. Säurefuchsin und Methylenblau, welche in den vorigen Tinctionen verwandt wurden, sind zwei in ihrer Wirkungsweise nicht ganz gleiche Farbstoffe, indem das Säurefuchsin das Cytoplasma viel intensiver und dauerhafter färbt, als das Methylenblau. Von allen rothen Farbstoffen, mit welchen ich gearbeitet habe, schien mir das Fuchsin in seiner Wirkungsweise dem Methylenblau am ähnlichsten, und da das Fuchsin ein vorzügliches Tinctivmittel für Chromatin, sowie für Nucleolen ist, so schien die Frage ein gewisses Interesse zu haben, welche Farbenvertheilung man bei Anwendung von Fuchsin und Methylenblau erhalten würde. Da beide

<sup>1)</sup> Bezüglich der Anwendung des Säurefuchsins vergl. Zimmermann, Beitr. zur Morph. u. Physiol. der Pflanzenzelle, I. Tübingen 1890.

Farbstoffe auf die gleichen Theile gleich einwirken, so dürfte man als Resultat eine violette Färbung erwarten. Und doch tritt eine solche nicht ein. Leider stand mir zu diesem Theil der Untersuchung kein Material von *Scilla* mehr zur Verfügung, und ich musste zu *Hyacinthus orientalis* greifen, welche Pflanze sich deshalb weniger eignet, weil hier die als Pseudonucleolen bezeichneten Gebilde ausserordentlich klein sind. Desto deutlicher zeigt der ruhende Kern das chromatische Gerüst, das, bis nahe zum Rande reichend, im Inneren eine Anzahl kugelliger Räume freilässt, in welchen die hier zahlreicheren Eunucleolen liegen. Für unsere Färberversuche ist es aber, wie ich unten näher begründen werde, gleichgültig, ob wir es mit Pseudonucleolen oder mit dem chromatischen Gerüst, beziehungsweise Netzwerk zu thun haben.

Behandeln wir (Methode III) unsere Schnitte mit wässrigem Fuchsin (1 pro mille), welches nach genügender Einwirkung mit Wasser ausgewaschen wird, färben wir darauf mit wässrigem Methylenblau (2 pro mille) nach, waschen alsdann tüchtig mit absolutem Alkohol oder mit einem Gemisch von 3 Theilen Xylol und 1 Theil Alkohol, so erhalten wir eine ausserordentlich schöne Doppelfärbung (Fig. 5). Die Eunucleolen leuchten uns im prächtigsten Roth entgegen, und in dem farblos gebliebenen Kernraum liegt ein äusserst zartes blaues Gerüstwerk, von einzelnen grösseren blauen Punkten durchsetzt. Lassen wir nunmehr die beiden Farbstoffe auf ein zweites Präparat in der umgekehrten Reihenfolge einwirken. (wobei es sich empfiehlt, recht kurze Zeit auszuwaschen), so gelingt es uns meistens, die Farbenvertheilung umzukehren, derart, dass nunmehr das chromatische Gerüst intensiv roth, die Nucleolen blau gefärbt sind (Fig. 6). Allerdings sind die letzteren meist nicht durchweg rein blau, sondern zeigen an der Peripherie eine violette oder gar röthliche Färbung.

Wenn also auch hier die Umkehrung möglich ist, so macht man gleichwohl wiederum die Bemerkung, dass die Rothfärbung der Nucleolen, die Blaufärbung des Chromatins leicht gelingen, die umgekehrte Farbenvertheilung dagegen nur schwer zu erzielen ist. Nachträglich lenkte sich meine Aufmerksamkeit auf eine Stelle bei Guignard<sup>1)</sup>, wo dieser Forscher angiebt, dass bei Einwirkung einer Mischung von Methylgrün und Fuchsin und nachträglicher Auswaschung mit Alkohol das chromatische Gerüst der Kerne grün, die Nucleolen roth gefärbt werden. Wir können also mit Bezug auf die bisher verwandten Farbstoffe die Eunucleolen erythrophil, die Pseudonucleolen, beziehungsweise das chromatische Netz kyanophil nennen. Diese Bezeichnung scheint noch besser motivirt, wenn wir die Modalitäten ins Auge fassen, welche die oben besprochenen Umkehrfärbungen ermöglichen. Denn bei der Säurefuchsin-Methylenblau-Tinction (Methode II) war doch, wie erwähnt, zur Erzielung einer Blaufärbung der Eunucleolen aus

1) Recherches sur le noyau cellulaire, Annales des Sciences nat., Ser. 6, T. 20, pag. 318. 1885.

diesen die rothe Farbe ausgezogen worden; natürlich konnte dann die blaue deutlich in Erscheinung treten. Bei der Umkehrung der Methode III waren die Eunucleolen durch die vorhergegangene Behandlung mit Methylenblau von diesem gefärbt, und sie behielten diesen Farbstoff bei der nachträglichen kurzen Behandlung mit Fuchsin, welches nur an der Oberfläche der Nucleolen deutlich einwirkte.

Gerade diese letzte Umkehrfärbung, scheinbar eine Abweichung von dem oben beschriebenen ersten Resultat, giebt, wie mir scheint, die beste Bestätigung desselben. Ich selbst war, wie ich gestehen muss, bezüglich der Erscheinung, um welche es sich hier handelt, noch nicht zu klarer Einsicht gelangt, als mir Herr Professor Auerbach, dem ich meine Präparate zu zeigen Gelegenheit hatte, eine ebenso einfache wie auf der Hand liegende Erklärung gab. Danach wird das Methylenblau, welches bei dieser Färbung Anfangs alle Theile des Kernes durchtränkte, durch die nachfolgende Behandlung mit Fuchsin überdeckt oder verdrängt, und zwar müssen die einzelnen gefärbten Bestandtheile des Kernes um so eher rein roth werden, je kleiner sie sind. So ist in unserem Beispiel das chromatische Gerüst schon rein roth, wenn der Nucleolus noch seiner Hauptmasse nach blau erscheint und nur eine dünne rothe Aussenschicht aufweist. Bei längerer Einwirkung des rothen Farbstoffes müssten demnach die Nucleolen ganz roth werden, was thatsächlich der Fall ist. So erklärt sich die vorliegende Abweichung der Färbung durch die ungleiche Einwirkung der Farbstoffe.

Es erheben sich nunmehr zwei Fragen, einmal, ob die oben als Eunucleolen und Pseudonucleolen bezeichneten Kernkörperchen mit den von Auerbach als erythrophile und kyanophile benannten Nucleolen identisch sind; zweitens, welche bekannten Formbestandtheile des Zellkernes unter den nur zur Erleichterung der Darstellung benutzten Bezeichnungen Eunucleolen und Pseudonucleolen zu verstehen sind.

Die erste dieser beiden Fragen glaube ich bezüglich der Kernkörperchen von *Scilla sibirica*, bei welcher Art ich allein Eunucleolen und Pseudonucleolen beobachtet und untersucht habe, jedenfalls bejahen zu müssen. Die Kennzeichen, welche Auerbach<sup>1)</sup> für seine erythrophilen Nucleolen angiebt, fanden sich bei meinen Eunucleolen alle wieder. Bezüglich der Pseudonucleolen könnte man eher zweifelhaft sein, da diese Körper, wenn auch bei *Scilla* den kyanophilen Nucleolen Auerbach's ganz entsprechend, bei *Hyacinthus* und anderen Liliaceen durch kleinere Körnchen ersetzt sind, welche sich wenig oder gar nicht von den Bestandtheilen des chromatischen Kerngerüsts unterscheiden. Immerhin sind sie aber bei *Scilla* als wohlumschriebene, sofort in die Augen fallende Körper ausgebildet, so dass sie im ungefärbten Zustande wenigstens jedenfalls als Nucleolen angesprochen werden würden. Es passt auch auf sie alles, was Auerbach<sup>2)</sup>

1) Zur Kenntn. der thier. Zellen, pag. 741.

2) Zur Kenntn. der thier. Zellen.

über seine kyanophilen Nucleolen, und zumal deren Form und Lage sagt. Gleichwohl halte ich sie ihrer Substanz nach für identisch mit dem chromatischen Kerngerüst, und zwar stütze ich mich hierin nicht nur auf den Vergleich mit den anderen untersuchten Liliaceen, sondern speciell auch auf meine Beobachtungen über das Verhalten der Pseudonucleolen bei der Karyokinese. Man findet nämlich leicht, dass sie sofort mit Beginn der ersten Vorbereitungen zur Kerntheilung als solche verschwinden, indem sie sich an der Bildung des oder der Kernfäden betheiligen; ja, ihre Substanz macht die Hauptmasse der Kernfäden aus. Ganz anders die Eunucleolen. Während der Bildung und Umlagerung der Kernfäden, welche bei den angewandten Farbmethode schön blaue Färbung annehmen, bleiben die Eunucleolen lange Zeit unverändert, und erst gegen Ende des Spireinstadiums sieht man die rothen Körperchen kleiner werden, wobei sie oft eckige Gestalt annehmen oder sogar zertheilt werden. Hieraus ergibt sich schon, dass die Körper, welche ich bisher Eunucleolen genannt habe, nichts weiter sind, als typische Nucleolen der gewöhnlichen Bezeichnungsweise, und dass diese wieder identisch sind mit den erythrophilen Nucleolen Auerbach's. Meine Pseudonucleolen aber sind eben offenbar weiter nichts, als besonders selbständig ausgebildete Bestandtheile des chromatischen Kerngerüsts und sind wie dieses und sein Product, der Kernfaden, kyanophil.

Werfen wir nun noehmals einen Blick auf die Betheiligung der erythrophilen und kyanophilen Kernsubstanz an der Karyokinese. Figur 7 und folgende, dem gleichen Präparat, wie Figur 5, entnommen, zeigen uns, wie zunächst das Gerüstwerk derber und fädiger wird, wie sich sodann aus der kyanophilen Substanz kleine Scheibchen bilden, welche sich Anfangs zu je zwei, darauf in grösserer Anzahl aneinanderlagern, und wie aus den so entstehenden kurzen Ketten (Figur 8) sich der Kernfaden aufbaut (Figur 9), an welchem seine Zusammensetzung aus Scheibchen bald nicht mehr zu erkennen ist. Erst während des Spirenstadiums wird, wie schon erwähnt, auch die Substanz der erythrophilen Nucleolen in die Stoffumlagerung mit einbezogen. Sie sind schon gänzlich aufgelöst, wenn die Spindelfäden sichtbar werden. Diese aber, fälschlich als „achromatisch“ bezeichnet, färben sich schön roth (besonders bei Anwendung von Säurefuchsin als rothem Farbstoff). Man könnte sich zu der Annahme versucht fühlen, dass die Substanz der Nucleolen das Bildungsmaterial für die Spindelfäden abgibt. Da jedoch auch das Protoplasma, zumal dasjenige der sogenannten Kerntasche, sich stets erythrophil verhält, was auch schon Auerbach<sup>1)</sup> angab, so ist die in der botanischen Zellenlehre herrschende Ansicht, dass die Spindelfäden plasmatischer Natur seien, keineswegs von der Hand zu weisen. Es liesse sich der Verbleib der erythrophilen Nucleolarsubstanz nämlich auch noch anders erklären. Es fiel mir auf, dass die Kernfadensegmente in den letzten Stadien der Karyokinese nicht mehr rein blau, sondern mehr oder

1) l. c. pag. 748.

minder ausgesprochen violett gefärbt werden, als ob sie nunmehr eine rothe Substanz aufgenommen hätten. Figur 10 und 11 zeigen dies. Verbindungsfäden und Zellplatte werden, wie gleichfalls durch diese Figuren veranschaulicht wird, roth gefärbt, und zwar wiederum durch Säurefuchsin viel intensiver, als die einem Fuchsinpräparat entnommenen Bilder zeigen. Bezüglich der Figur 11 möchte ich ein paar allerdings kaum zur Sache gehörige Bemerkungen anschliessen. Bekanntlich wird der Anfangs tonnenförmige Raum der Verbindungsfäden später stark in die Breite ausgezogen; hierbei werden die beiden sich neuconstituirenden Kerne einander wieder erheblich genähert. In diesem Stadium wird ein neues Fadensystem zwischen den beiden Geschwisterkernen gebildet. Von den im Dispirem befindlichen Kernfäden werden gegen die Zellplatte hin dünne Fortsätze getrieben, welche die Platte bald berühren und sich derselben mit kleinen Verbreiterungen fussartig aufsetzen (Figur 11). Diese Fäden correspondiren miteinander von beiden Seiten meist genau; ihre Anzahl ist gering (8?). Sie unterscheiden sich von den Verbindungsfäden (sowie von den Spindelfasern) dadurch, dass sie nicht rosa, sondern blau-violett, wie der Kernfaden gefärbt werden, ja, sie entspringen unzweifelhaft aus diesem. Dass sie nicht etwa einfach zurückgebliebene Theile der Kernfadensegmente sind, ergibt sich aus Folgendem: Da die Zellplatte bei ihrer Entstehung sich nicht in Contact mit den Tochtersternen befindet, so können Theile der letzteren auch nicht an der Platte haften bleiben. Ferner findet man die in Rede stehenden Fäden erst dann in voller Länge und Stärke ausgebildet, wenn die Verbindungsfäden in der Mitte schon verschwunden sind (Figur 11); vorher ragen sie als kurze Spitzchen und sodann als äusserst dünne blaue Linien in den noch von den Verbindungsfäden eingenommenen Raum hinein. Besonders habe ich auch darauf geachtet, ob diese Fäden etwa die Zellplatte durchsetzen; dies ist nicht der Fall<sup>1)</sup>. Diese aus kyanophiler Substanz gebildeten Fäden, für welche ich den Namen „Trennungsfäden“ vorschlagen möchte, dürften bisher wohl mit den Verbindungsfäden verwechselt worden sein, von welchen sie indessen durch Doppelfärbungen sehr leicht zu unterscheiden sind. Beobachtet wurden sie hauptsächlich bei *Hyacinthus orientalis* und *Fritillaria imperialis*, aber auch bei anderen Liliaceen.

Bezüglich der Pünktchen, welche, wie wir oben sahen, häufig in den Einnucleolen vorkommen, habe ich noch einige Worte nachzutragen. Dieselben stellen offenbar vacuolenartige Hohlräume im Innern der homogenen Substanz des Nucleolus dar. Während mir über ihre Function nichts bekannt ist, habe ich Gelegenheit gehabt, ihr Vorkommen nicht nur in den Nucleolen von Phanerogamen, sondern ebenso auch bei Moosen, Pilzen, bei freileben-

<sup>1)</sup> Vergl. auch Kienitz-Gerloff, Protoplasma-Verbindungen etc. Bot. Zeit. 1891. No. 2.

den Amöben zu constatiren. Sie sind übrigens von zahlreichen Untersuchern bei pflanzlichen und thierischen Objecten beobachtet worden<sup>1)</sup>. Dass die Punkte, welche man an den Nucleolen (übrigens blos den erythrophiilen) bemerkt, thatsächlich Vacuolen darstellen, davon überzeugt man sich leicht an Präparaten, welche soben in Canadabalsam gebracht worden sind; sie treten hier anfangs scharf hervor und werden nur allmählich durch Eindringen des Balsams undeutlich. An Methylenblau-Säurefuchsin-Präparaten, welche in Folge beabsichtigter Färbungsumkehrung die erythrophiilen Nucleolen blau zeigen, beobachtet man eine ganz langsam erfolgende Concentration des Methylenblau in den Vacuolen der Nucleolen, derart, dass diese sich endlich schwarz-blau auf lichtblauem Grunde abheben. Diese Beobachtung legt den Gedanken nahe, dass die Vacuolen Gerbstoff führen; vielleicht erklärt sich hieraus die Angabe bei Zacharias<sup>2)</sup>, wonach die Nucleolen bei Cucurbita Pepo nach der Behandlung mit Blutlaugensalz-Eisenchlorid intensiv blaugefärbte Körper erkennen lassen, welche einer anscheinend gar nicht gefärbten Grundmasse eingebettet sind.

Wenden wir uns nunmehr zu den Kernen der generativen Zellen, bei welchen Auerbach, wie oben erwähnt, die Entdeckung gemacht hat, dass die männlichen Kerne kyanophil, die weiblichen erythrophil sind.

Reife Pollenkörner von *Hyacinthus orientalis* zeigen folgenden Bau: Im Querschnitt stumpf- und rundlich-dreikantig, führen sie auf zwei Seiten eine mässig kräftige Exine, auf der dritten, der Faltenseite, eine dünne Exine und dafür eine stärkere Intine<sup>3)</sup>. Der Innenraum wird von einem maschig-vacuoligen Protoplasma erfüllt, in welchem die beiden Kerne liegen, der grosse, unregelmässig gestaltete vegetative und der viel kleinere, stark lichtbrechende generative, welcher letzterer mit seinem spindelförmig gestalteten Zellplasma bei reifen Pollenkörnern in das Innere des Kornes eingewandert ist. Grade an seiner Umhüllung von Protoplasma ist der generative Kern stets als solcher mit Sicherheit zu erkennen.

Doppelfärbungen ergaben das überraschende Resultat, dass der generative, also männliche Kern kyanophil, der vegetative erythrophil ist. Ich habe, um mich von dieser Thatsache, welche ich anfangs nur als Zufälligkeit gelten lassen wollte, zu überzeugen, eine grosse Anzahl von Färbeversuchen gemacht, und zwar immer mit dem gleichen Resultat, sei es, dass ich die Färbungen mit der gleichen Farbstoffcombination (Säurefuchsin- oder Fuchsin-Methylenblau) in den verschiedensten Weisen ausführte, sei es, dass ich andere Combinationen rother und blauer Farbstoffe anwendete. Meine Angabe bezieht sich auf Fuchsin, Säurefuchsin, Safranin, Eosin, Rhodamin einerseits, Methylenblau, Jodgrün, Methylgrün und Haematoxylin

1) Cfr. A. Zimmermann, Morph. und Physiol. der Pflanzenzelle in Schenk's Handb. der Botanik III, 2, pag. 524.

2) E. Zacharias, Ueber den Nucleolus, Bot. Zeitung 1885, pag. 273.

3) Cfr. Hugo Fischer, Beitr. zur vergl. Morphol. der Pollenkörner, pag. 30—31.

andererseits. (Allerdings erhielt ich bei Anwendung von Haematoxylin keine sehr ausgesprochenen Unterschiede in der Färbung, was sich übrigens aus dem Umstand erklärt, dass die gebrauchte Haematoxylinlösung überhaupt nicht deutlich blau, sondern braun-violett färbte.) Die Tinction wurde meist mit einem Gemisch beider zu untersuchender Farbstoffe gemacht, häufig aber auch successive, mit und ohne Auswaschung durch Wasser, Alkohol und Picrinsäure-Alkohol. An allen gut fixirten Pollenkörnern erhielt ich das gleiche Resultat: generative Zellkerne blau, vegetative roth.

Um von der grossen Anzahl der geprüften Färbemethoden wenigstens eine anzugeben, welche sehr gute Resultate liefert und sich zugleich zur Herstellung von Dauerpräparaten eignet, will ich die folgende genauer beschreiben: (Methode IV). Die aufgeklebten und ausgewaschenen Mikrotomschnitte werden eine halbe Stunde in Säurefuchsin (1 zu 1000 H<sub>2</sub>O) gefärbt, in Wasser kurz abgespült und etwa 1/2 bis 1 Minute mit Methylenblau (2 zu 1000 Theilen Wasser) nachbehandelt; der überschüssige Farbstoff wird alsdann mit Alkohol entfernt, und das Präparat, sobald es lufttrocken geworden, mit Nelkenöl extrahirt. Dasselbe wirkt rasch ein, doch erhält man die schönsten Resultate, wenn man die gefärbten Schnitte 6--24 Stunden im Nelkenöl belässt. Dann wird mit absolutem Alkohol oder mit Xylol-Alkohol gewaschen, bis die Farben sich vollständig geklärt haben. Im Canadabalsam werden die Präparate immer schöner, ihre Farben immer leuchtender.

Besonders instructiv sind jedoch diejenigen Tinctionen, bei welchen ein Gemisch des rothen und blauen Farbstoffes angewandt wird, und bei welchen man die Färbung direct unter dem Mikroskop verfolgt. Sofort sieht man die generativen Kerne blau, die vegetativen roth-violett werden. Zu diesem Versuch eignen sich besonders folgende Gemische: Jodgrün in wässriger, Safranin in alkoholischer Lösung, Gemisch marineblau, ferner Säurefuchsin-Methylenblau, beide in wässriger Lösung, Gemisch violett, oder auch Rhodamin-Methylenblau, wässrig, Gemisch roth-violett.

Wie in der Färbung, so weichen die beiden Kerne des reifen Pollenkornes auch im Bau sehr erheblich von einander ab (Figur 12). Der generative ist ein sehr dichter, aus stark lichtbrechender und fast gequollen erscheinender Masse gebildeter Kern. Sein Contour ist scharf und rund, eine deutliche Kernmembran besitzt er nicht; seine chromatischen Elemente sind äusserst dicht gelagert, so dass er fast homogen erscheint. Oft führt er kleine rothe Nucleolen, welche indess später zu verschwinden scheinen<sup>1)</sup>. Dieselben liegen in kleinen Vacuolen. Der vielfach grössere vegetative Kern zeigt dagegen einen unregelmässigen Contour, eine sehr deutliche Kernmembran und grosse rothe Nucleolen. Vor allen Dingen charakteristisch ist jedoch die Form, in welcher die festen Bestandtheile hier auftreten. Durch den mit Kernsaft erfüllten Raum ist ein feines, aus ganz

<sup>1)</sup> Cfr. E. Zacharias, l. c. pag. 289.

unregelmässigen Maschen zusammengefügtetes Netz ausgespannt, dessen kurze Fäden nicht geschlingelt, wie in den vegetativen Kernen ausserhalb des Pollenkorns, sondern fast stets gradlinig verlaufen und in stumpfen Winkeln aneinanderstossen, oft sich sternartig gruppirend. Die grossen Nucleolen liegen keineswegs immer in einer Masche des Fadennetzes, sondern berühren dasselbe häufig, ja, sie werden nicht selten von diesem gradezu umspinnen. So stellen die beiden Kerne im Pollenkorn, wie in der Tinctionsfähigkeit, so auch im Bau die beiden Extreme dar, zwischen welchen die Kerne der vegetativen Zellen die Mitte halten.

Wir sahen also, dass der generative Kern des Pollenkorns sich ebenso kyanophil erweist, wie die Köpfe thierischer Spermatozoen nach den Angaben Auerbach's. Dieser Forscher ist geneigt, anzunehmen, dass männliche und weibliche, beziehungsweise kyanophile und erythrophile Substanz in allen Kernen, welche keinen sexuellen Aufgaben dienen, vereinigt vorhanden ist, so dass diese gewissermassen hermaphroditisch sein würden<sup>1)</sup>. Ist dies bei dem ursprünglichen Kern des Pollenkorns der Fall, so leuchtet es uns ohne Weiteres ein, wenn derselbe bei der Constituirung des männlich generativen Kernes die weibliche Substanz abspalten muss, dass die Bildung des kyanophilen Kernes das gleichzeitige Auftreten eines erythrophilen bedingt. Zwar erfolgt die Sonderung nicht bei der Kerntheilung selbst, welche zwei anfangs gleiche Tochterkerne liefert, diese letzteren aber bilden nun Sammelpunkte für die beiden Geschlechtsstoffe: jeder häuft die jeige Substanz in sich an, welche der andere verliert.

Nachdem ich im Spermakern des Pollens ein vollkommenes Analogon zu den Befunden Auerbach's bei den Samenzellen der Wirbelthiere gefunden hatte, durfte ich vermuthen, auch bezüglich der weiblichen Kerne zu entsprechenden Resultaten zu gelangen. Und in dieser Erwartung wurde ich nicht enttäuscht.

Da sich zu dieser Untersuchung die mir zu Gebote stehenden Culturformen der Hyacinthe, welche meist sehr schlecht fructificirt, nicht eigneten, so studirte ich die einschlägigen Verhältnisse an *Fritillaria imperialis* und *Tulipa spec.* Der Embryosack von *Fritillaria* (Figur 13) zeigt im conceptionsfähigen Zustand bei Anwendung der oben beschriebenen Färbungen (— es eignet sich auch hier wieder besonders die Methode IV —) roth gefärbte Kerne, deren Aehnlichkeit mit dem vegetativen Kern des Pollenkorns, nicht allein in der Färbung, sondern auch ganz ebenso im Bau, sofort auffällt. Die Beschreibung, welche oben für den erythrophilen Kern des Pollenkorns gegeben wurde, könnte hier einfach reproducirt werden. Diese Uebereinstimmung scheint mir eine sehr bedeutsame Thatsache zu sein. Sie zeigt, dass die Bevorzugung des rothen Farbstoffes Hand in Hand geht mit Eigenthümlichkeiten des Baues und der Zusammensetzung, welche auch ohne Färbung deutlich genug sind; ja, die Annahme scheint

1) Auerbach, über einen sexuellen Gegensatz in der Chromatophilie etc., pag. 749.

mir nicht zu gewagt, dass die Rothfärbung der weiblichen Kerne bedingt ist durch die besonderen in ihnen enthaltenen Substanzen oder deren Structur. Demnach würden wir also den vegetativen Kern des Pollenkorns auch als einen weiblichen bezeichnen können, wie das oben schon angedeutet worden ist. Allerdings gemahnt das von mir bei Pilzen beobachtete Vorkommen von Kernen, welche im Wesentlichen den erythrophilen gleichen und doch, soweit wir wissen, asexuell sind, zur Vorsicht in der Beurtheilung des geschlechtlichen Charakters nach der Form des Kernes. Ueber die erythrophilen Pilzkerne werde ich in einer zweiten Abhandlung berichten, welche sich an die vorliegende anschliesst.

Die sieben Kerne des ausgebildeten Embryosackes sind sämmtlich erythrophil und zeigen in dieser Beziehung gegeneinander keine Unterschiede; ich will besonders erwähnen, dass die Antipodenkerne selbst dann noch unverändert die rothe Färbung zeigen, wenn sie schon deutliche Zeichen der beginnenden Auflösung aufweisen. Wie aber im Pollenkorn die Bildung des kyanophilen Kernes das gleichzeitige Entstehen eines erythrophilen zu bedingen schien, so zeigen sich auch hier (Figur 13 und 15) rings um die rothen Kerne des Embryosackes herum intensiv blaue Kerne in den Zellen des Nucellus. Dieselben gleichen in der compacten Anordnung ihrer kyanophilen Substanz, sowie bezüglich ihrer sehr kleinen Nucleolen dem generativen Kern des Pollenkorns, freilich nicht so vollkommen, wie sich die erythrophilen Kerne hier und dort gleichen; immerhin unterscheiden sie sich deutlich von den Kernen des umgebenden Gewebes der Samenanlage durch ihre grössere Dichtigkeit und entsprechend intensivere Färbung.

Es schien mir von Interesse, das Zustandekommen der, wie wir gesehen haben, sehr eigenthümlich gestalteten Kerne des Embryosackes kennen zu lernen, und ich fand in meinem Material vielfach frühere Stadien, so dass ich die wichtigsten Phasen der Entwicklung mit geeigneten Doppelfärbungen studiren konnte. Die im Anfang Februar der Zwiebel entnommenen Blüthenanlagen von *Tulipa* und *Fritillaria* zeigen auf dem Querschnitt den Fruchtknoten noch fast ganz erfüllt von den drei breit-herzförmigen Placentarhöckern, welche an ihren seitlichen Flügeln die schon der ersten Anlage nach vom Mittelpunkt der Blüthe abgewendeten Embryosack-Mutterzellen<sup>1)</sup> führen. Diese liegen bekanntlich subepidermal und zeichnen sich bald durch bedeutendere Grösse vor ihren Nachbarzellen aus. Möchte man sie aber hiernach, sowie nach ihrer Lage noch nicht mit Bestimmtheit als Embryosack-Mutterzellen erkennen, so ist dies doch jetzt schon mit Leichtigkeit an den Kernen möglich. Meine Figur 14 wird den Unterschied des

<sup>1)</sup> Diese Bezeichnung scheint in unserem Fall insofern nicht grade gut gewählt, als sich nach den Untersuchungen von Treub und Mellinck bei *Lilium* und *Tulipa* die Embryosack-Mutterzelle direct (d. h. ohne Abgabe von Schichtzellen) zum Embryosack gestaltet. (Vergl. auch Guignard, *Nouvelles études sur la fécondation* Ann. des sciences natur., Serie VII, Tome XIV, pag. 181.)

Mutterzellkernes gegen die Kerne der umgebenden Zellen am besten veranschaulichen: schon in diesem frühesten Stadium ist der Kern, welcher dazu bestimmt ist, später, nach mehrfachen Theilungen, den Eikern zu liefern, als ein erythrophiler zu bezeichnen, und zwar dies nicht allein bezüglich der Färbung, welche, nebenbei bemerkt, jetzt noch nicht so rein roth ist, wie später, sondern vor allen Dingen nach seinem Bau. Auch hier schon finden wir die feste Kernmembran, reichlichen Kernsaft von kurzgliedrigen, gradlinig gekreuzten Kernfädchen (Fibrillen) durchzogen und die grossen nicht in chromatinfreien Höfen liegenden Nucleolen. Die später im Embryosack selbst erfolgenden Kerntheilungen fielen durch die kräftige Entwicklung ihrer Spindelfäden (erythrophile Substanz) auf; diese erschienen hier als derbe, gekörnelt Stränge von rosenrother Färbung, im Verhältniss zu welchen die Kernfadensegmente kurz und an Masse gering waren; auch fand ich die letzteren in keinem der (etwa 12) beobachteten Fälle gut blau gefärbt, während benachbarte, im Spindelstadium stehende Kerne des Nucellus diese Färbung ganz rein zeigten. Unsere Figur 15 veranschaulicht auch die übrigens schon oft beschriebene und abgebildete Erscheinung, dass die Karyokinesen im Embryosack in gegeneinander gekreuzten Richtungen erfolgen. — Die letzte Kerntheilungsperiode im Embryosack, bei welcher 8 Kerne resultiren, kam mir nicht zur Beobachtung, jedoch ist zu erwarten, dass sie kein anderes Resultat ergeben haben würde. Mit der somit constatirten Verminderung der kyanophilen Kernfadensubstanz in den Embryosackkernen hängt vielleicht die Thatsache zusammen, dass bei der Constituirung des Eikerns auch eine Reduction in der Zahl der Kernfadensegmente beobachtet wird<sup>1)</sup>.

Aus den im Vorstehenden mitgetheilten Beobachtungen ergibt sich, dass die Bildung des männlichen Kernes plötzlich und kurz vor der Reife erfolgt, während der (zukünftige) Eikern seine besondere Natur schon zu einer sehr frühen Zeit und vermuthlich allmählich erhält. Diese Verschiedenheit in der Bildung der männlichen und weiblichen Sexualzellen hat etwas Auffallendes. Doch besteht in dieser sowie in einer anderen sogleich anzugebenden Beziehung wiederum eine vollständige und überraschende Uebereinstimmung mit Auerbach's<sup>2)</sup> Beobachtungen an den Sexualzellen der Wirbelthiere. Auch hier ist die Ausbildung des kyanophilen Spermakernes eine plötzliche, und wie ausser dem Eikern auch die übrigen Kerne im Embryosack erythrophil sind, so sind auch ausser dem Keimbläschen im Ei der Wirbelthiere die Dotterkörperchen erythrophil, ja auch die Follikelepithelzellen neigen zur Erythrophilie. Inwiefern es sich hierbei nicht um eine blos äusserliche Uebereinstimmung handeln mag, das werden

1) Overton, Entwicklung und Vereinigung der Geschlechtsproducte bei *Lilium Martagon*, pag. 8, und Guignard, l. c. pag. 183.

2) Auerbach, Gegensatz in der Chromatophilie der Keimsubstanzen, pag. 37 bis 38.

entsprechende Untersuchungen an niederen Thieren und Pflanzen, zwischen welchen sich eher ein Vergleich ziehen lässt, festzustellen haben.

Der Werth, welchen die speculative Zoologie auf die sogenannten Richtungskörperchen legt, hat die Botaniker veranlasst, sich auch bei den Phanerogamen nach solchen umzusehen. Ich will mich auf die Frage nicht eingehender einlassen und nur Folgendes bemerken: Wenn man den vegetativen Zellkern als hermaphroditisch ansieht, so könnte man sich denken, dass er, um männlich oder weiblich zu werden, im ersten Fall weibliche, im zweiten männliche Substanz abspalten müsste, und die eliminirte Kernmasse bildete dann etwa den Richtungskörper. Wäre diese Anschauung richtig, so dürften wir keine der Zellen im Embryosack als Richtungskörper ansehen, da ihre Kerne alle erythrophil sind. Nicht einmal der vegetative Kern des Pollenkorns kann als Richtungskörper gelten, denn er erhält seine erythrophile Natur offenbar nicht bei der Theilung, sondern erst nachträglich. Demnach scheint es mir am richtigsten, die vegetative Zelle im Pollenkorn nach wie vor als rudimentäres Prothallium aufzufassen, ebenso wie die Zellen des Embryosackes ausser dem Eiapparat.

Ich will den Gegenstand dieser Untersuchung nicht verlassen, ohne kurz angedeutet zu haben, welche Perspective sich aus den Beobachtungen Leopold Auerbach's, welche, wie wir gesehen, auf botanischem Gebiet eine überraschende Bestätigung gefunden haben, für die Lehre von der Zelle und dem Zellkern zu eröffnen scheint. Seitdem Naegeli den grossartigen Versuch gemacht hat, die Gesetzmässigkeit in der specifischen Gestaltung der Organismen, d. h. die Erscheinungen der Entwicklung, der Reproduction und auch der Variation der specifischen Charaktere, auf die feinsten Structurverhältnisse einer im Organismus selbst enthaltenen Substanz zurückzuführen, seit man die bedeutende Rolle kernen gelernt hat, welche die Zellkerne bei der sexuellen wie übrigens auch bei der asexuellen Vermehrung der Pflanzen und Thiere spielen, seit dieser Zeit hat man sich gewöhnt, im Zellkern eine Art von Mikrokosmos zu sehen, in welchem sich die stofflichen Träger der Eigenschaften des ganzen Körpers vereinigt vorfinden, und so musste man, besonders um die Erscheinung der Reproduction zu erklären, für den Zellkern eine trotz aller Wechsel der äusseren Gestaltung ausserordentlich feste und unveränderliche feinste Structur oder Zusammensetzung postuliren. Von diesem Gesichtspunkt ging die geistreiche Erklärung der karyokinetischen Erscheinungen aus, welche W. Roux<sup>1)</sup> gab und, welche den Nachweis zu erbringen suchte, dass die sogenannte indirecte Kerntheilung die vollkommenste Gleichförmigkeit in der Repartirung der Bestandtheile des Mutterkerns auf seine Theilproducte bewirken und bezwecken müsse. Natürlich war man, bei der ausserordentlich complicirten Aufgabe, welche man dem Zellkern zuschrieb, wenig geneigt, in demselben bei seiner geringen Gesamtgrösse auch noch accessorische oder

1) Ueber die Bedeutung der Kerntheilungsfiguren. Leipzig 1883.

transitorische Bestandtheile anzunehmen. Der Nucleolus freilich konnte kaum als integrierender Bestandtheil des Zellkerns angesehen werden, trotz seiner fast allgemeinen Verbreitung und seiner relativ oft sehr erheblichen Grösse. A. Zimmermann erbrachte ferner den Nachweis<sup>1)</sup>, dass die Kerne sehr vieler Pflanzen (*Pteridophyten* und *Dicotylen*) Eiweisskrystalle enthalten, welche nach seinen Beobachtungen bei der Karyokinese ausgestossen und in den Tochterkernen neugebildet werden. Hatte hier der Zellkern offenbar zeitweise oder dauernd neben seinen anderen Functionen auch die Aufgabe eines Reservestoffbehälters, so wiesen andererseits auch alle diejenigen Arbeiten, in welchen die Beziehungen des Zellkerns zur Membranbildung studirt wurden, eher auf eine stoffliche als auf eine dynamische Einwirkung hin. Ferner mussten die Beobachtungen der Zoohistologen, dass eine Aufnahme und Abgabe fester Bestandtheile durch den Zellkern erfolgen kann, gleichfalls dazu leiten, die Aufgaben des Zellkerns noch in anderen Dingen zu suchen, als darin, dass er Träger der Eigenschaften des Organismus sei. — An diese Arbeiten werden sich meine eigenen Beobachtungen über die Kerne der *Mycomyeten* anschliessen; über welche ich in der folgenden Abhandlung zu berichten habe.

Leopold Auerbach hat nun gezeigt, — und ich konnte dies auf botanischem Gebiet bestätigen, — dass noch viel bedeutendere Schwankungen in der stofflichen Zusammensetzung der Kerne des gleichen Organismus vorhanden sein müssen, und zwar in den Sexualzellen. Zu dem gleichen Resultat war aber E. Zacharias<sup>2)</sup> schon vor Jahren auf ganz anderem Wege gelangt. Obwohl nun männliche und weibliche Kerne im Bau wie in ihren Bestandtheilen so verschieden erscheinen, so müssen gleichwohl beide als im Vollbesitz aller Charaktere ihrer Erzeuger angesehen werden; wenigstens können wir keine elterliche Eigenschaft angeben, deren Uebertragung auf das Geschlechtsproduct durch Sperma oder Ei unmöglich erschiene. Muss uns dies nicht eine gewisse Vorsicht aufnöthigen den Theorien gegenüber, welche in den einzelnen Bestandtheilen des Kerns schlechthin die Träger der einzelnen Qualitäten sehen? Sind wir auf Grund unserer heutigen Kenntnisse zu einer Anschauungsweise berechtigt, welche in jedem Theilstück eines Kernfadensegmentes die materielle Basis eines Qualitätencomplexes findet, welche gleichförmig getheilt werden muss, damit von den Tochterkernen nicht dem einen etwas fehle, was der andere zu viel bekommen hat? Für mich haben die vorliegenden Erklärungsversuche der Erhaltung und Uebertragung von Eigenschaften durch stoff-

1) A. Zimmermann, Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Pflanzenzelle I und II. Tübingen 1890—91.

2) Vergl. neben den früheren, in der Bot. Zeitung niedergelegten Aufsätzen des Verfassers hauptsächlich: Beiträge zur Kenntniss des Zellkerns und der Sexualzellen, Bot. Zeitung 1887. Inwiefern übrigens das Plastin Z's der erythrophilen das Nuclein der kyanophilen Substanz entspricht, bleibt zu untersuchen.

liche Grundlagen, so verdienstvoll der Gedanke an sich sein mag und so viel Scharfsinn in seiner Ausführung bewiesen ist, doch wenig Befriedigendes. Anderen mag es auch so gehen.

### Zusammenfassung der Resultate.

In den vegetativen Kernen von *Scilla sibirica* lassen sich zweierlei Kernkörperchen unterscheiden, von welchen die einen erythrophil sind (Einnucleolen), die anderen kyanophil (Pseudonucleolen). Diese letzteren gehören zu dem chromatischen Gerüst des Kernes oder vertreten dasselbe.

Das chromatische Kerngerüst, sowie seine Producte, der Kernfaden und die „Trennungsfäden“ sind kyanophil; die (Eu-) Nucleoten, die Spindel- und Verbindungsfäden, sowie die Zellplatte sind erythrophil; ebenso das Cytoplasma.

Der generative Kern des Pollenkorns ist kyanophil, wie die Spermatozoenköpfe bei den Wirbelthieren; er ist auch im Bau sehr verschieden vom dem sogenannten vegetativen Kern des Pollenkorns, welcher erythrophil ist.

Der Eikern, sowie alle Kerne im Embryosack sind erythrophil. Die Erythrophilie macht sich schon an dem Kern der Embryosack-Mutterzelle deutlich kenntlich.

Es besteht in Bezug auf die Chromatophilie eine vollkommene Uebereinstimmung zwischen dem Sexualkerne der untersuchten Liliaceen und denen der von L. Auerbach studirten Wirbelthiere.

## Figurenerklärung.

Sämtliche Figuren sind nach Zeiss' hom. Imm. Apochrom. 3,0 mm gezeichnet.

Fig. 1—4. *Scilla sibirica*, Kerne aus der Samenknospe.  $\frac{750}{1}$

1. Fuchsinpräparat, alle Nucleolen gefärbt; c. Eunnucleolen.
2. Säurefuchsin-Methylenblau, Eunnucleolen roth;
3. 4. ebenso, Umkehrfärbung. Eunnucleolen blau.

Fig. 5—12. *Hyacinthus orientalis*.  $\frac{1000}{1}$

5. Fuchsin-Methylenblau. Ruhender Kern. Eunnucleolen roth;
6. ebenso, Umkehrfärbung, Eunnucleolen blau, violett berandet;
7. 8. 9. Bildung des Kernfadens aus der kyanophilen Substanz; Fuchsin Methylenblau.
10. Karyokinese, Stadium der Zellplatte; Fuchsin-Methylenblau;
11. ebenso, Stadium der „Trennungsfäden“; die Verbindungsfäden sind im mittleren Kernraum schon verschwunden und nur noch an der Peripherie deutlich; Fuchsin-Methylenblau.
12. Pollenkorn im Querschnitt; generativer Kern blau, vegetativer roth; Säurefuchsin-Methylenblau. (Die grünblaue Färbung der Exine ist nicht wiedergegeben.)
13. *Fritillaria imperialis*, Scheitel des Embryosackes mit den Synergiden, dem Eikern und dem definitiven Embryosackkern. Säurefuchsin-Methylenblau;  $\frac{500}{1}$
14. *Tulipa spec.* Embryosack-Mutterzelle mit erythrophilem Kern. (Anfang Februar.) Säurefuchsin-Methylenblau;  $\frac{1000}{1}$
15. *Fritillaria imperialis*, Embryosack mit zwei Karyokinesen. Säurefuchsin-Methylenblau;  $\frac{500}{1}$ .



# Beiträge zur Morphologie und Biologie der Algen.

Von G. Hieronymus.

Mit Tafel XVII und XVIII.

## I. *Glaucoecystis Nostochinearum* Itzigsohn.

Die von Itzigsohn in Rabenhorst's Flora Europaea Algarum, Sect. III, p. 417 im Nachtrag zu den *Phycochromophyceen* beschriebene *Glaucoecystis Nostochinearum* ist im Allgemeinen keine allzu häufige Alge in Torfmoos führenden Sümpfen und an mit Sphagnum bewachsenen, quelligen Stellen, sowohl in der Ebene, wie im Gebirge. Ich fand dieselbe im Riesengebirge bisher an quelligen Stellen zwischen der Tannenbaude und den Forstbuden und zwischen dem Hemmerich und den goldenen Schlüsselsteinen bei Schmiedeberg, ferner in der Quelle bei der Kirche Wang, an quelligen Stellen am Wege von Bronsdorf nach der Annakapelle und am Wege von der Josephinenhütte nach dem Zaackenfall. Ueber diese interessante Alge, welche bisher unter den *Phycochromaceen*, und zwar unter den *Chroococcaceen* aufgezählt wurde, hat G. Lagerheim im II. Jahrgang der Berichte der deutschen Botanischen Gesellschaft, 1884, S. 302 bis 304, eine kurze Mittheilung gemacht. Lagerheim sagt daselbst Folgendes: „*Glaucoecystis Nostochinearum* Itzigsohn sieht den Arten der *Palmellaceengattung* *Oocystis* Naeg. sehr ähnlich, wird aber von diesen durch den blauen Zellinhalt leicht unterschieden. Die Zellen, die bald einzeln, bald (2—8) zu Zellfamilien vereint vorkommen, sind oval, selten etwas eiförmig, 10—14  $\mu$  breit und 18—21  $\mu$  lang. Die Membran ist an den Enden nicht verdickt. Bei den jungen Zellen, die von der Membran der Mutterzelle noch umgeben sind, beobachtet man mit Leichtigkeit mehrere Chromatophoren. Diese sind unregelmässig bandförmig oder fadenförmig, zuweilen fast von einem gemeinsamen Punkt (Fig. 1 loc. c. p. 304) ausgehend, oder auch mehr unregelmässig vertheilt. Sie sind etwa 2,5  $\mu$  dick und von einer schönen blaugrünen Farbe. Der übrige Theil des Zellinhalts ist farblos. Bei den völlig ausgewachsenen Zellen haben sich die Chromatophoren in eine grosse Menge kleiner Körner getheilt 0,5, bis

2  $\mu$  im Diam. (Fig. 2, 3 l. c.) Diese blauen Körner bilden einen bald offenen, bald geschlossenen Sack, der in einiger Entfernung von der Zellwand liegt und farblosen Zellinhalt umschliesst. Es ist mir nicht gelungen, das Vorkommen eines „nucleus distinctus“ in diesem Zellinhalt zu constatiren, der doch, nach der Beschreibung in Rabenhorst's Flora Europaea Algarum, vorhanden sein sollte. Auch in „Die Algen Europas No. 1935“ sagt Rabenhorst von dieser Alge: „Zellen, welche . . . . . im Innern einen deutlichen helleren centralständigen Zellkern enthalten.“ Durch Anwendung von Essigsäure und Eosin habe ich mich überzeugt, dass der ‚Zellkern‘ nur eine Vacuole ist“.

So weit Lagerheim. Ich will nun zu meinen eigenen Untersuchungen übergehen. Als ich zuerst im Jahre 1889 die merkwürdige Alge im Riesengebirge auffand, erschien es mir von Interesse, nachdem ich bereits zahlreiche andere *Phycochromaceen* untersucht hatte, auch *Glaucocystis* genauer zu studiren, und zwar entnahm ich das Untersuchungsmaterial derselben einer damals der Sonne ziemlich ausgesetzten Stelle in einer jungen Fichtenaupflanzung zwischen der Tannenbaude und den Forstbauden bei Schmiedeberg, einer quelligen Stelle in einem erst kürzlich hergestellten Graben, der nur erst von wenigen Sphagnumpflänzchen bewohnt war. Fast sämtliche der daselbst entnommenen *Glaucocystis*-Familien, welche in nur sehr geringer Anzahl an den Sphagnumpflänzchen klebten, zeigten Zellen, welche sich in dem von Lagerheim unter Fig. 1 a. ang. Orte S. 304 abgebildeten Zustande befanden und von Lagerheim als „junge Zellen“ bezeichnet worden sind. Jede einzelne Zelle der Familien zeigte eine beschränkte Anzahl mehr oder weniger hin und hergewundener oder gekrümmter, länglich wurst- oder fadenförmiger Chromatophoren, welche sämtlich oder doch grösstentheils von einem gemeinsamen, hellen Fleck ausstrahlten, der sich mehr oder weniger im Centrum der Zelle befand. Das Ausstrahlen der Chromatophoren von diesem hellen Fleck fand nur selten in der Weise statt, dass sie sich um denselben herum gleichmässig in alle Raumesrichtungen theilten, wie dies Lagerheim abbildet, sondern meist so, dass ihre an den hellen Fleck grenzenden Endtheile von diesem aus schräg nach der Lichtseite, welche stets eine der Längsseiten der Zelle war, hin gerichtet waren, so dass sie hier zusammen einen trichterförmigen Raum begrenzen, ihr übriger Theil aber dann bogenförmig mehr oder weniger parallel der Wand der Zelle nach Aussen und nach der unteren, dem Licht abgekehrten Zellseite zu verlief. Die ganze von den Chromatophoren gebildete Figur liess sich nicht unpassend als spinnenbeinartig bezeichnen, wobei man den hellen Fleck gewissermassen als Spinnenleib gelten lässt (vergl. Fig. 1 und 2). Diese Spinnenform wird gewöhnlich nur von verhältnissmässig wenigen, dünnen und langen Chromatophoren gebildet. Ich zählte oft nur 12, 14 und 16, bisweilen aber auch bis 20. Sind dagegen mehr Chromatophoren derselben Art oder aber verhältnissmässig dickere vorhanden, so strahlen dieselben mehr gleichmässig nach allen

Richtungen des Raumes vom Centrum aus, doch sind dieselben dann, wenn sie dünn und lang sind, auch stets halbkreisförmig gebogen. Bisweilen umgeben sie auch zwei entgegengesetzte Pole des erwähnten hellen Fleckes (siehe Fig. 3). Was nun die Gestalt der Chromatophoren anbelangt, so habe ich nie eine wirklich bandförmige Form desselben gesehen. Der optische Querschnitt der Chromatophoren war stets kreisförmig, so dass sie wohl als fadenförmig, nicht aber als bandförmig bezeichnet werden konnten. Zugleich ist jedoch das Ende des Fadens, welches dem hellen Fleck zugeeignet ist, immer dünner, als das andere, bisweilen erreicht er nur 0,1  $\mu$  an Durchmesser. In der Richtung nach Aussen zu nimmt die Dicke aber nach und nach zu, bei vielen Chromatophoren nur mässig, bei anderen aber auch so, dass das freie äussere Ende 1,5 bis 2  $\mu$  dick ist und auch wohl bis 2,5  $\mu$  an Dicke erreichen kann. Bei vielen Chromatophoren kann man auch erkennen, dass sie ausser der verschiedenen Dicke an den beiden Enden noch eine zweite Abweichung von der einfachen Fadenform zeigen. Deutlicher wird dies noch an fixirtem und gefärbtem Material. Man erkennt dann meist leicht, wenigstens mit den Zeiss'schen neuen apochromatischen Systemen, dass die Chromatophoren aus einzelnen kugeligen oder zusammengedrückt kugeligen, schliesslich am dickeren Ende oft aus linsen- oder geldstückförmigen und wie in einer Geldrolle aneinandergelegten Theilen bestehen, so dass der Faden sich bald mehr der Form einer Perlschnur nähert, also nostoefadenartig ist, bald mehr einer Geldrolle gleicht, also oscillarienartig aussieht (vergl. Fig. 10). An mit Alkohol ausgezogenem und fixirtem und dann mit Carmin-Essigsäure gefärbtem, sowie an mit Chromsäure fixirtem und mit Haematein-Ammoniak gefärbtem Material konnte ich auch oft innerhalb der einzelnen Glieder der Chromatophoren deutlich einen scheinbar nicht gefärbten, mehr oder weniger kugeligen oder der Form der geldstückförmigen Glieder sich anpassenden Körper wahrnehmen, welcher aus einer stark Licht brechenden Substanz besteht und darum vielleicht weniger gefärbt erscheint. Die Glieder mit den Innenkörpern halte ich für die Arthur Meyer'schen „Grana“. Leider habe ich zur Zeit, als mir lebendes Material zur Verfügung stand, nicht auf die Vertheilung des grünblauen oder fast blauen Farbstoffes geachtet und ob die Grana auch an der lebenden Pflanze sichtbar sind. Schliesslich sei hier noch erwähnt, dass es mir oft schien, als wenn jeder Chromatophorenfaden von einer besonderen, das Licht ziemlich stark brechenden, zarten Hülle umgeben sei, die anscheinend Farbstoffe schwer aufnimmt oder doch ebenso leicht wie das Zellplasma durch geeignete Mittel völlig zu entfärben ist. Die Structur der Chromatophoren ist mithin sehr eigenthümlich. Man kann dieselben vielleicht als nur eine Fibrille enthaltende <sup>1)</sup> bezeichnen.

1) Vergl. über die Structur der Chromatophoren bei Frank Schwarz: Die morphologische und chemische Zusammensetzung des Protoplasmas in Cohn's Beiträgen zur Biologie der Pflanzen. Bd. V, S. 38—74.

Was nun den hellen Fleck anbelangt, nach welchem die Chromatophoren ihren einen Endpunkt richten, so scheint in der That, wie Lagerheim gefunden hat, stets eine Vacuole vorhanden zu sein, um dieselbe herum jedoch zugleich stets eine dichtere Ansammlung von hyalinem Protoplasma. Den Zellkern, welchen ich in Folge der Angaben Rabenhorst's, wie auch Lagerheim, bei den erwähnten Zuständen im Centrum, also im sogenannten hellen Fleck, suchte, fand auch ich hier nicht, dagegen konnte ich stets unterhalb desselben, meist in mehr oder weniger schräger Richtung, also excentrisch in der einen oder der andern Hälfte der Zelle denselben nachweisen, nachdem ich einige *Glaucozystis*-Familien mit Alkohol oder wässriger Chrom- oder Pikrinsäurelösung fixirt und mit Haematein-Ammoniak oder mit Carmin-Essigsäure gefärbt hatte. In den lebenden Zellen ist der Zellkern kaum sichtbar, oft völlig unsichtbar, an nur fixirtem Material aber schon zu erkennen. Derselbe tritt jedoch nach Färbung, wenn dieselbe gut gelungen ist und etwaige Ueberfärbung entfernt ist, ganz ausserordentlich deutlich als abgegrenzter flach scheibenförmiger, bisweilen etwas wellig gebogener Körper hervor und zeigt eine von den sogenannten Zellkernen der meisten übrigen unter die *Phycchromaceen* gestellten Gattungen ganz abweichende, hohe Organisation. Dieser Zellkern findet sich bei den geschilderten Zuständen von *Glaucozystis* stets in ruhendem Zustande, also nicht in Theilung. Der grösste Durchmesser oder der Scheibendurchmesser beträgt nach an fixirtem und gefärbtem Material angestellten Messungen etwa 4 bis 4,5  $\mu$ , der Höhendurchmesser in der Mitte der Scheibe oder die Scheibendicke etwa nur 1  $\mu$ . Im Centrum des Zellkerns, bisweilen auch etwas ausserhalb desselben, befindet sich stets ein grösseres, den Farbstoff stark speicherndes, bisweilen rundliches, oft aber auch deutlich polyedrisches Körnchen, das etwa bis 0,75  $\mu$  Durchmesser erreichen mag. Ich halte dieses Körnchen für einen Nucleolus. Doch ist die Möglichkeit, dass es ein grösseres Chromatinkörnchen ist, nicht ausgeschlossen. Die übrige Masse des Zellkerns ist dicht von zahlreichen, nicht immer in der Grösse einander gleichen Chromatinkörnern erfüllt, die in der Nähe des Centrums am Nucleolus oft in grösserer Zahl gehäuft sind, so dass dieser bisweilen schwer oder doch nicht deutlich sichtbar ist (vergl. Fig. 8 und 9). Die Chromatinkörner liegen scheinbar in einer den Farbstoff zwar auch aufnehmenden, aber durch entsprechende Entfärbungsmittel leicht wieder farblos werdenden homogenen Masse. Das dieselbe vermuthlich durchziehende achromatische Fadengerüst ist auch bei Anwendung der stärksten und besten Vergrösserungssysteme nicht deutlich sichtbar, doch ist die Fadenstructur deutlich an der Lage der Chromatinkörner in Reihen zu erkennen. Dasselbe ist ja auch bei vielen Zellkernen von anderen Algen und sonstigen niederen Organismen der Fall, und bei der Kleinheit des Objects erklärlich.

Der geschilderte Zustand, bei welchem die Chromatophoren vom Centrum gleichmässig ausstrahlen oder eine spinnenbeinartige Anordnung

zeigen, wird von Lagerheim als Jugendzustand betrachtet. Meines Erachtens sind jedoch die in diesem Zustande befindlichen Zellen schon völlig ausgewachsen. Dieselben haben auch meist die von Lagerheim für die erwachsenen Zellen angegebene Grösse, ja sind sogar bisweilen etwas grösser. Ich fand solche bis 15  $\mu$  breit und dick und bis 27  $\mu$  lang. Allerdings kommen noch etwas grössere, etwa 16  $\mu$  breite und dicke und bis 30  $\mu$  lange Zellen vor. In diesen fand ich jedoch stets mehrere Zellkerne und viele kleine Chromatophoren, so dass man solche Zellen schon als im Theilungs- und Vermehrungszustand begriffene betrachten muss.

Derartige grössere Zellen sind meist isolirt und aus der Mutterzellohülle befreit. Erst im Juli des Jahres 1891 gelang es mir, dieselben aufzufinden, und zwar entnahm ich das betreffende Material einer Quelle, welche sich in lichtem Gebüsch zwischen den goldenen Schlüsselsteinen und dem Hemmerich bei Schmiedeberg befindet. Hier waren sowohl Familien wie einzelne Zellen von *Glaucozystis* zahlreicher vorhanden, als an den übrigen obengenannten Fundorten. Mit Hilfe dieses Materials gelang es mir nun, die Entwicklungsgeschichte fast vollständig festzustellen. Familien, welche radien- oder spinnenbeinartig ausstrahlende Chromatophoren besaßen, waren hier in den ziemlich dichten, den Rand der Quelle auskleidenden Torfmoospolstern nur spärlich vertreten. Dagegen lagerten in den Zellen vieler Familien meist zahlreiche und nicht sehr lange gleichmässig dicke, unregelmässig hin und hergewundene Chromatophoren, parallel der Zellmembran, mehr oder weniger dieser angeschmiegt. Von dem eine Vacuole enthaltenden, hellen Fleck, der ja bei dem anderen Zustande nur durch die ihm umgrenzenden Chromatophorenden deutlich gekennzeichnet war, war nichts mehr zu sehen. Doch war hier der Zellkern meist in das Centrum eingerückt (vergl. Fig. 4, 5 und 6). Bei einigen wenigen derartigen Zellen konnte ich bisquitförmige Theilungszustände des Zellkerns beobachten und auch einmal regelmässige Kerntheilungsfiguren in denselben bemerken. Leider genügte das Material nicht, um die nach einander folgenden Phasen der Kerntheilung festzustellen. Dagegen war es mir möglich, mehrfach Zellen zu beobachten, in welchen die Kerntheilung bereits vollendet war und sich zwei meist noch dicht nebeneinander im Centrum der Zelle liegende Kerne befanden. An anderen Zellen waren diese beiden oder doch einer der Tochterkerne abermals in Theilung begriffen. Noch andere Zellen zeigten 4 bereits entwickelte Kerne (vergl. Fig. 7). Da es auch achtzellige Colonien giebt (Fig. 5), so werden sich vermutlich die entstandenen 4 Zellkerne bisweilen nochmals theilen können, und also auch ältere Zellen vorkommen, welche 8 Kerne führen, doch konnte ich leider keine solchen beobachten. Während die Theilungen der Zellkerne vor sich gehen, finden auch Theilungen der Chromatophoren statt. Diese fadenförmigen Gebilde zerfallen oft durch Quertheilung in 2 oder mehrere längliche Stücke, die sich dann weiter theilen, meist aber fast gleichzeitig in viele kleine kugelige Stücke, welche den oben beschrie-

benen Gliedern der fadenförmigen Chromatophoren entsprechen. Die Anzahl dieser Gebilde wird also ausserordentlich vermehrt. Dies ist der Fall zur Zeit, wenn auch die 2 bis 8 definitiven Zellkerne in der Zelle gebildet werden. Nach der Vollendung der Theilungen beider erfolgt nun erst die Theilung der betreffenden Zelle selbst. Leider reicht mein Material nicht aus, um festzustellen, ob nun in dem Falle, dass 4 oder 8 Tochterzellen entstehen, die Zellen durch successive Zweitheilung gebildet werden, oder ob der Zellinhalt sich gleichzeitig in 4 oder 8 Theile sondert. Ich möchte jedoch letzteres für wahrscheinlicher halten. Da sich auch Familien mit 3 und 5 Zellen finden, so muss es wohl auch vorkommen, dass nur einer der 2 entstandenen Tochterkerne sich in Enkelkerne, resp. nur einer der 4 entstandenen Enkelkerne sich in Urenkelkerne theilt. Auch sechszellige *Glaucocystis*-Familien fand ich, dagegen konnte ich nicht siebenzellige beobachten, doch sind solche vermuthlich auch vorhanden. Nicht aber dürfte die Zahl 8 überschritten werden. Am häufigsten sind vierzellige Colonien, bei Weitem seltener zwei- und achtzellige, nur ausnahmsweise kommen solche mit den anderen Zahlen vor.

Die Chromatophoren, von denen jede entstandene Theilzelle eine Anzahl mitbekommt, sind in den ganz jungen Zellen, welche noch keine oder nur eine sehr schwache Membran besitzen, noch ziemlich kugelig (vergl. Fig. 6). Später wachsen dieselben in die Länge, gliedern und ordnen sich, falls nicht eine annähernd die Zahl 20 überschreitende Anzahl vorhanden ist, zu der oben beschriebenen strahlen- oder spinnenbeinartig geordneten Form an. Es scheint aber nicht nöthig zu sein, dass eine jede Zelle diesen Zustand durchmacht. Ich vermute vielmehr, wie ich oben schon andeutete, dass diese eigenthümliche Anordnung in Folge der Einwirkung von verhältnissmässig starker Belichtung eintritt, und der Zweck derselben ist, die verhältnissmässig geringe Anzahl der Chromatophoren möglichst als Schirm des Zellkerns vor zu starker Belichtung auszunützen. Sind verhältnissmässig viel Chromatophoren vorhanden, so genügen dieselben als Schutzmittel auch in der peripherischen Lage. Auch die eigenthümliche excentrische Lage des Zellkerns bei der strahlen- oder spinnenbeinartigen Anordnung mag durch die Belichtungsverhältnisse bedingt sein, und der Zellkern an der von ihm eingenommenen Stelle am meisten Schatten finden<sup>1)</sup>.

1) Es scheint mir im Allgemeinen noch nicht genügend festgestellt, dass die Stellungen, welche die Chromatophoren einnehmen, je nachdem sie mehr oder weniger starker Belichtung ausgesetzt werden, nicht nur von dem jeweiligen Lichtbedürfniss der Chromatophoren selbst, sondern auch von dem des Zellkerns abhängen. Doch sprechen viele Thatsachen dafür, dass dem so ist und die Chromatophoren oft als Schirm für den Zellkern dienen. So z. B. die Thatsache, welche Stahl (vergl. Botan. Zeitung, 33. Jahrg. 1880. S. 323) an *Vaucheria* beobachtete, dass in den stark und längere Zeit besonnten Schläuchen die Chromatophoren sich in einzelnen Gruppen sammeln, die sich zu dicken der Wand anliegenden

Ausser den Chromatophoren und dem Zellkern enthält das meist nur von wenigen Zellsaft führenden Vacuolen unterbrochene Protoplasma relativ

Haufen zusammenballen. Es ist mir nicht zweifelhaft, dass im Centrum eines jeden solchen Chromatophorenhaufens ein Zellkern verborgen ist. Ich schliesse dies aus einer analogen Beobachtung, die ich an *Chlamydomyxa labyrinthoides* Archer machte. Als ich nämlich Sphagnumbältehen, in deren durchlöchernten Zellen sich zahlreiche Sommereysten dieses Raumparasiten befanden, einige Stunden dem directen Sonnenlichte aussetzte, zogen sich in den letzteren, welche nicht allzuviel Chromatophoren führten, diese in so viel sternförmige Gruppen zusammen, als Zellkerne vorhanden waren. Diese letzteren aber befanden sich einzeln innerhalb der Gruppen. Die Chromatophoren zeigten dabei fast alle Profilstellung. Ganz etwas Aehnliches erfolgt bei *Eremosphaera viridis* de Bary, wenn man diese Alge dem directen Sonnenlicht aussetzt. Auch hier gruppieren sich die Chromatophoren um den in der Mitte der Zelle liegenden einzelnen Zellkern in Profilstellung. Die bekannte, bei Farnprothallien, *Fuvaria hygrometrica*, Arten von *Minium* etc. leicht zu beobachtende Wanderung der Chlorophyllkörper kann meines Erachtens auch nur völlig erklärt werden, wenn man das Lichtbedürfniss des Zellkerns mit in Betracht zieht. So ist die Dunkelstellung, bei welcher die Chlorophoren auf die zur Fläche der Objecte senkrechten Zellwandungen wandern, nur dadurch ganz verständlich, dass man annimmt, dass hier das Lichtbedürfniss des Zellkerns in erster Linie berücksichtigt wird. Die Chlorophoren treten zur Seite, um dem Zellkern die Möglichkeit zu gewähren, von dem herrschenden Minimum von Licht so viel wie möglich zu profitieren, und müssen dem Zellkern nachstehen. So äussert sich der Kampf ums Dasein selbst in der Zelle. Das Lichtbedürfniss des Zellkerns ist zweifellos geringer; ist das Licht jedoch auf ein bestimmtes Minimum reducirt, so müssen die Chromatophoren dem Zellkern nachstehen und möglichst zur Seite treten.

Ausser den Chromatophoren giebt es in den Zellen der Algen oft noch besondere Körper, welche dem Zellkern und bisweilen auch noch den Chromatophoren als Schirm gegen das grelle directe Sonnenlicht dienen. Es sind das farbige Oelkörper. So kommen bei Algen roth- (seltener olivengrün bis fast schwarz-) gefärbte Oelkörper vor. Solche Körper besitzen stets ein protoplasmatisches Gerüst, welches besonders nach der Fixirung und Entölung vermittels Alkohol manche Farbstoffe sehr stark speichert und auch gegen Entfärbungsmittel bisweilen intensiver zurückhält, als selbst die in den Zellkernen befindlichen Chromatinkörner. Dieselben kommen bekanntlich häufig vor bei *Peridineen*, bei dem vermuthlich in die nächste Verwandtschaft derselben gehörenden *Urococcus insignis* Hass. und bei der oben bereits genannten, vermuthlich auch den *Peridineen* nahe zu stellenden, amöbenbildenden *Chlamydomyxa labyrinthoides* Archer. Bei allen den genannten Organismen fand ich diese rothen Oelkörper fast stets in der Nähe der Zellkerne gelagert. Es veranlasste mich diese Thatsache Insulationsversuche mit diesen Organismen anzustellen. Ich hatte bei allen dreien, nachdem dieselben mehrere Tage bis mehrere Wochen an einem nach Südwesten liegenden Fenster, dem directen Licht möglichst ausgesetzt, gezüchtet worden waren, annähernd die gleichen Resultate. Besonders jedoch eigneten sich zu dem Versuche *Peridineen*-Ruhezellen, welche ich in einem kleinen Teiche bei Klein-Masselwitz bei Breslau zahlreich, einen braunen Ueberzug bildend, an im Wasser schwimmenden Typhablättern festsitzend fand, und die anscheinend zum grössten Theil von *Peridinium tabulatum* und zum kleineren Theil von *Glenodinium cinctum* oder einer verwandten Art stammten. Diese *Peridineen*-Ruhezellen eigneten sich deshalb besonders, weil sie ziemlich fest auf den Typhablättern in einschichtiger Lage eine dicht neben der andern sassen, sich leicht mit dem

grosse, das Licht stark brechende Mikrosomen oder Körnchen, welche besonders an fixirtem Material sehr deutlich sichtbar sind. Diese Mikrosomen zeigen stets deutliche Anordnung in hin- und hergewundenen und unter-

Messer von der Epidermis in Masse loslösen, und ohne dass die Zellen aus ihrer zu einander eingenommenen Lage gebracht wurden, unter das Mikroskop legen liessen. Die von mir an diesen beobachteten Erscheinungen bestehen nun darin: 1) dass viele Chromatophoren sich zusammenballten, die rothe Farbe annahmen und dadurch solche rothe Oelkörper in grösserer Zahl gebildet wurden; 2) dass diese vor den in der Mitte der Zelle befindlichen Zellkern sich derart lagerten, dass er möglichst vor dem directen Sonnenlicht geschützt war; 3) dass die erhalten gebliebenen Chromatophoren sich sämmtlich an der Wand der dem einfallenden Licht entgegengesetzten unteren Hälfte der Zelle möglichst dicht zusammenordneten. Wurde die Insolation wochenlang fortgesetzt, so wurden sogar sämmtliche Chromatophoren in derartige rothe Oelkörper umgewandelt, welche bisweilen zu einem oder zwei grossen, den Zellkern schirmenden Massen sich zusammenballten. Der Kampf ums Dasein zwischen den Chromatophoren und dem Zellkern wird also hier bis an die äusserste Grenze, bis zu dem völligen Unterliegen der Chromatophoren, fortgesetzt. Ob derartige *Peridineen*-Ruhezellen, welche sämmtliche Chromatophoren auf diese Weise verloren haben, noch weiterhin lebensfähig sind, d. h. ob aus ihnen sich *Peridineen*-schwärmer bilden können, ist mir zweifelhaft. Doch ist es wohl nicht unmöglich, dass die bei manchen *Peridineen* vorkommenden chromatophorenlosen Varietäten, wie ich sie auch an der genannten Localität beobachtete, aus solchen Zellen entstanden sind. Die rothen Oelkörper müssen als getödtete Chromatophorenhäufen betrachtet werden und werden gelegentlich auch von den Zellen als unnützer Ballast ausgeschieden bei dem Act der Verjüngung oder bei Zelltheilung und zwischen die neugebildete Membran und die alte Zellhülle abgelagert. Bei *Chlamydomyxa labyrinthuloides* Arch. hat dies bereits P. Geddes beobachtet (vergl. P. Geddes, Observations of the Resting State of *Chlamydomyxa labyrinthuloides* Archer in Quaterly Journal of Microscopical Science vol. XXII. new. Series, London 1882. p. 30 u. f. Pl. V. Fig. 14, 23, 24).

Auch noch bei anderen Pflanzen als Algen finden sich Oelkörper, welche dem Zellkern als Schirm gegen ungünstige zu starke Belichtung dienen. So kommen bei dem Lebermoose *Calypogeia Trichomanis* (Dill.) Corda schön blau gefärbte Oelkörper in allen dem Licht mehr ausgesetzten Zellen vor. Dieselben entstehen aber hier nicht aus den Chromatophoren, sondern wie überhaupt die Oelkörper der Lebermoose in der protoplasmatischen Hülle des Zellkernes der jugendlichen Zellen und umhüllen denselben anfangs vollständig. Später theilt sich die Oeltropfen führende Hülle in meist 3 bis 5 Theile, die zahlreichen kleinen in diesen Theilen eingebetteten Oeltröpfchen vereinigen sich zu wenigen grösseren (bisweilen zu nur zwei), welche von einem protoplasmatischen Gerüst umgeben, je einen solchen Theilkörper bilden. Diese Theilkörper bleiben aber auch in den älteren Zellen stets in der Nähe des Zellkernes als Schutz gegen zu grelle Beleuchtung. Diese blauen Oelkörper haben bei *Calypogeia Trichomanis* mithin einen doppelten Zweck. Dieselben dienen auch noch, wie E. Stahl für alle Lebermoose in seiner inhaltsreichen Abhandlung (Pflanzen und Schnecken. Jena 1888) nachgewiesen hat, als Schutzmittel besonders gegen Schneckenfrass.

Eine eingehendere Mittheilung über die hier in der Anmerkung erwähnten That-sachen, welche sich auf den Schutz des Zellkerns durch Chromatophoren und Oelkörper, sowie auf den Kampf ums Dasein zwischen Zellkern und Chromatophoren beziehen, werde ich gelegentlich machen.

einander mässig verschlungenen Fibrillen, welche sowohl zwischen den Chromatophoren und dann diesen meist parallel im protoplasmatischen Wandbeleg lagern, wie auch im Innern der Zellen zwischen diesen und dem Zellkorn zahlreich vorhanden sind und dichte Fadengerüste bilden. Aehnliche Fadenwerke hat auch Berthold<sup>1)</sup> in der farblosen Grundmasse von *Bryopsis* und F. Schwarz<sup>2)</sup> bei *Spirogyra* sp. und *Mucium undulatum* beobachtet. Andere irgendwie geformte Theile sind in der Zelle nicht vorhanden.

Die Membran der erwachsenen *Glaucocystis*zelle zeigt keine deutliche Cellulosereaction, weder nach Behandlung mit Chlorzinkjod oder Jod und Schwefelsäure, noch bei Congorothfärbung, obgleich sie von letzterem Farbstoffe etwas aufnimmt. Von dem ersten Reagens wird sie leicht gebräunt. Dieselbe ist  $\frac{1}{2}$  bis  $\frac{3}{4}$   $\mu$  dick und verschleimt nicht, sondern platzt, um die herangewachsenen Tochterzellen zu entlassen. Eine deutliche Schichtung derselben ist nicht zu erkennen, doch scheint sich eine äussere Schicht etwas stärker mit Methylgrün und anderen Farbstoffen zu färben.

Was nun die Stellung im Algensystem betrifft, welche *Glaucocystis Nostochinearum* Itzigson einzunehmen hat, so wird sie wohl mit einigen anderen Gattungen aus der Klasse der *Phycochromophyceen* (*Phycochromaceen* oder *Cyanophyceen*) ausgeschlossen werden müssen. Eine nahe verwandte Gattung scheint mir *Chroothecce* mit den beiden Arten *Chroothecce rupestris* Hansgirg und *Richteriana* Hansgirg<sup>3)</sup> zu sein, bei welcher letzterer Schmitz nach brieflicher Mittheilung an Hansgirg ausser den von diesem bereits gesehenen Chromatophoren auch Zellkerne wahrnahm. An dem von Hansgirg in Hauck et Richter, *Phykotheka universalis* unter No. 144 ausgegebenen Exemplaren konnte auch ich sowohl die rundlichen oder scheibenförmigen Chromatophoren, wie auch den Zellkern nachweisen. Beide heben sich, allerdings nicht besonders deutlich, aus dem hyalinen Protoplasma, das im Uebrigen die Zellen erfüllt, ab, sind sehr klein und bei Weitem weniger gut unterscheidbar, auch nach Fixirung und Färbung, als die entsprechenden Theile von *Glaucocystis Nostochinearum* Itzigs., doch dürften beide vielleicht an lebendem oder doch lebend fixirtem Material besser sichtbar sein. Hansgirg<sup>3)</sup> fand auch bei seinem *Chroodactylon Wolleanum* Chromatophoren und Zellkern. Leider konnte ich jedoch diese Alge aus Mangel an Material noch nicht nachuntersuchen. Dieser Alge soll *Hormospora ramosa* Thwait. (*Chroodactylon ramosum* Hansgirg) nahe verwandt sein, in deren Zellen zuerst Harvey sternförmige Chromatophoren und deutliche Pyrenoiden erkannt hat. Ohne Zweifel ge-

1) Berthold: Studien über Protoplasmamechanik, 1886, S. 60.

2) F. Schwarz: Die morphologische und chemische Zusammensetzung des Protoplasmas in Cohn's Beiträgen zur Biologie der Pflanzen, Bd. V. 1887, S. 133, Fig. 152—154.

3) Hansgirg: Ein Beitrag zur Kenntniss von der Verbreitung der Chromatophoren und Zellkerne bei den Schizophyceen (Phycochromaceen) in den Berichten d. Deutsch. Botan. Gesellschaft. III. Bd., 1885, S. 14—22.

hört in die Verwandtschaft von *Glaucocystis* und *Chroothoece* das von Frau A. Weber-van Bosse<sup>1)</sup> auf Faulthierhaaren entdeckte *Cyanoderma Bradypodis* A. Weber v. Bosse, dessen Zellen, wie ich mich überzeugen konnte, je mehrere rundliche oder scheibenförmige blauviolette Chromatophoren und je einen Zellkern besitzen. Nahe verwandt mit diesem ist das vielleicht aus Ostindien stammende *Phragmonema sordidum* Zopf, welches Zopf im Berliner Botanischen Garten auf den Blättern von *Ficus barbata* Wall. entdeckte und von welchem ich Material Herrn P. Hennings in Berlin verdanke. Bereits Zopf<sup>2)</sup> hatte bei dieser Alge das Vorkommen von deutlichen Chromatophoren angegeben, und zwar ist nach ihm nur ein Chromatophor in jeder Zelle vorhanden, welches die Form eines anastomosirenden Bandes haben soll. Ich fand jedoch scheiben- oder linsenförmige, rundliche oder bisweilen etwas längliche Chromatophoren, und zwar mehrere in jeder Zelle, welche an dem trockenen Material eine intensiv violett-blaue Farbe zeigten und sich deutlich als gesonderte Körper erkennen liessen. Auch den von Schmitz<sup>3)</sup> bei dieser Alge gesehenen Zellkern habe ich nach Fixirung und Färbung des Materials mit Carmin-Essigsäure und Haematein-Ammoniak nachweisen können. Derselbe ist aber allerdings sehr klein und schwer zu erkennen.

Ob noch andere bisher unter die *Phycchromaceen* gestellte Algen in die Verwandtschaft der Gattungen *Glaucocystis*, *Chroothoece*, *Chroodactylon*, *Cyanoderma* und *Phragmonema* gehören, kann ich zur Zeit nicht beurtheilen. Das von Tangl<sup>4)</sup> beschriebene *Plaxonema oscillans* Tangl, welches nach diesem Autor ein scheibenförmiges blaues Chromatophor besitzt, ist zweifelhaft, doch ist es wahrscheinlicher, dass dasselbe in die Verwandtschaft der *Oscillariaceen* gehört. Hansgirg<sup>5)</sup> hält es sogar für identisch mit *Oscillaria leptotricha* Kütz. Leider konnte mir Herr Professor Tangl bis jetzt kein Material zur Untersuchung liefern. Zweifelhaft, ob hierher gehörig, scheint mir auch *Glaucanema*, bei dem Reinhardt<sup>6)</sup> einen Kern mit Nucleolus gefunden haben will, ferner *Allogonium halophilum* Hansgirg, bei dem Hansgirg<sup>5)</sup> Chromatophoren beobachtet hat, und schliesslich die Gattung *Glocochaete* Lagerheim mit der Art *G. Wittrockiana* Lagerh. (syn. *Schrammia barbata* Dang.), bei welcher Alge so-

1) A. Weber-van Bosse: Etude sur les Algues parasites des Paresseux. Naturkundige Verhandlungen van de Hollandische Maatschappij der Wetenschappen. 3. Verz., Deel V, 1 stuk. Haarlem 1887.

2) Zopf: Zur Morphologie der Spaltpflanzen, Leipzig. 1882. S. 49, Tafel VII, Fig. 20.

3) Schmitz: Die Chromatophoren der Algen. Bonn 1882. S. 9 u. 173—174 Anmerkungen.

4) Tangl: Zur Morphologie der Cyanophyceen in Bd. XLVIII d. Denkschriften d. Math.-Naturw. Cl. d. k. k. Akad. d. Wissensch. zu Wien. 1883.

5) Hansgirg l. c.

6) Reinhardt: Algologische Untersuchungen, Odessa 1885. Nach dem Referat von Chmielewski bei E. Zacharias, Ueber die Zellen der Cyanophyceen, in Botan. Zeitung, 48. Jahrgang, 1890. S. 5.

wohl blaugrüne Chromatophoren, wie auch ein Zellkern angegeben sind<sup>1)</sup>, und bedürfen alle diese Algen neuer Untersuchung, um festzustellen, ob bei denselben ein normal geformter Zellkern vorhanden ist oder nicht, ob sie also zu der aus obigen 5 Gattungen gebildeten Gruppe gehören oder vielmehr zu den übrigen, bisher unter die *Phycchromaceen* gestellten Gattungen, die ich als eigentlichen *Phycchromaceen* bezeichnen will. Schmitz ist mit Bornet der Ansicht, dass *Phragmonema* nicht zu den *Phycchromaceen* gehört, sondern in die Verwandtschaft der *Bangiaceen* (*Bangia*, *Goniotrichum* u. s. w.) zu den *Chlorophyceen*. Dass *Bangia* grosse Aehnlichkeit mit *Phragmonema* hat, ist nicht zu bezweifeln, und in der That dürfte Schmitz oder vielmehr Bornet, der ihn darauf aufmerksam machte, wohl in dieser Beziehung das Richtige getroffen haben, weniger glücklich scheint mir Schmitz's eigener Vergleich mit den *Schizogoneen*. Bornet und Flahault<sup>2)</sup> bezweifeln die Zugehörigkeit von *Phragmonema*, wie auch die von *Chroodactylon* zu den *Phycchromaceen*; ebenso auch Borzi<sup>3)</sup> die von *Phragmonema*, *Chroodactylon* und *Glaucocystis*. Diese und die andern hier genannten Gattungen sind zu den *Bangiaceen* zu stellen, oder aber in einer besonderen Gruppe oder Familie, der der *Glaucocystideen* zu vereinigen. Weitere Untersuchungen müssen erst ergeben, was richtiger ist.

## II. Die Organisation der Phycchromaceenzellen.

Wesentlich anders, als bei den oben angeführten Gattungen, ist die Organisation des Zellinhaltes der eigentlichen *Phycchromaceen*. Zwar sind auch hier, — ich verweise in Bezug auf die frühere Literatur auf die Einleitung der Abhandlung von E. Zacharias: Ueber die Zellen der *Cyanophyceen* in der Botanischen Zeitung (48. Jahrg. 1890, No. 1—5) und setze die Kenntniss dieser Abhandlung beim Leser voraus, — von verschiedenen Autoren sowohl Chromatophoren wie Zellkerne angegeben worden; aber die Ansichten sind trotz der umfangreichen citirten Mittheilung von Zacharias, oder vielleicht in Folge derselben noch nicht geklärt, im Besonderen ist es noch immer zweifelhaft, ob die von Zacharias angegebenen „Centralkörper“ als Zellkerne zu betrachten sind oder nicht, und ob der blaugrüne Farbstoff an geformte Chromatophoren gebunden ist oder nicht. Zacharias selbst ist sich über ersteren Punkt völlig unklar, wie aus dem Schluss seiner Abhandlung (a. a. O. S. 67) hervorgeht, wo derselbe sagt: „Jedenfalls unterscheidet sich der Centraltheil der *Cyanophyceenzelle* in seinem ganzen Verhalten erheblich von den genauer untersuchten Zellkernen anderer Organismen. In wie weit ersterem etwa Zell-

1) G. Lagerheim, in La nuova Notarisa, Padova 1890. p. 227.

2) Bornet et Flahault: Revision des Nostoeacées heterocystées, Ann. des Sciences nat. Bot. 1886, 7. Sér. T. III, p. 326.

3) Borzi: Le comunicazioni intracellulari delle Nostochinee. Malpighia 1886. p. 99, 100.

kernfunctionen zukommen, ist bei unserer geringen Kenntniss dieser Functionen nicht zu sagen.“ Aber auch in Bezug auf das Vorhandensein oder Nichtvorhandensein geformter Chromatophoren giebt Zacharias keine bestimmte Antwort. Er sagt darüber, seine Resultate zusammenfassend, im Schluss (S. 65) Folgendes: „Der Inhalt der untersuchten *Cyanophyceen*-zellen besteht nicht aus einem seiner ganzen Masse nach gefärbten Protoplasma, sondern aus einem centralen, ungefärbten Theil von gerüstartiger Structur und einem peripheren Theil von anscheinend homogener Beschaffenheit. „Körner“ treten ausschliesslich in letzterem auf. In seinem Verhalten gegen die angewendeten Reagentien unterschied sich das periphere Plasma, wenn man von seinem Gehalt an Farbstoffen absieht, nicht von dem Zellprotoplasma höherer Pflanzen etc.“

Seit der Mittheilung von E. Zacharias sind nun zwei neuere bezügliche Abhandlungen erschienen, welche beide auf Untersuchungen beruhen, welche fast zur selben Zeit oder doch unabhängig und unbeeinflusst von den Resultaten von Zacharias angestellt wurden. Zuerst ist eine Abhandlung von O. Bütschli zu nennen, welche den Titel führt: „Ueber den Bau der *Bacterien* und verwandter Organismen“<sup>1)</sup>. Bütschli findet, dass die Zellen von *Aphanizomenon*, *Cladothrix*, *Beggiatoa*, der sogenannten *Monas Okenii* Ehrenb. und der *Ophidomonas jenensis* Ehrenb., welche beide letzteren zur Gattung *Chromatium* nach Perty gehören, und anderer *Schizophyten* aus einer Rindenschicht, welche bei manchen gefärbt ist, und einem farblosen Centralkörper aufgebaut seien. Er stimmt insofern mit Zacharias überein; doch enthält der „Centralkörper“ nach Bütschli, wie die Rindenschicht, „Körner“, welche sich mit Delafield'schem Haematoxylin roth oder rothviolett färben, und ist nicht körnerfrei, wie Zacharias angiebt. Bütschli glaubte auch zu finden, dass beide Theile des protoplasmatischen Zellinhalts einen Wabenbau besitzen, und dass sowohl der Farbstoff, wie auch die Körner im Wabengerüst sitzen, und zwar letztere in den Knotenpunkten desselben. Die Centralkörper deutet er als Zellkerne, die sich roth oder rothviolett färbenden Körner derselben identificirt er mit den Chromatinkörnern normaler Zellkerne (S. 36). Derselbe fand jedoch auch ähnliche Körner im „Körperplasma“ zerstreut bei *Diatomeen*, *Flagellaten*, bei einer Fadenalge und einem Pilzmycel (S. 31).

Etwas später ist eine Abhandlung von V. Deinega, welche den Titel führt: „Der gegenwärtige Zustand unserer Kenntnisse über den Zellinhalt der *Phycochromaceen*“<sup>2)</sup>, erschienen. Der Verfasser, welcher die citirten Abhandlungen von Zacharias und Bütschli erst erhielt, als seine Arbeit

<sup>1)</sup> Vortrag, gehalten am 6. Dec. 1889 im naturhist.-med. Ver. zu Heidelberg. Leipzig, Winter'sche Verlagshandlung. 1890.

<sup>2)</sup> Moskau. Gedruckt in der Universitäts-Buchdruckerei 1891, mit einer Tafel. Separatabdruck aus dem Bulletin de la Société Imper. des Naturalistes de Moscou No. 2. 1891.

bereits schon zum Druck vorbereitet wurde, ist der Ansicht, dass diese Nichts in den Resultaten seiner Untersuchungen ändern könnten. Diese Resultate aber fasst er (S. 23) zu folgenden Schlüssen zusammen:

„1. Die Frage über den Kern bei den *Phycchromaceen* kann augenblicklich, wenigstens bei den fadenartigen Formen, weder bejahend, noch verneinend entschieden werden. Man muss neue färbende Mittel finden, oder veränderte alte anwenden, und noch besser chemische Reactionen suchen, welche diese Frage aufzuklären vermögen. 2. Ist das Chromophor bei den fadenartigen *Phycchromaceen*, die ich zu beobachten Gelegenheit hatte (*Oscillaria princeps*, *O. Froelichii*, *Nostoc* spec. und *Aphanizomenon flos aquae*) vorhanden und hat die Form eines mehr oder weniger durchlöcherten Plättchens, welches augenscheinlich die innere Oberfläche der Zelle belegt. 3. Bleibt die Frage über die Natur der Körner, welche im Innern der *Oscillaria* vorkommen und sich meistens an den Querwänden anordnen, offen. Man kann von diesen Körnern mit Bestimmtheit sagen, dass sie kein Paramylon seien. Dass es irgend ein Isomer der Stärke sei, ist, meiner Meinung nach, zweifellos.“

So viel über die Resultate, welche Zacharias, Bütschli und Deinema aus ihren Untersuchungen zogen. Ich will nun zu meinen eigenen Untersuchungen übergehen. Dabei werde ich freilich gezwungen sein, auf die Forschungen der genannten Voruntersucher, wie auch noch auf die ältere Literatur bisweilen zurückzukommen. Ich bin allen Wegen nachgegangen, welche eingeschlagen worden sind, um den Inhalt der *Schizophytenzelle* zu erforschen; doch würde es mich zu weit führen, wenn ich bei der Kritik auf alle Einzelheiten eingehen wollte, und will ich mich möglichst darauf beschränken, die hauptsächlichsten Differenzpunkte in meinen Resultaten und denen der Vorgänger klarzulegen. Meine Untersuchungen beziehen sich auf Vertreter der folgenden Gattungen: *Chroococcus*, *Gloeo capsa*, *Aphanocapsa*, *Clathrocystis*, *Aphanotheca* (*Coccochloris*), *Hyphoethrix*, *Oscillaria*, *Phormidium*, *Hydrocoleum*, *Symplaca*, *Nostoc*, *Anabaena*, *Sphaerozyga*, *Aphanizomenon*, *Rivularia*, *Scytonema*, *Tolypothrix*, *Hapalosiphon*, *Stigonema*. Von den meisten der genannten Gattungen wurden mehr als eine Art untersucht, von allen frisches oder doch frisch fixirtes Material, und nur zum Vergleich bisweilen Herbarmaterial. Meine Untersuchungen beziehen sich also noch nicht auf alle Gattungen, und es ist wohl möglich, dass unter den nicht genannten sich noch solche finden lassen, die sich anders verhalten und aus den *Phycchromaceen* ausgeschieden werden müssen. Ich glaube jedoch, dass ich die aus der Untersuchung der genannten unzweifelhaften *Phycchromaceen* gewonnenen Resultate, da sie in allen Hauptpunkten übereinstimmen, als für die ganze Gruppe der *Phycchromaceen* geltende betrachten kann. Dass dabei Resultate auch für die Kenntniss der Bacterien-Organisation abfallen, ist selbstverständlich. Alle meine Untersuchungen wurden mit dem homogenen, apochromatischen Objectiv mit 3 mm Brennweite und 1,30 Apertur von

Zeiss, sowie den Compensationsocularen, welche 12 und 18 Mal die Objectivvergrößerung von c. 83,3 vergrößerten, gemacht.

1. Untersuchungen über die den grünen Farbstoff enthaltende „Rindenschicht“ oder das Chromatophor. Da unter der neueren botanischen Literatur einige eingehendere Abhandlungen über die Structur der Chlorophyllkörper der höheren Pflanzen vorhanden sind, so lag es nahe, die von den Autoren derselben für diese zweckmässig befundenen Untersuchungsmethoden auch auf die grüne Rindenschicht der *Phycochromaceen* anzuwenden. Die letzte bezüglichliche Abhandlung, welche den Titel führt: „Die morphologische und chemische Zusammensetzung des Protoplasmas“, hat Frank Schwarz<sup>1)</sup> zum Verfasser. In Folge gelegentlicher Nachuntersuchungen konnte ich die von F. Schwarz über die Structur der Chlorophyllkörper gefundenen Thatsachen im Wesentlichen bestätigen, und auch für die Chlorophyllkörper vieler grüner Algen einen ähnlichen Aufbau nachweisen. Ich wählte daher die von diesem Autor (S. 38 bis 74) angegebenen Untersuchungsmethoden.

Betrachtet man mit dem erwähnten Zeiss'schen System bei intensivem Tageslicht, welches möglichst dicht neben der Sonne entnommen sein muss, oder auch bei entsprechender Lampenlichtbeleuchtung einen kräftig vegetirenden Faden, z. B. von *Tolypothrix Aegagropila*, oder von *Oscillaria tenerima* oder *tenuis*, nachdem man genau auf die Oberfläche der grünen Rindenschicht eingestellt hat, so wird man bei den meisten Zellen deutlich winzige chlorophyllgrüne, das Licht stark brechende, kugelige Körper erkennen können, welche in einer homogenen, das Licht weniger brechenden Masse eingebettet zu sein scheinen. Auch kann man erkennen, dass der blaue Farbstoff im Zellsaft gelöst ist. Die winzigen chlorophyllgrünen Kugeln sind zweifellos die als „Arthur Meyer'sche Grana<sup>2)</sup>“ in der Literatur bekannten Gebilde und die eigentlichen Träger des Chlorophyllfarbstoffes. Noch etwas deutlicher sichtbar machen konnte ich diese Grana, wenn ich mit möglichster Vermeidung der Plasmolyse die Fäden nach und nach in immer stärkere und zuletzt concentrirte Zuckerlösung brachte und dann plötzlich wieder in reines Wasser setzte, oder wenn ich dieselben in 10% Kochsalzlösung eingelegt betrachtete. Durch Anwendung von Hühnereweiss dagegen, wodurch Frank Schwarz dieselbe Wirkung bei Chlorophyllkörpern der höheren Pflanzen erzielte, erhielt ich hier kein günstiges Resultat.

Dreht man mittelst des Deckglases in Wasser liegende Zellen z. B. von *Tolypothrix Aegagropila*, so dass einzelne derselben verletzt werden und Wasser in dieselben eintritt, oder legt man Material der betreffenden Alge auf etwa 24 Stunden in etwa 6- bis 10%ige Kochsalzlösung, so werden chlorophyllgrüne, rosenkranzförmige Fibrillen sichtbar (Fig. 26a

1) In Cohn's Beiträgen zur Biologie der Pflanzen, Bd. V. 1887.

2) Vergl. A. Meyer, Das Chlorophyllkorn. 1883. S. 23.

und b). Es stellt sich nämlich heraus, dass stets eine Anzahl der grünen Grana einen zusammenhängenden Faden bilden. Die zu einer Fibrille gehörenden Grana bleiben einander genähert, während sie von den Grana benachbarter Fibrillen entfernter liegen. Diese Erscheinung ist die Folge entweder der Quellung und folgenden Lösung der zwischen den Fibrillen liegenden Substanz (Schwarz's Metaxin?) oder nur der Quellung derselben durch die verdünnte Kochsalzlösung. Die einzelnen Glieder dieser Fibrillen müssen natürlich durch eine andere Substanz zusammengehalten werden, die allerdings zwischen den Grana oft sehr reducirt ist, da die Grana einer Fibrille meist dicht aneinandergereiht sind. Ob diese Substanz grünen, und zwar nach den erwähnten Behandlungen jetzt meist noch deutlicher chlorophyllgrünen Farbstoff (da das Phycocyan nach und nach aus den Zellen herausdiffundirt) enthält, ist nicht möglich, mit Sicherheit festzustellen. Bisweilen schienen mir die Grana die alleinigen Inhaber des Farbstoffes zu sein. Allerdings bleibt es auch zweifelhaft, ob das ganze Granum gefärbt ist, oder nur eine Hülle, welche einen farblosen Kern umgeben würde. Für Letzteres spricht der Anschein. Immerhin ist es auch möglich, dass das starke Lichtbrechungsvermögen diesen hervorbringt. Diese grünen Fibrillen liegen parallel der Zellmembran, doch von dieser durch eine dünne, hyaline Protoplasmasehicht getrennt. Meist lagern sie nur in einer Schicht, und zwar verlaufen sie gewöhnlich spiralig, in kurzen, bisweilen geschlängelten Theilwindungen um den übrigen Zellraum herum (vergl. Fig. 16, 22, 26, 28 f.); bei cylindrischen Zellen kommt es jedoch auch vor, dass sie als Ringe oder Ringtheile denselben umlagern (Fig. 24 d), oder in Linien parallel der Längsrichtung verlaufen. Selten lagern die Fibrillen in zwei Schichten, die sich dann stets in der Richtung kreuzen. Mit voller Sicherheit konnte ich jedoch zwei gleichmässige Schichten nur bei sehr stark grün gefärbten Zellen nachweisen, so z. B. bei sehr dicken Fäden einer *Tolypothrix*, welche bis 16  $\mu$  dicke Scheiben besass, aber wohl noch als Form zu *T. Aegagropila* Kütz. gehört. Einzelne die obere Schicht kreuzende Fibrillen sind mir dagegen öfters vorgekommen.

Durch verdünnte Essigsäure oder, noch besser, durch mit Essigsäure angesäuerte, wässrige Ferrocyankaliumlösung werden die Fibrillen und deren Grana bei allen untersuchten *Phycochromaceen* zwar sogleich entfärbt, dafür aber desto deutlicher sichtbar. Das mit verdünnter Kochsalzlösung behandelte Material, fixirt und mit Eosin oder Essigsäure-Carmin gefärbt, lässt die Fibrillen ebenfalls deutlich hervortreten. Die Tinctionsfähigkeit der Fibrillensubstanz, ebenso wie die der Granahüllen, ist zwar nicht sehr bedeutend, aber doch grösser, als die der gequollenen Zwischen-substanz und auch wohl der Substanz der Centren der Grana. Sehr deutlich treten die Fibrillen hervor, wenn man 24 Stunden lang mit verdünnter Kochsalzlösung behandeltes Material mit verdünnter Jodtinctur färbt. Die Granahüllen erscheinen dann sehr dunkelbraun gefärbt, die Granakerne aber haben sicher kein Jod aufgenommen. Diese Thatsache, sowie die

grosse Widerstandsfähigkeit der Grankerne gegenüber Salzsäure, Salpetersäure, Chromsäure, organischen Säuren, Alkohol, Aether etc., ihre leichte Löslichkeit in stark verdünnter Kalilösung und in concentrirter Schwefelsäure lässt fast vermuthen, dass dieselben aus Paramylon bestehen; doch ist dies bei der Kleinheit des Objectes nicht mit Sicherheit festzustellen.

Die vorstehend über die „grüne Rindenschicht“ der *Phycochromaceen*-zellen mitgetheilten Thatsachen lassen auf den ersten Blick fast keinen Zweifel aufkommen, dass wir es hier mit einem Chromatophor, wie solche bei den höheren Pflanzen und auch bei den chlorophyllgrünen Algen vorhanden sind, zu thun haben. Dennoch ist dieses Chromatophor nicht ganz gleichartig den Chromatophoren der übrigen Pflanzen. Es sind hier wohl die Elemente, die Fibrillen und deren Grana vorhanden. Dieselben setzen jedoch kein in sich abgeschlossenes Ganzes zusammen. Man kann dies sogleich erkennen, wenn man die vegetativen Zellen eines wenig gefärbten *Tolypothrix*-fadens, wie solche nicht selten zwischen den anderen vorkommen, oder auch jüngere Grenzzellen, nach der Behandlung mit 10%iger Kochsalzlösung während etwa 24 Stunden, betrachtet. Bei diesen erkennt man leicht, dass die grüne Rindenschicht aus verhältnissmässig wenigen von einander ziemlich entfernt, aber meist in derselben Richtung verlaufenden Fibrillen gebildet wird. Also nicht allein in Folge geringerer Färbung der vorhandenen Fibrillen, sondern in Folge des Vorhandenseins einer geringeren Anzahl der Fibrillen kann die Rindenschicht schwächer gefärbt erscheinen. Normal fibrillenarm sind die sich häufig im Alter verfärbenden Rindenschichten der Grenzzellen vieler *Phycochromaceen*. Es giebt aber auch Arten und Varietäten der *Phycochromaceen*, welche sich durch die blassgrüne Farbe der vegetativen Zellen auszeichnen, bei deren näherer Untersuchung man in der Rindenschicht stets nur eine verhältnissmässig geringe Anzahl Fibrillen findet. Dahin gehören z. B. dünnere *Oscillarien*, Arten von *Lyngbya* (*Hypheothrix*), *Phormidium*, *Nostoc* und *Anabaena*-Arten. Ferner von *Chroococcaceen*, manche Arten von *Aphanocapsa* (vergl. Fig. 16) und viele andere kleinere Formen anderer Gattungen. Ja, es giebt winzige Arten der Gattungen *Polycystis*, *Aphanocapsa*, *Gloeocapsa* und *Aphanothece*, bei welchen in jüngeren Zellen oft nur eine Fibrille die grüne Rindenschicht zu bilden scheint (vergl. Fig. 22). Auch kommt es vor, dass in der grünen Rindenschicht Vacuolen auftreten und dann diese wie durchbrochen erscheint.

Dieses Auftreten der Vacuolen in der Rindenschicht beruht allerdings wohl oft auf Degeneration der betreffenden Zellen. Ich beobachtete derartige Zellen zwar auch unter frisch den Fundstellen entnommenem Material, jedoch häufiger bei *Phycochromaceen*, welche ich längere Zeit in Cultur hatte. Ja, die Durchbrechung der Rindenschicht kann so weit gehen, dass mehrere getrennte, scheinbar geformte Chromatophoren vorhanden zu sein scheinen, oder auch, dass ein unregelmässiges, grün gefärbtes Netz entsteht. Ein unregelmässiges, grün gefärbtes Netz ist übrigens auch bei

manchen wenig farbigen *Phycochromaceen* normal vorhanden, nur ist dasselbe feiner und kommt hier nicht dadurch zu Stande, dass Vacuolen die Fibrillenschicht unterbrechen, sondern dadurch, dass sich breitere Flecken von farblosem, hyalinem Protoplasma zwischen die einzelnen Fibrillen einschoben. Solche grün gefärbte Netze beobachtete ich an verschiedenen *Nostoc*- und *Anabaena*-Arten. Deinema hat anscheinend ein derartiges Netz bei *Oscillarien* (*O. Froelichii* Kg. und *O. princeps* Vauch.) beobachtet. Ich habe bisher jedoch nur *Oscillarien* gesehen, welche die grünen Fibrillen in mehr oder weniger paralleler Anordnung und gelagert in spiralförmigen Theilwindungen zeigten. Ein Wabenbau, wie ihn Bütschli gesehen zu haben glaubt, ist sicher nicht vorhanden. Bütschli hat vermuthlich grüne Netze entweder in einer Ebene liegender, aber nach verschiedenen Richtungen verlaufender Fibrillen oder aber in zwei verschiedenen Schichten übereinander liegende, aber in den Schichten nach entgegengesetzten Richtungen verlaufende Fibrillen gesehen. Es wäre allerdings auch möglich, dass nur in einer Ebene dicht nebeneinander lagernde Fibrillen, welche nur durch sehr wenig Zwischensubstanz getrennt sind, demselben den Wabenbau vorgetäuscht haben. Wie ich oben schon andeutete, sind die in den Fibrillen lagernden Grankerne, die vielleicht Paramylonkörner sind, sehr stark lichtbrechend und erscheinen als farblose Lücken mit gefärbter Hülle, so dass man, wenn die Fibrillen sehr nahe aneinander liegen und die grüingefärbten Theile der Fibrillen dem Auge verschmelzen, wohl zur Annahme eines Wabenbaues gelangen kann. Freilich stimmt in diesem Falle die Grösse der von Bütschli auf seiner Tafel gezeichneten Waben nicht. Derselbe hätte die Waben dann zu gross gezeichnet. Ich muss übrigens hierzu besonders bemerken, dass ich die von Bütschli untersuchten Bacterien, vorzüglich die der Gattung *Chromatium* Perty angehörenden, grösseren Formen leider nicht untersuchen konnte. Immerhin dürften sich diese wohl kaum anders verhalten, als die von mir untersuchten *Phycochromaceen*.

Sind die hier zuletzt mitgetheilten Thatsachen schon geeignet, eine Verschiedenheit der grünen Rindenschicht und der geformten Chromatophoren höher organisirter Pflanzen anzudeuten, so ist jedoch für diese die Thatsache ausschlaggebend, dass gar nicht selten eine Durcheinanderschiebung der grünen Fibrillen-Elemente der Rindenschicht und der Elemente des sogenannten Centralkörpers stattfindet. Ich werde weiter unten noch auf diese Durcheinanderschiebung zurückzukommen haben; hier sei daher vorerst nur auf dieselbe aufmerksam gemacht und festgestellt, dass zwar die Elementartheile der Chromatophoren höherer Pflanzen, d. h. grüingefärbte Fibrillen auch bei den *Phycochromaceen* vorhanden sind, nicht jedoch in sich abgeschlossene, geformte, aus denselben gebildete Chromatophoren, welche z. B. den Chlorophyllkörpern der höheren Pflanzen entsprechen.

2. Untersuchungen über den Centralkörper (Bütschli's Zellkern). Dieselben Untersuchungsmethoden, welche zur Erkenntniss der

Structur der grünen Rindenschicht oder des Chromatophors bei den *Phycochromaceen* führen, sind zum Theil auch geeignet, zugleich uns ein übersichtliches Bild von dem Aufbau des Centralkörpers zu verschaffen. Betrachtet man z. B. einen kräftig vegetirenden Faden von *Tolypothrix Aegagropila* Kütz. (vergl. Fig. 26), welcher in 6 bis 10% wässriger Kochsalzlösung liegt und bereits etwa 24 Stunden in dieser Flüssigkeit gelegen hat, oder welcher in verdünnte Essigsäure oder in mit Essigsäure angesäuerte Ferrocyankaliumlösung eingelegt ist, so kann man in der Mitte der Zellen einen verhältnissmässig grossen Körper erkennen, welcher deutlich aus einem Fadenknäuel besteht. In manchen sehr jugendlichen Zellen junger Fäden von *Tolypothrix* (vergl. Fig. 27a) ist dieser Körper in sich völlig abgeschlossen und abgerundet, und einem normalen Zellkern höher organisirter Organismen so ähnlich, dass man ihn auf den ersten Blick für einen solchen zu halten geneigt ist. In der That ist derselbe auch für einen normalen Zellkern gehalten worden, so z. B. von Wille<sup>1)</sup>. Schon in anderen gleichaltrigen Zellen derselben Fäden (vergl. Fig. 27z) findet man jedoch, dass dieser centrale Körper kein normaler geschlossener Zellkern sein kann. Man beobachtet nämlich, dass sich die äusseren Fadenlagen des Knäuels lockern und sich abwickeln, und dass dieses Abwickeln so weit fortschreiten kann, dass Fadentheile bis an die Zellmembran vordringen, ja sogar, wie ich oben schon erwähnt habe, sich zwischen die Fibrillen des Chromatophors einschieben können. Diese Thatsache ist in den meisten Fällen leicht zu erkennen. Die Substanz der Fäden selbst ist allerdings vom übrigen Protoplasma schwer unterscheidbar, jedoch sind die Fadenstücke fast stets durch in dieselbe eingereihte grössere oder kleinere, das Licht stark brechende Körper auch selbst beim lebenden Material deutlich bestimmt, so dass man aus der Lagerung dieser Körper in Reihen den Verlauf der abgewickelten oder gelockerten Fadenstücke erkennen kann. Dasselbe ist übrigens auch bei den Fadenstücken, welche noch eine compacte Masse im Centrum des Knäuels bilden, der Fall, sofern dieselben überhaupt solche stark lichtbrechende Körper führen. Deutlicher noch werden diese Verhältnisse, wenn man mit Alkohol, wässriger, concentrirter Pierinsäurelösung oder sonst auf irgend eine Weise das Material fixirt und mit Essigsäure-Carmin färbt. Schon vor dem Auswachsen, also bei diffuser Färbung der Fäden, bemerkt man, dass sich der zellkernartige Centralkörper stärker gefärbt hat, als die Rindenschicht. Es beruht dies nicht so sehr darauf, dass die Kernfadensubstanz selbst sich stärker färbt, als die ausserhalb des Centralkörpers liegenden protoplasmatischen Inhaltsbestandtheile, als vielmehr darauf, dass die im Kernfadentheile eingelagerten, das Licht stark brechenden Körperchen sich ganz ausserordentlich intensiv mit dem genannten Farbstoff tingiren. Nach einer zweckmässigen Beseitigung

1) N. Wille: Ueber die Zellkerne und die Poren der Wände der *Phycochromaceen* in den Berichten der deutschen bot. Gesellsch. Bd. I. 1883. S. 243.

der Ueberfärbung, — bei manchen *Tolypothrix*-Arten genügt oft schon Auswaschen mit Wasser, — kann man leicht sehr instructive Präparate erhalten, bei welchen nur die in die Kernfadentheile eingelagerten Körper stark gefärbt sind. An derartigen Präparaten ist der Verlauf der Kernfadentheile deutlicher noch zu sehen, als an ungefärbtem Material (vergl. die Fig. 12—15, 17—21, 23—29, 31). Sind die eingelagerten Körper von verschiedener Grösse, oder zu einer abnormen Grösse sämmtlich herangewachsen, so ist der Kernfadenverlauf allerdings nicht mehr sehr deutlich zu erkennen, zumal da die Fadentheile, welche zwischen je zwei eingelagerten glänzenden Körpern sich befinden, nicht dem Dickenwachstum dieser folgen. Es scheinen dann die Körper — ich will dieselben fortan als Kyanophycinkörner bezeichnen, da Borzi<sup>1)</sup> deren Substanz als „Ciano-ficina“ benannt hat — unregelmässig vertheilt im Innern der Zelle zu liegen (vergl. Fig. 30). Freilich kann man bisweilen auch dann noch deutlich erkennen, dass feine Fadenstücke die benachbarten Kyanophycinkörner verbinden (vergl. Fig. 15 c.).

Die Lockerung und Abwicklung der äusseren Fadenstücke ergibt den Hauptunterschied zwischen dem Centralkörper der *Phycochromaceen* und den Zellkernen höherer Pflanzen. Die Centralkörper sind nicht wie diese geschlossen. Selbstverständlich fehlt ihnen auch durchaus eine besondere Kernmembran. Ausserdem ist vielleicht noch ein durchgreifender Unterschied vorhanden. Bekanntlich ist es noch fraglich, ob im Kerngerüst der geschlossenen, ruhenden Kerne höher organisirter Pflanzen nur ein Kernfaden vorhanden ist oder mehrere. Strasburger<sup>2)</sup> und Guignard<sup>3)</sup> halten zwar an der Existenz nur eines zusammenhängenden Kernfadens fest, dennoch ist in den meisten Fällen ein complicirtes, verschlungenes Netzwerk beobachtet worden, welches wohl eher aus mehreren Fäden zusammengesetzt zu sein scheint. Hier nun bei den *Phycochromaceen* scheint mir es ziemlich sicher zu sein, dass in den Centralkörpern stets nur ein einziger Faden vorhanden ist. Nachdem ich glaubte, mehrere freie Fadenenden bei grösseren *Phycochromaceen* beobachtet zu haben, musste ich bei genauerer Untersuchung stets wahrnehmen, dass ich mich getäuscht habe. Ja, es gelang mir in den meisten Fällen überhaupt nicht, freie Enden wahrzunehmen, so dass ich Grund zur Annahme habe, dass wenigstens eines der freien Enden des Fadens stets im Innern des Knäuels sich befindet. Nur bei einigen kleineren Arten ist es leichter möglich, die freien Enden des Centralkörperfadens zu beobachten, so z. B. bei *Aphanocapsa* sp. (vergl. Fig. 16—19), bei Arten der Gattungen *Aphanothoece* (Fig. 20—22), *Gloeocapsa*, *Anabaena*, *Nostoc* u. a. Hier ist es eben auch möglich, mit

1) Borzi: Le comunicazioni intracellulari delle Nostochinee in Malpighia 1886.

2) Strasburger: Die Controversen der indirecten Kerntheilung. Archiv für mikrosk. Anatomie. Bd. 23. 1884. S. 249.

3) Guignard: Nouvelles recherches sur le noyau cellulaire. Annales des sc. nat. Bot. Sér. VI., T. 20, p. 358.

völliger Sicherheit das Vorhandensein nur eines Centralkörperfadens festzustellen<sup>1)</sup>. Ob man nun auf die Centralkörper der *Phycchromaceen* den Namen „Zellkern“ anwenden will, oder nicht, ist schliesslich gleichgültig. Vielleicht wird es zweckmässig sein, dieselben als offene Zellkerne gegenüber den geschlossenen der höheren Organismen zu bezeichnen.

In vielen Centralkörpern sind die Fadenstücke gleichmässig mit Kyanophycinkörnern besetzt. Es kommt jedoch auch vor, dass ein innerer Theil des Fadenknäuels keine oder nur sehr kleine Kyanophycinkörner führt, der äussere in der Abwicklung und Lockerung begriffene Theil dagegen desto grössere und auffallendere. Durch dergleichen Vorkommnisse ist wohl Zacharias bewogen worden, die Kyanophycinkörner ganz aus dem Centralkörper in die grüne Rindenschicht zu verweisen, obgleich es doch bei vielen Zellen nicht besonders schwierig ist, zu erkennen, dass auch die zwischen den Fibrillen der grünen Rindenschicht sich findenden Körner dem Centralkörper angehören und in abgewickelten Theilen seines Fadengerüstes eingelagert sind.

Der Nachweis, dass auch dann, wenn die Kyanophycinkörner theilweise isolirt zu liegen scheinen, dieselben doch durch Kernfadenssubstanz verbunden sind, ist bisweilen zu führen, wenn man die Zellen zerreisst, so dass die Kernfadentheile frei werden. Freilich werden durch das Zerreißen der Zellen auch Kyanophycinkörner ganz frei und von den Fäden losgerissen.

Die Beobachtung, dass sich vom Centralkörper Fadenstücke lockern, ja dass der ganze Knäuel, sich gewissermassen aufwickelnd, in ein verschlungenes, unregelmässiges Fadennetz (vergl. Fig. 12) oder auch nur in einige verworrene Fadenschlingen (vergl. Fig. 23 f.) sich auflösen kann, veranlasste mich, zu untersuchen, ob vielleicht diese Verschiedenheiten im Aufbau des Centralkörpers mit der Theilung desselben bei der Zelltheilung zusammenhängen. In der That sind ja bereits Bilder, wie sie unsere Fig. 13 und 23 f. darbieten, von Scott<sup>2)</sup> für Kerntheilungsbilder gehalten worden. Doch hat bereits Zacharias sich gegen die Auffassung Scott's erklärt, und bei keiner *Phycchromacee* Kerntheilungsfiguren beobachtet (a. a. O., S. 57). Meiner Beobachtung nach findet nun auch die Zelltheilung ganz unabhängig von dem Zustande des Centralkörpers statt. Bald fand ich die Fadengerüste desselben bei der Zelltheilung zu einem dichten Knäuel zusammengerollt, etwa wie in der mit c bezeichneten Zelle in Fig. 24, bei welcher die Windungen des Knäuel mehr oder weniger quer verlaufen; die Abschnürung erfolgte dann dadurch, dass in der Mitte eine der Windungen nach und nach mit dem Fortschreiten der ringförmigen neuen Zellwand immer enger wurde, bis nur noch die beiden neuen Knäuel durch

1) Aehnlich verhalten sich meines Erachtens nach die meisten Bacterien. Bei denselben ist nur ein ganz kurzer, gar nicht oder nur wenig verschlungener Faden vorhanden, ja bei manchen kugeligen *Coccobacterien* ist wohl häufig nur ein Glied eines solchen, dass nur ein einziges Kyanophycinkorn bisweilen enthält, vorhanden.

2) Scott: On Nuclei in *Oscillaria* and *Tolypothrix*. Linn. Soc. Journal of Botany. vol. XXIV. 1887.

einen einfachen Faden zusammenhängen, der zuletzt durchriss. Bald war der Knäuel mehr oder weniger in dem Abwickelungs- oder Auflösungsstadium begriffen (vergl. Fig. 13, 23), und dann musste man annehmen, dass der Kernfaden sich nach und nach verschiebt, bis die neuen Zellhälften gleich grosse Stücke desselben enthalten, und eine Trennung dieser stattfinden kann. In beiden Fällen erhält man den Eindruck, dass durch das Abreissen des Kernfadens die Zelltheilung geschlossen wird oder dass doch Kernfadentheilung und Zelltheilung gleichzeitig vollendet sind.

Ich muss nun auf meine Untersuchungen über die Beschaffenheit der in dem Kernfaden vorkommenden Kyanophycinkörner, welche, wie ich oben schon sagte, sich mit Essigearmin stets leicht färben lassen, genauer eingehen, ehe ich jedoch die von mir festgestellten mikrochemischen Reactionen der Substanz derselben erörtere, will ich erst einen Blick auf die morphologische Beschaffenheit und ihre Lagerungsverhältnisse in den verschiedenen Zellen werfen.

Es ist auch anderen Beobachtern, z. B. Wille<sup>1)</sup>, schon aufgefallen, dass diese hier als Kyanophycinkörner bezeichneten Gebilde normal durchaus nicht regelmässig kugelige Formen zeigen, also nicht etwa Tropfen einer zähflüssigen Substanz, sondern feste Körper von eckiger Gestalt sind. In der That gelang es mir auch Arten von *Phycochromaceen* aufzufinden, bei welchen ich mit völliger Sicherheit erkennen konnte, dass man es hier mit Krystallen oder, da es sich um eine organische, quellbare Substanz handelt, sogenannten Krystalloiden zu thun hat. Ein in dieser Beziehung besonders günstiges Object bot sich mir in *Tolypothrix tenuis* Kütz. var. *pallescens* Rabenh. Ich entnahm Material dieser Alge einem bereits in der Schlesischen Flora durch Hilse bekannten Fundorte, den alten Mergelgruben auf den Lohewiesen bei Peterwitz bei Strehlen. Dieses Material, von welchem ein Theil mit Pikrinsäure fixirt wurde, erwies sich als ausserordentlich kyanophycinhaltig. Nur sehr selten fanden sich Zellen ganz jugendlicher Fäden (vergl. Fig. 27 a), welche nur wenig oder gar keinen Kyanophycingehalt des Centralkörpers zeigten. Die meisten Zellen besaßen einen centralen Fadenknäuel, der bald in mehr oder weniger abgerundetem, bald in mehr gelockertem Zustande sich befand (vergl. Fig. 27, 28, 29, 31), stets aber in den lebensfähigen, noch kräftig vegetirenden Fäden einen sehr deutlichen Kernfadenverlauf zeigte, der besonders nach der Färbung der Kyanophycinkörner mit Essigsäure-Karmin sehr deutlich zu erkennen war. Unter den kräftig vegetirenden Fäden der Alge befanden sich aber auch solche, welche anscheinend in Folge des zu grossen Gehaltes an Kyanophycin im Begriff waren, abzusterben oder auch bereits abgestorben waren. In den Zellen dieser Fäden fanden sich zahlreiche, ziemlich grosse Kyanophycinkörner, welche fast die ganze Zelle erfüllten (Fig. 30), von der grünen Rindenschicht war dabei Nichts oder nur Wenig noch vorhan-

1) Vergl. Berichte der deutschen Botan. Gesellsch. Bd. I. 1883. S. 244.

den. Eine Lagerung dieser Körner in Reihen war nicht mehr mit Sicherheit zu erkennen, dagegen konnte man bemerken, dass einzelne benachbarte Körner noch durch kurze Fadenstücke, die jedoch bei Weitem dünner waren, als die Körner, verbunden waren. Diese Körner liessen nun bereits oft deutlich erkennen, dass man es mit sogenannten Krystalloiden zu thun habe. Noch viel grössere, auffallendere Kyanophycin-Krystalle fand ich dann in einzelnen Fäden derselben Alge, die noch ganz lebenskräftig aussahen, und zwar stets in den Endzellen derselben, aber regelmässig nur einen grossen Krystall, selten zwei in jeder Zelle. Diese grossen Krystalle hatten bisweilen einen Durchmesser von 4 bis 5  $\mu$ , zeigten deutliche Würfelform des regulären Krystallsystems (Fig. 28 a, c, e), bisweilen fanden sich auch deutliche Octaederflächen, durch welche die Würfel enteckt waren (Fig. 28 b). In seltenen Fällen fand ich auch hemiedrische Formen. In einer solchen glaube ich ein Triakistetraeder erkannt zu haben. Bisweilen, wenn diese Solitärkrystalle nicht allzugross waren, lagen sie innerhalb des Centralfaden-Knäuels, vollkommen von Fadenstücken umschlossen (Fig. 28 e); waren sie jedoch grösser, so ragten sie auf einer Seite aus dem Centralkörper heraus. Immerhin konnte auch hier kein Zweifel sein, dass auch diese grossen Kyanophycin-Krystalle Gebilde des Centralkörpers sind. Die die Krystalle umgebenden oder doch denselben einseitig anlagernden Fadenelemente enthielten übrigens noch unzählige kleine Kyanophycinkörner. Was nun die Form dieser kleineren Krystalle betrifft, so scheint der einfache Würfel verhältnissmässig selten zu sein. Die meisten erscheinen für das Auge im Umriss polyedrisch. Vermuthlich gehören diese der enteckten Würfelform wenigstens zum Theil an, doch ist es wohl wahrscheinlich, dass auch noch andere Formen vorkommen. Auch grössere Doppelkrystalle habe ich mit Sicherheit beobachtet, und vermuthlich sind die mehr länglichen, kleineren Kyanophycinkörner, welche gar nicht selten sich in den Centralfadentheilen beobachten lassen, als solche zu deuten.

Ganz ähnliche, wenn auch nicht so grosse (etwa nur bis  $2\frac{1}{2}$   $\mu$  Durchmesser besitzende) und darum weniger leicht bestimmbar Kyanophycin-Krystalle fand ich auch in Material von *Oscillaria tenerrima* Kütz., welches aus der hölzernen Mühlwasserleitung der Wiesenbaude im Riesengebirge stammte. Auch hier konnte ich die einfache Würfelform allerdings als seltenere Erscheinung feststellen (Fig. 25 e). Ausserdem glaube ich hier Trapezoeder (Ikositetraeder) sicher erkannt zu haben (vergl. Fig. 25 b bei z), die wohl auch unter den fast kugelig erscheinenden, kleineren Kyanophycinkörnern bei *Tolypothrix* und auch bei anderen *Phycocchromaceen* eine Rolle spielen dürften. Bei *Oscillaria tenerrima* beobachtete ich auch Zwillingskrystalle, welche aus zwei erwachsenen Trapezoedern zu bestehen schienen. Grössere Kyanophycin-Krystalle fand ich auch in *Hapalosiphon hormioides* Rabenh., von welcher Alge ich reichliches Material dem oberen Stolleneingang eines alten Bergwerkes unterhalb der

Granatenfelsen am Eulengrunde im Riesengebirge entnahm. Hier fanden sich bis 6  $\mu$  grosse Kyanophycin-Krystalle und Krystallzwillinge, deren krystallographische Bestimmung mir jedoch nicht gelang. Dieselben erfüllten absterbende oder bereits abgestorbene Zellen der Alge fast ganz. Unter den kleineren hier vorhandenen Krystallen dürfte wohl auch der Trapezoeder oft vorkommen (vergl. Fig. 15 c). Auch in absterbenden Zellen von *Chroococcus turgidus* Naeg. und *Chr. tenax* Hieron. (syn. *Chr. turgidus* b. *tenax* Kirchner), welchen ersteren ich den Tümpeln der weissen Wiese, letzteren einer feuchten Felswand am Eingang der Kochelschlucht bei Schreiberhau im Riesengebirge entnahm, fand ich oft grössere Kyanophycinmassen; doch hatten diese Massen oft ziemlich unregelmässige, wiewohl eckige Formen, so dass ich vermuthen muss, dass dieselben Zwillinge, Drillinge oder Verwachsungen noch mehrerer Krystallindividuen waren. Die einzelnen Krystalle, welche auch noch in manchen theilungsfähigen Zellen relativ gross sind, scheinen mir entweder Combinationen des Würfels mit dem Octaeder, oder Trapezoëder zu sein (vergl. Fig. 13). Auch bei vielen anderen *Phycocchromaceen* kann man erkennen, dass die Kyanophycinkörner eckige krystallinische Gestalt haben. Mitunter zeigen die Kyanophycinkrystalle im Centrum einen deutlichen Hohlraum mit meist unregelmässig zackiger Begrenzung. Es dürften dies Krystalle sein, deren Substanz in der Auflösung begriffen sind, um, wie ich noch erörtern werde an anderer Stelle, sei es in derselben Zelle oder in einer anderen, sofern es sich um Fadenalgen handelt, wiederum als Krystall oder in einer anderen Form abgelagert zu werden. Auch Zacharias hat solche centrale Lücken schon gesehen (a. a. O. S. 40). Die Vermuthung, dass diese Krystalle in der Lösung begriffen sind, dürfte deswegen richtig sein, weil auch gewisse Reagentien (siehe unten) die Krystalle vom Centrum aus lösen. Die erwähnte andere Form, in welcher die Kyanophycinsubstanz bei manchen Fadenalgen secundär, und zwar sicher ausserhalb des Centralkörpers abgelagert wird, ist nun aber zweifellos eine amorphe. Es finden sich nämlich fast in allen sogenannten Grenzzellen der *Phycocchromaceen*, besonders in deren oberen an die erste vegetative Zelle oder an eine Dauerzelle, wo diese vorhanden sind, anstossenden Hälfte sehr häufig rundliche, amorphe Kyanophycinmassen, welche nicht selten sich der Flaschenhalsform dieser Hälfte anschmiegen und tief in den anfangs offenen, später aber durch Gallerte geschlossenen Porenkanal hineinragen, welcher die Grenzzelle mit der angrenzenden Zelle verbindet (vergl. Fig. 31 b). Vielleicht haben die Grenzzellen überhaupt die Function, übermässig in den vegetativen oder Dauerzellen gebildetes Kyanophycin aufzunehmen und als Speicher für dasselbe zu dienen. Bisweilen scheinen die Grenzzellen aber zu diesem Zweck noch nicht zu genügen. In diesem Falle wird die Substanz nach den ältesten vegetativen Zellen besonders am andern, freien Ende der Zellfäden geschafft. Dieselbe tritt jedoch hier nicht als amorphe Masse wieder auf, sondern in der Form der oben bereits beschriebenen grösseren Krystalle, so bei *Tolypothrix tenuis* Kütz. var. *palescens*

Rabenh. (vergl. Fig. 28a, b, c, e), wo ich gar nicht selten solche grössere Krystalle in den vegetativen Zellen der beiden Fadenenden, besonders aber des freien, fand. Uebrigens treten auch in jüngeren Grenzzellen, wie ich mich an demselben Material überzeugen konnte, bisweilen auch grössere Krystalle auf, dann jedoch stets im Centalkörper derselben und im Zusammenhange mit dem Kernfaden desselben. Die Wanderung der Kyanophycinsubstanz wird wohl in einer der Stärkewanderung ähnlichen Weise stattfinden. Wie die Stärke nicht als aufgelöste Stärke, sondern als Glycose von einer Zelle zur andern transportirt wird, so wird wohl auch hier die Kyanophycinsubstanz der Verwandlung in eine lösliche Verbindung unterzogen werden und erst am Endziel ihrer Wanderung als Kyanophycin wieder in Erscheinung treten. Einen solchen im Zellsaft löslichen Stoff nachzuweisen ist mir aber nicht gelungen. Erleichtert wird die Stoffwanderung sicher durch die bei vielen fädigen *Phycchromaceen* in den Querwänden vorkommenden Poren.

Was nun die chemische Beschaffenheit der Kyanophycinmassen anbelangt, so habe ich dieselbe nur durch mikrochemische Reactionen zu erforschen gesucht. Sehr zu wünschen wäre es, dass die Substanz auch makrochemisch noch genau untersucht würde, wozu wohl besonders die häufig in umfangreichen Rasen auftretenden *Tolypothrix*-Arten ein geeignetes Material abgeben würden. Als Material zur mikrochemischen Untersuchung benützte ich vorzüglich diese *Tolypothrix*-Arten, besonders auch die erwähnte *T. tenuis* Kütz. var. *pallescens* Rabenh. und *T. Aegagropila* Kütz., zum Vergleich aber auch viele andere *Phycchromaceen*-Arten von *Oscillaria*, *Phormidium*, *Chroococcus*, *Aphanocapsa* etc. Uebrigens haben bereits Borzi<sup>1)</sup> und besonders auch Zacharias<sup>2)</sup> die Kyanophycinmassen mikrochemisch untersucht. Ihre verhältnissmässig leichte Tingirbarkeit nach der Fixirung ist aber schon von Schmitz<sup>3)</sup> und Strasburger<sup>4)</sup> festgestellt worden. Die Angaben dieser Forscher kann ich nun in einigen Beziehungen berichtigen und ergänzen. Vorerst lag es mir daran, festzustellen, ob die Kyanophycinmassen Eiweissreactionen zeigen. Weder Borzi, noch Zacharias haben durch Erwärmen mit Millon'schem Reagens die bekannte Proteinreaction, bestehend in rosenrother Färbung, erhalten. Auch mir glückte es nicht. Ebenso wenig erhielt ich eine gelbe Färbung der Kyanophycinkörper bei Behandlung mit Salpetersäure oder mit dieser und Ammoniak. Auch die Reaction mit concentrirter Kupfervitriollösung und nachfolgendem Einlegen von *Tolypothrix*-fäden in heisse Kalilauge ergaben kein Resultat und es trat keine Violettfärbung ein, ebensowenig erhielt ich mit Zucker und Schwefelsäure die er-

1) Borzi in Malpighia l. c.

2) Zacharias in Bot. Zeit. 1890, p. 38—41.

3) Schmitz in Sitzungsber. d. niederrhein. Ges. in Bonn. 1880, S. 197.

4) Strasburger, Botan. Practicum. 1887, 2. Aufl., S. 340.

wünschte Rothfärbung. Nach diesen negativen Resultaten könnte man leicht zu der Annahme kommen, dass das Kyanophycin nicht zu den Proteinstoffen gehöre. Da nun aber alle die genannten Reactionen mehr makrochemisch anzuwenden sind und zur mikrochemischen Erforschung sich wenig eignen, ich auch mit Ausnahme der Reaction mit Salpetersäure und Ammoniak bei allen übrigen Inhaltsbestandtheilen der Zellen der *Phycochromaceen* nur negative Resultate hatte, so nehme ich Anstand, besonderen Werth auf das Ausbleiben der genannten Reactionen zu legen, zumal die Reactionen auch nicht an den Kyanophycinmassen selbst zu beobachten gewesen wären, sondern nur an ihren Lösungen. Es verschwinden nämlich die Kyanophycinmassen, wenn auch fixirtes Material nur langsam, bei Behandlung durch concentrirte Salpetersäure, Schwefelsäure und Aetzkali.

Glücklicher war ich in Bezug auf die Jodreaction. Nach Borzi<sup>1)</sup> sollen sich die Kyanophycinmassen mit alkoholischer Jodtinctur und Chlorzink sehr schwach bläulich färben, ja sogar die Reaction der Stärke geben. Nach Hansgirg<sup>2)</sup> sollen sie sich mit Jod gar nicht färben. Nach Zacharias<sup>3)</sup> erfolgt bei Alkoholmaterial keine Färbung nach Behandlung mit verdünntem Jodglycerin oder Chlorzink-Jodlösung, in welchem letzteren Reagens die Kyanophycinkörper langsam quellen. Dagegen erhielt Zacharias intensive Braunfärbung, wenn er frische Fäden mit stark verdünnter Schwefelsäure behandelte und dann eine Lösung von Jod in Jodkali hinzufliessen liess. Ich kann die Beobachtungen von Zacharias im Wesentlichen bestätigen, nicht aber die von Borzi und Hansgirg. Borzi hat vermuthlich mit Phycocyan gefärbte Körner gesehen. Es färben sich nämlich die Kyanophycinkörper sogleich mit dem im Zellsaft gelösten Phycocyan, wenn die Algen abgetödtet werden, ja es kommt solche Phycocyanblaufärbung sogar bei noch lebenskräftigen Zellen vor. Nach meinen Beobachtungen färben sich die Kyanophycinkörper, — gleichgültig, ob irgendwie fixirtes oder ob frisches Material verwendet wird, — weder mit Chlorzinkjod, noch mit in absolutem Alkohol gelöstem Jod. Fügt man jedoch dem mit letzterem Reagens behandelten Präparate reines Wasser zu, oder wendet man mit Wasser verdünnte Jodtinctur an, so tritt sogleich eine intensive Gelb- und schliesslich Braunfärbung der Kyanophycinkörper ein, die jedoch durch blosses Auswaschen mit Wasser und selbstverständlich auch mit Alkohol leicht zu beseitigen ist.

Ich habe oben bereits erwähnt, dass sich die Kyanophycinmassen sehr leicht mit Essigsäure-Karmin (Schneider'schem) färben lassen. Die Färbung tritt fast augenblicklich sehr intensiv auf, auch selbst bei vorher nicht fixirtem Material. Etwaige Ueberfärbung lässt sich leicht beseitigen. Ebenso kann man schöne Reinfärbungen auch durch mehrstündiges Einlegen des mit Alkohol

1) Borzi: l. c. und in Nuovo giornale bot. ital. X. p. 253.

2) Hansgirg: Physiolog. und algologische Studien, S. 9.

3) Zacharias: in Bot. Zeitung 48. Jahrg. 1890. S. 39, 40.

fixirten Materials in Hoyer'schen Pikrokarmen oder in Grenacher'schen wässrigen Borax-Karmen und vermuthlich auch mit anderen Karmenlösungen erhalten.

Was die Färbung mit Haematoxylin anbelangt, so finden sich Angaben in der Literatur, dass die Kyanophycinmassen durch dasselbe nicht gefärbt würden, so von Hansgirg<sup>1)</sup>, was jedoch sicher auf Irrthum beruht. Schmitz<sup>2)</sup> und Strasburger<sup>3)</sup> erwähnen, dass die Kyanophycinkörner sich gegen Haematoxylin ganz ähnlich wie die Chromatinkörner verhalten. Bütschli<sup>4)</sup> färbte die Kyanophycinkörner der von ihm untersuchten Bacterien mit Delafield'schem Haematoxylin. Ich habe zur Färbung besonders Haematein-Ammoniak verwendet. Mit demselben färben die Kyanophycinmassen sich nicht schwer, in dem Fall natürlich, dass fixirtes und dann gut ausgewaschenes Material verwendet wird. Mit Chrom- oder Pikrinsäure fixirtes Material von manchen *Tolypothrix*-Arten, *Oscillarien* etc. konnte ich oft dadurch schneller färben, dass ich dasselbe kurze Zeit in Alkohol oder auch in schwach ammoniakalisches oder alauhaltiges Wasser einlegte. Bisweilen war es auch nöthig, die Haematein-Ammoniakflüssigkeit während der Zeit, dass ich Ammoniakdunst auf das zu färbende Präparat einwirken liess<sup>5)</sup>, mehrmals zu erneuern, um eine intensivere Färbung hervorzubringen. Uebrigens färbt sich mit Haematein-Ammoniak eine äussere Schicht der Kyanophycinkörner stets schneller, als der Kern derselben, doch nimmt letzterer schliesslich auch den Farbstoff auf. Die Kyanophycinmassen halten denselben, wenn er einmal aufgenommen ist, sehr fest, so dass man leicht durch Auswaschen mit alauhaltigem Wasser Präparate erhalten kann, bei welchem nur die Kyanophycinmassen gefärbt sind. Diese verhalten sich also in der That den Chromatinkörnern der Zellkerne höher organisirter Organismen in dieser Beziehung sehr ähnlich.

Andere Färbungen, als die mit Haematein-Ammoniak und Essigsäure-Karmen, sind weniger günstig, weil die Kyanophycinmassen nicht so schnell und intensiv gefärbt werden können, oder eingetretene Ueberfärbung nicht beseitigt werden kann, ohne dass auch die Kyanophycinmassen einen grossen Theil Farbstoff wieder abgeben. So wird Safranin aufgenommen, wenn man das Material 12—24 Stunden in mit Wasser stark verdünnte alkoholische Lösung legt. Mit Methylgrün, Fuchsin, Methylviolett, Anilinbraun und anderen Anilinfarben lassen sich die Kyanophycinmassen ebenfalls nach bekannten Methoden färben, doch eignen sich die Anilinfarben anscheinend

1) Hansgirg: *Physiol. und algologische Studien*, S. 9.

2) Schmitz: *Untersuchungen über die Structur des Protoplasmas und der Zellkerne in dem Sitzungsber. d. niederrhein. Gesellsch. in Bonn. 1880. S. 197.*

3) Strasburger: *Bot. Praktikum 1887, 2. Aufl., S. 340.*

4) O. Bütschli: *Ueber den Bau der Bacterien und verwandter Organismen. Leipzig 1890, S. 11.*

5) Vergl. über die von mir angegebene Methode der Färbung mit Haematein-Ammoniak, Cohn's Beiträge zur Biologie der Pflanzen, Bd. 5, S. 363 Anmerkung,

wenig, um Reinfärbungen herzustellen. Ich gehe daher hier nicht weiter auf die von mir gemachten Versuche ein. Eosin wird aufgenommen, ist aber leicht wieder auszuwaschen, wässrige Congo-rothlösung liess dagegen die Krystalloide ganz ungefärbt.

Auf das Verhalten der Kyanophycinkörper gegen Salpetersäure, Schwefelsäure und Aetzkalilösung ist oben schon aufmerksam gemacht worden. Doch habe ich hier der gemachten Bemerkung einige genauere Angaben zuzufügen. Concentrirte Salpetersäure löst schnell und plötzlich unter bedeutender Quellung, aber ohne Gelbfärbung die Kyanophycinmassen der frischen Pflanze, langsam jedoch die des durch Alkohol oder Pikrinsäure fixirten Materiales. Bei letzterem waren grössere Krystalloide noch nach zwölfstündigem Liegen in concentrirter Salpetersäure erhalten, doch zeigten dieselben stets im Centrum einen Hohlraum, kleinere Krystalle waren jedoch ganz verschwunden, doch hatte auch bei diesen die Lösung in der Weise stattgefunden, dass der Kern zuerst gelöst worden war. Wurde frisches Material mit concentrirter Salpetersäure minutenlang behandelt, dann ausgewaschen und mit Essigsäure-Karmin gefärbt, so konnten nur selten noch Reste der Kyanophycinkörper nachgewiesen werden, dagegen färbte sich der übrige Inhalt der Zellen intensiver mit Essigsäure-Karmin, als bei vorher nicht mit Salpetersäure behandeltem Material. Es scheint danach das Kyanophycin noch als solches in der Zelle vorhanden gewesen zu sein, wahrscheinlich durch die Essigsäure in feiner Vertheilung niedergeschlagen, und diese Niederschläge durch Karmin gefärbt worden zu sein. Wurde jedoch frisches Material längere Zeit (stundenlang) mit concentrirter Salpetersäure behandelt, so fand die intensive Rothfärbung des protoplasmatischen Zellinhalts nicht mehr statt. Die Kyanophycinlösung war also entweder aus den Zellen herausdiffundirt, oder aber zersetzt worden. Verdünnte Salpetersäure löst die Kyanophycinkörper langsamer, sowohl bei frischem, wie fixirtem Material. Gegen Salzsäure verhalten sich die Kyanophycinmassen sehr ähnlich wie gegen Salpetersäure. Concentrirte Salzsäure löst dieselben aber schneller. 0,2% Salzsäure schien mehrere Tage lang keine Einwirkung mehr auf fixirtes und frisches Material auszuüben, doch waren sämmtliche Kyanophycinmassen verschwunden, nach dem sie etwa 6 Wochen in derselben gelegen, während die Chromatophorfibrillen noch erhalten waren. Schwefelsäure löst die Kyanophycinmassen augenblicklich, zweifellos unter Zersetzung der Substanz. In künstlichem Magensaft fand ich die Kyanophycinmassen sowohl von frischem, wie mit Alkohol fixirtem Material nach eintägiger Einwirkung anscheinend unverändert vor, doch ist anzunehmen, dass sie bei längerem Liegen in demselben verdaut worden wären, da ja schon 0,2% Salzsäure allein die Fähigkeit besitzt, sie zu lösen. Verschieden verdünnte und concentrirte Kochsalzlösung bewirkt Quellung, und wenn dieselbe mehrere Tage auf die Kyanophycinmassen einwirkt, auch Lösung derselben, doch werden die von fixirtem Material sehr schwer gelöst. Käufliches Eau de Javelle löst die Kyanophycinmassen,

ebenso auch, wie schon oben erwähnt, Aetzkalilösung concentrirt und stark verdünnt, unter Quellungserscheinungen, doch erfolgt auch hier die Lösung bei fixirtem Material langsamer, ja bei mit Kupfersulfat fixirtem Material konnte ich keine baldige Lösung in Aetzkalilösung beobachten. Chloralhydratlösung löst sogleich die Kyanophycinmassen frischen Materials, die von fixirtem aber schwerer und langsamer, besonders von mit Pikrinsäure fixirtem. Aehnlich verhält sich Natriumacetatlösung, doch löst sie langsamer unter Quellungserscheinungen. In Ammoniak sind die Kyanophycinmassen nicht oder nur sehr schwer löslich. Nach mehrwöchentlichem Liegen von frischen *Tolypothrix*-Fäden fand ich einzelne Kyanophycinkörner noch erhalten. Die Kyanophycinmassen sind ausserdem nicht löslich in Alkohol, Schwefeläther, Schwefelkohlenstoff, mit Essigsäure angesäuerter Ferrocyaniumlösung, Kupfersulfatlösung und in kalter Dinatriumphosphatlösung, während in kochender concentrirter Lösung des letzteren sie langsam löslich sind. In Essigsäure sind sie ebenfalls unlöslich, doch quellen sie in concentrirter etwas.

Wenn auch die hier mitgetheilten Reactionen nicht ganz übereinstimmen mit den für die Nucleine angegebenen, und die Kyanophycinsubstanz weder mit diesen, noch mit dem Chromatin der Zellkerne höherer Pflanzen, noch mit dem Pyrenin, dem Bestandtheil der Nucleolen nach Frank Schwarz<sup>1)</sup>, identificirt werden kann, so dürfte doch eine diesen verwandte Substanz im Kyanophycin vorliegen, trotzdem ausser der Jodreaction keine allgemeine Proteinreaction glücken will. Ich bin also mit Bütschli<sup>2)</sup> der Ansicht, dass die Kyanophycinkörner den körnigen Bestandtheilen der Kerne höherer Organismen entsprechen und dieselben vertreten, wenn sie auch aus einer anderen Substanz bestehen. Eine makrochemische Untersuchung des Kyanophycins wird erweisen, ob dasselbe den unlöslichen Nucleinen F. Miescher's<sup>3)</sup>, mit welchem es die meisten Reactionen gemein hat, zuzuweisen ist oder nicht. Sicherlich aber haben wir es hier weder mit Paramylum, wie Cohn<sup>4)</sup> und Hansgirg<sup>5)</sup> glaubten annehmen zu können, noch mit irgend einem anderen Kohlenhydrate zu thun. Schon die Erzeugung desselben innerhalb des Centralkörperfadens, der doch, wenn er auch nicht mit den Zellkernen höherer Organismen zu identificiren ist, sicher dieselbe Rolle hier spielt, macht es unwahr-

1) Vergl. Fr. Schwarz: Die morphologische und chemische Zusammensetzung des Protoplasmas in F. Cohn's Beiträgen zur Biologie der Pflanzen Bd. V, 1887, besonders S. 184 u. 185 und S. 227 u. 229.

2) O. Bütschli: Ueber den Bau der Bacterien und verwandter Organismen, Leipzig 1890, S. 37.

3) F. Miescher: Die Spermatozoen einiger Wirbelthiere in Verh. d. naturf. Ges. in Basel, Bd. VI, 1874, S. 138—208.

4) F. Cohn, Beiträge zur Physiologie der *Phycochromaceen* und *Florideen* aus M. Schultze's Archiv für mikr. Anatomie. Bd. III, 1867, Separatabdruck S. 29.

5) Hansgirg, Physiol. u. algol. Studien S. 9.

scheinlich, dass ein Kohlenhydrat vorliegt. B. Frank<sup>1)</sup> hat den Nachweis geführt, dass der Erdboden für sich allein den atmosphärischen Stickstoff nicht in Stickstoffverbindungen überführen kann und dass, wenn solches eintritt, es nur geschieht durch niedere Algen (und zwar besonders *Phycochromaceen*), die sich in demselben entwickeln und die Fähigkeit besitzen, freien atmosphärischen Stickstoff zu vegetabilischen Stickstoffverbindungen zu assimiliren. Da die Stickstoffmenge, welche durch die Algen dem Boden zugeführt wird, nicht unbedeutend ist, so muss man doch wohl annehmen, dass stickstoffhaltige Verbindungen in irgend welcher auffallender Weise in den betreffenden Algen in Erscheinung treten. Die Kyanophycinkörper bilden nun aber höchst auffallende Inhaltsbestandtheile, und so gelangt man zur Vermuthung, dass sie die Stickstoffspeicher sind. Eigenthümlich ist es aber doch, dass bei vielen *Phycochromaceen* und *Bacterien* eine Ueberproduction von Kyanophycin häufig stattfindet und dass dieselben sogar an „Kyanophycinose“ zu Grunde gehen können. Fast in jedem längere Zeit wuchernden *Phycochromaceen*rasen oder *Phycochromaceen*-lager finden sich zahlreiche an dieser Krankheit zu Grunde gegangene Zellindividuen vor. Prantl<sup>2)</sup>, welcher übrigens bezweifelt, dass man bei den *Phycochromaceen* von Assimilation freien Stickstoffes sprechen darf, und die Stickstoffquelle für die Pflanzen in dem bei der Verdunstung des Wassers entstehenden Ammoniumnitrit sucht, bringt die aus seinen Versuchen sich ergebende ausgiebigere Leistungsfähigkeit des *Nostoc* (*Anabaena* incl.) in Verbindung mit der Symbiose dieser *Phycochromaceen* mit anderen Pflanzen, wie *Blasia*, *Anthoceros*, *Azolla*, *Gunnera*, *Cycas* und fährt dann fort: „Für den insbesondere von Janczewski angenommenen Parasitismus des *Nostoc* liegt ein thatsächlicher Anhaltspunkt eigentlich nicht vor. Vielmehr spricht für die Deutung, dass umgekehrt die Lebermoose aus der Anwesenheit des *Nostoc* Nutzen ziehen, die bekannte Thatsache, dass die charakteristische Ausbildung der Höhlungen, sowie die Entwicklung der mit den *Nostoc*schnüren sich durcheinanderschlingenden Haare nur durch die Anwesenheit von *Nostoc*, aber nicht jene anderer Eindringlinge hervorgerufen wird. Für *Azolla* spricht bereits Strasburger die Vermuthung aus, dass die *Nostoc*schnüre den Blättern der *Azolla* in ihrer Assimilationsarbeit behilflich seien. Es liegt nahe, in jenen Haaren von *Blasia*, *Anthoceros* und *Azolla* Organe zu erblicken, welche aus dem *Nostoc* Substanzen aufnehmen, und diese Substanzen dürften in den vom *Nostoc* aus dem freien Stickstoff (vielleicht indirect durch Ammoniumnitrit) bereiteten Stickstoffverbindungen zu erblicken sein, welche der das *Nostoc* beherbergenden Pflanze zu Gute kommen. Auch bei Ansiede-

1) B. Frank: Ueber den experimentellen Nachweis der Assimilation freien Stickstoffs durch erdbewohnende Algen. Ber. d. Deutsch. Botan. Gesellsch. XII. Jahrg. 1889, S. 34–42.

2) Prantl: Die Assimilation freien Stickstoffes und der Parasitismus von *Nostoc* in der „Hedwigia“, 1889, S. 135 u. 136.

lung von voluminösen Flechten, wie z. B. *Collema multifidum*, auf nacktem Gestein dürfte jene Thätigkeit des *Nostoc* eine wesentliche Rolle spielen; indess finden sich unter den gleichen Bedingungen auch andere durch *Chlorophyceen*<sup>1)</sup> ernährte Flechtenformen, für welche die einschlägigen Verhältnisse näher zu prüfen sind.“

Ich habe der vorstehenden Aeußerung von Prantl hinzuzufügen, dass ich die in *Azolla* eingewanderte *Anabaena*, sowie viele als Gonidien für Flechten dienende *Phycochromaceen* stets sehr arm an Kyanophycinmassen gefunden habe. Es scheint mir diese Thatsache meine Ansicht zu bestätigen, dass in den Kyanophycinmassen der Stickstoff aufgespeichert ist. Bei den in Symbiose lebenden *Phycochromaceen* kommt es zu einer solchen Aufspeicherung desselben nicht, da er von den die Symbiose theilenden Pflanzen jenen sehr bald entzogen wird. Die *Phycochromaceen* würden also nicht nur als Raumparasiten Vortheil ziehen, sondern auch durch ihre Beherberger vor dem Untergange an Kyanophycinose geschützt sein.

Zacharias hat Beobachtungen gemacht über das Auftreten der Kyanophycinkörner bei unter verschiedenen Verhältnissen gemachten Culturen, besonders einer *Oscillaria*. Derselbe hat gefunden, dass das Vorhandensein oder Fehlen und die Quantität der Kyanophycinkörner durch die Art der Cultur bedingt seien. Derselbe legte belichtete und verdunkelte Culturen von *Oscillaria* sp. an, beide zum Theil bei Zimmertemperatur (während der Wintermonate), zum Theil im Wärmeschrank bei 30° C., noch andere im Warmhaus. Die Fäden waren zu Beginn der Versuche meist reich an Centralsubstanz (d. h. also an Kyanophycinkörnern im Innern des centralen Knäuels) und enthielten mehr oder weniger (Kyanophycin-) Körner in ihren Zellen (d. h. in den sich abwickelnden und lockernden Theilen des Centralkörpers). Die Culturen zeigten nun nach einiger Zeit folgendes Verhalten: „In den belichteten Culturen hatten sich die Fäden allseitig ausgebreitet, in den verdunkelten nicht. Sie hatten hier vielmehr im Wesentlichen die Lage beibehalten, welche ihnen zu Anfang des Versuches ertheilt worden war. Die verdunkelten Culturen waren reich an Centralsubstanz, die belichteten frei davon, Körner fehlten, einen Fall ausgenommen, in den belichteten Warmhausculturen, hingegen waren

<sup>1)</sup> Bei *Diatomeen*, *Flagellaten* (*Euglena*, *Leptocinclis*, *Trachelomonas*, *Chilomonas*, *Cryptomonas* etc.), in einer Fadenalge (*Stigeoclonium* oder nahe Verwandte) und in einem feinen Pilzmycel aus Sumpfwasser fand Bütschli (a. angeg. Ort S. 30) ähnlich wie die Kyanophycinkörper der *Phycochromaceen* reagirende Körner im Körperplasma. Ich kann das häufige Vorkommen sowohl von eckigen Körnern, also vermuthlich Krystallen, wie auch amorphen Massen einer sich mikrochemisch sehr ähnlich wie das Kyanophycin verhaltenden Substanz bei *Diatomeen* bestätigen, auch bei *Hydrodictyon* habe ich ähnliche Körper im Zellplasma einmal bemerkt. Es ist anzunehmen, dass diese Massen, welche vielleicht indirect aus dem Zellkern stammen, auch bei den *Chlorophyceen* weiter verbreitet sind und dass dieselben vielleicht eine der des Kyanophycin ähnliche Rolle spielen. Jedenfalls ist bei Flechten bildenden *Chlorophyceen* nach solchen zu suchen.

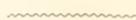
die belichteten Zimmerculturen reich daran.“ In vielen Fällen bildeten hier die Körner einen sehr wesentlichen Bestandtheil der Gesamtmasse der Fäden. Dabei hatten sich die an den Querwänden angesammelten Körner zu grösseren unregelmässig gestalteten Massen vereinigt. In den Dunkelculturen war eine merkliche Veränderung des Körnergehaltes nicht nachzuweisen.“ Ich habe zwar zur Zeit ähnliche Versuche wie Zacharias noch nicht angestellt, aber doch eine mehr zufällige Beobachtung gemacht. Ich fand nämlich, dass, während des Winters längere Zeit in Flaschen von weissem Glase eingesetzte und im Lichte dicht am Fenster im Zimmer cultivirte *Phycochromaceen* im Allgemeinen arm an Kyanophycingehalt waren, dass dagegen zur selben Zeit in flachen, unbedeckten Schalen ebendasselbst cultivirte, — wobei das Material zum Theil den Flaschenculturen entnommen worden war, — in verhältnissmässig kurzer Zeit reich an Kyanophycin wurden. Die Flaschen waren nicht völlig mit Wasser gefüllt und enthielten also etwas Luft. Ein Theil war leicht mit Kork oder Baumwolle verschlossen, ein anderer Theil aber offen. Aus dieser Beobachtung in Combination mit den Beobachtungen von Zacharias schliesse ich nun, dass die Ablagerung von Kyanophycin in den Zellen zwar durch das Licht gehindert oder doch verzögert wird, insofern durch die im Licht sich abspielenden oder doch durch dasselbe angeregten chemischen Processe jedenfalls die gebildete Kyanophycinsubstanz wieder verbraucht wird, dass jedoch ein bedeutender Stickstoffgehalt der Luft, wie er sich in bewohnten Zimmern findet, trotz der Lichtwirkung die *Phycochromaceen* zu reichlicher Kyanophycinablagerung veranlasst. Die in offenen Schalen der Zimmerluft ausgesetzten *Phycochromaceen* hatten bessere Gelegenheit, den Stickstoff der Zimmerluft aufzunehmen, als die in den Flaschen untergebrachten, in welchen zwar etwas Luft vorhanden war, aber kaum ein häufiger Wechsel derselben stattfand und auch, — darauf ist noch besonders aufmerksam zu machen, — das Wasser nicht oder doch nur sehr wenig verdampfte. Bei den von Zacharias angelegten belichteten Warmhausculturen fehlten die Kyanophycinkörner oder waren doch selten, desswegen, weil einerseits die Wachstumsprocesse, durch welche das Kyanophycin verbraucht wurde, zweifellos im Warmhaus reger war, auf der anderen Seite aber auch der Stickstoffgehalt vermuthlich geringer, als im Zimmer.

Ich muss hier noch auf zwei Thatsachen aufmerksam machen, die mir bei der Musterung der *Phycochromaceen* aufgefallen sind. Die eine ist die, dass sich in einem meiner Culturegefässe eine Form von *Tolypothrix Aegagropila* einfand, welche im Centrankörperfäden kleine orangegelb gefärbte Kyanophycinkristalle (vergl. Fig. 26) zeigte. Die betreffenden Fäden waren ziemlich gleichmässig ausgestaltet, zeigten meist zu dichtem Knäuel verschlungenen Centrankörperfäden und waren durchaus lebenskräftig. Viele ihrer Zellen befanden sich in Theilung. Das Culturegefäss, ein Fläschchen mit weiter Oeffnung, hatte lange an einem Fenster gestanden, ohne dass es jedoch directe Sonnenstrahlen bekommen hatte. Der

gelbe Farbstoff löste sich in Alkohol, Aether und Schwefelkohlenstoff. Weiteres habe ich über denselben nicht erforschen können, da das Material zu spärlich war. Die zweite Thatsache, welche ich zu bemerken Gelegenheit hatte, ist folgende: In vielen *Chroococcaceen*, besonders aber auch bei den untersuchten Arten der Gattung *Chroococcus* selbst und bei *Glacocapsa*, ferner von fadenförmigen *Phycchromaceen* bei *Oscillarien* habe ich wiederholt schön hellgrüne oder auch bisweilen dunkel olivengrüne bis fast bräunliche oder schwärzliche, das Licht aber stark brechende Massen bemerkt, welche bisweilen eckig, also den Kyanophycinkristallen ähnlich, meist jedoch unregelmässig gestaltet oder amorph waren. Diese Massen fanden sich sowohl in den Zellen, und zwar dann zwischen Centalkörper und der Rindenschicht, oder in letztere eingelagert, oder noch häufiger als fleckiger Ueberzug über den protoplasmatischen Zellkörper zwischen diesem und der Zellmembran vor. Bisweilen war im letzteren Falle deutlich zu bemerken, dass der protoplasmatische Körper der betreffenden Zelle sich contrahirt hatte. Die Massen waren dann auch im Profil deutlich sichtbar und traten als abgerundete Tropfen oder in traubigen Formen vor (m. in Fig. 14). Leider habe ich auch noch keine Erfahrungen über die Reactionen, welche diese Massen zeigen, gesammelt. Nur so viel kann ich sagen, dass sie sich mit den von mir angewendeten Farbstofflösungen nicht färbten und sehr widerstandsfähig gegen Lösungsmittel sind. Diese Massen werden von den Zellen der *Chroococcaceen* gelegentlich, bei dem Verjüngungsact, wenn die Zelle aus der Membran ausschlüpft, ausgeschieden, vermuthlich auch wohl zwischen eine neu gebildete und die alte Membran gelagert. Auffallend war es mir, dass fast alle Zellen, welche grössere Massen dieser Substanz ausserhalb des protoplasmatischen Körpers aufwiesen, ausserordentlich arm an Kyanophycinkörnern waren (vergl. Fig. 14). Ich vermüthe daher, dass es sich hier um ein Ausscheidungsproduct handelt, das aus übermässigem Kyanophycingehalt hervorgegangen ist. Freilich müsste man annehmen, dass das Kyanophycin nicht als solches ausgeschieden, sondern in eine andere Substanz verwandelt würde, oder dass das Kyanophycin in zwei Stoffe zerspalten und der eine davon abgeschieden würde. Vielleicht vermögen *Chroococcaceen* und solche fadenförmige *Phycchromaceen*, welche keine Grenzzellen und überhaupt keine Ablagerungsorte für das Kyanophycin besitzen, sich auf die geschilderte Weise ihres Ueberflusses zu entledigen.

Schliesslich möge hier noch erwähnt werden, dass ich nicht nur, wie oben erwähnt, bei degenerirten Zellen in der grünen Rindenschicht, sondern im übrigen Zellplasma, besonders zwischen der Rindenschicht und dem Centalkörper, aber auch zwischen den Fadentheilen des letzteren Vacuolen auch bei ganz lebenskräftigen Zellen gefunden habe.

Breslau, Februar 1892.



## Figurenerklärung.

Die Figuren 1—7 und 11 sind mit Zuhilfenahme des Zeichenprismas, die andern freihändig entworfen, möglichst genau nach den Originalen.

### Tafel XVII.

Fig. 1 bis 10. *Glaucocystis Nostochinearum* Itzigsohn.

- Fig. 1. Einzelne Zelle, bei welcher die Chromatophoren spinnenbeinartig geordnet sind. Bei **n** der Zellkern. Vergr.  $\frac{720}{1}$ .
- Fig. 2. Vierzellige Familie, aus Zellen, deren Chromatophoren spinnenbeinartig vertheilt sind, gebildet. Vergr.  $\frac{720}{1}$ .
- Fig. 3. Einzelne Zelle, bei welcher die Chromatophoren von zwei ringförmigen sich gegenüberliegenden Stellen von der Vacuole ausstrahlen. Bei **n** der Zellkern. Vergr.  $\frac{720}{1}$ .
- Fig. 4. Einzelne Zelle, bei welcher die mehr oder weniger verhältnissmässig kurzen, hin- und hergeschlängelten Chromatophoren unregelmässig vertheilt in der der Zellwand anliegenden Protoplasmaschicht liegen. Bei **n** der Zellkern. Vergr.  $\frac{720}{1}$ .
- Fig. 5. Familie, von acht jungen Zellen gebildet, bei welchen die verhältnissmässig kurzen und mehr oder weniger geschlängelten Chromatophoren unregelmässig vertheilt in der der Zellwand anliegenden Protoplasmaschicht liegen. Vergr.  $\frac{720}{1}$ .
- Fig. 6. Junge Familie, aus zwei Zellen gebildet. Vergr.  $\frac{720}{1}$ .
- Fig. 7. Aeltere in der Vermehrung begriffene Zelle nach einem mit Essigsäurekarmin gefärbtem Präparat. Bei **n** die vier Zellkerne. Vergr.  $\frac{720}{1}$ .
- Fig. 8 und 9. Zellkerne, mit Essigsäure-Karmin gefärbt. Vergr. etwa  $\frac{2800}{1}$ .
- Fig. 10. Chromatophoren, mit Essigsäure-Karmin gefärbt. Vergr. etwa  $\frac{1500}{1}$ .
- Fig. 11 bis 14. *Chroococcus tenax* Hieron. Fig. 11. Achtzellige Colonie nach dem Leben. Vergr.  $\frac{720}{1}$ .
- Fig. 12. Einzelne Zelle aus einer Colonie mit sehr grossem Centralkörper, dessen äussere Fadenlagen sehr reich an Kyanophycin-Körnern, und sich abzuwickeln im Begriff sind. Die Chromatophorfibrillen sind in der Figur weggelassen. Nach mit Essigsäure-Karmin gefärbtem Präparat. Vergr. etwa  $\frac{3300}{1}$ .
- Fig. 13. In Theilung begriffene Zelle aus einer Colonie. Die Chromatophorenfibrillen sind nicht mit eingetragen. Der Centralkörper besteht aus verhältnissmässig wenigen Fibrillen, welche ziemlich grosse Körner führen und zum Theil vom Knäuel etwas abgewickelt sind. Zur Vollendung der Theilung der Zelle fehlt nur noch die Durchschnürung des centralen

Fibrillen-Knäuels. Nach mit Essigsäure-Karmin gefärbtem Präparat entworfen. Vergr. etwa  $\frac{3300}{1}$ .

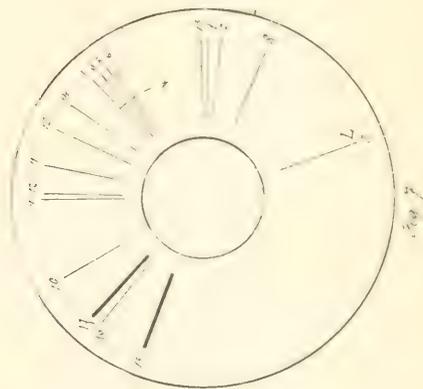
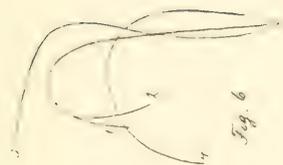
- Fig. 14. Einzelne Zelle aus einer Colonie nach mit Essigsäure-Karmin gefärbtem Präparat. Die Chromatophorenfibrillen sind weggelassen. Der Centrialkörper bildet einen dichten, abgerundeten Fadenknäuel, der nur sehr winzige Kyanophycinkörner führt und vermuthlich sich seines Kyanophycingehaltes entledigt hat. Reste desselben liegen aussen am protoplasmatischen Körper in Form von sehr stark glänzenden, schön grün gefärbten Massen (**m**). Vergr. etwa  $\frac{3300}{1}$ .
- Fig. 15. *Hapalosiphon hormioides* Rabenh. Fadenende, aus drei Zellen bestehend, nach mit Essigsäure-Karmin gefärbtem Präparat. Die Chromatophorenfibrillen sind nicht eingezeichnet. In den Zellen **a** und **b** bilden die Centrialkörperfibrillen dichte Knäuel. Die Zelle **c** ist in Folge allzugroßem Kyanophycingehaltes abgestorben oder im Absterben begriffen gewesen. Vergr. etwa  $\frac{3300}{1}$ .

## Tafel XVIII.

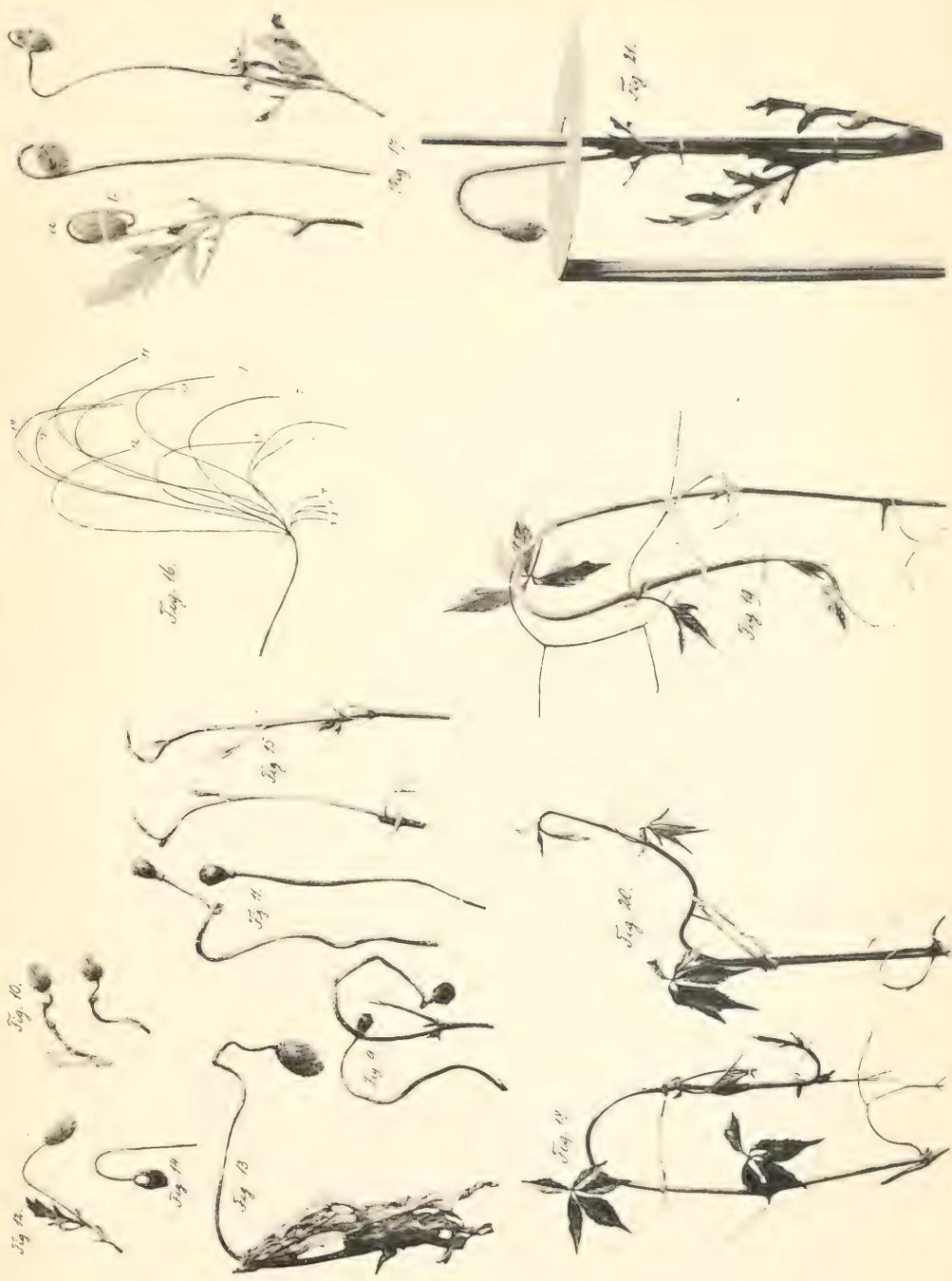
- Fig. 16 bis 19. *Aphanocapsa* spec. Vergr.  $\frac{3300}{1}$ .
- Fig. 16. Zelle nach etwa 24 stündigem Liegen in etwa 6% Kochsalzlösung. Sowohl die in Spiralen die Zelle umgebende Chromatophorenfibrille war deutlich zu erkennen, wie auch der aus einem hin- und hergewundenen Faden bestehende Centrialkörper.
- Fig. 17. Aehnliche Zelle fixirt und die Kyanophycinkörner mit Essigsäure-Karmin gefärbt. Das Chromatophor ist weggelassen.
- Fig. 18 und 19. Zwei Zellen ebenso, in Theilung. Das Chromatophor ist weggelassen.
- Fig. 20 bis 22. *Aphanothece* spec. Vergr. etwa  $\frac{3300}{1}$ .
- Fig. 20. Eine Zelle nach Behandlung mit etwa 6% Kochsalzlösung während etwa 24 Stunden. Im Chromatophor ist anseheinend nur eine die Zelle in einer Doppelspirale umgebende Fibrille vorhanden.
- Fig. 21 und 22. Zwei Zellen nach mit Essigsäure-Karmin gefärbtem Präparat. Das Chromatophor ist weggelassen. Der aus sicher nur einem Faden bestehende Centrialkörper liegt verschiedenartig verschlungen in der Mitte der Zellen.
- Fig. 23. *Phormidium curvatum* (syn. *Lyngbya curvata* Rabenh., *Siphoderma* und *Oscillaria curvata* Kütz.). Fadenende ohne Scheide. Die Zellen **a** und **b** an der Spitze zeigen den Charakter des Chromatophors nach Behandlung mit etwa 6% Kochsalzlösung während ungefähr 24 Stunden. Die Zellen **c** bis **f** sind nach mit Essigsäure-Karmin gefärbten Präparaten **c** und **d** eines und desselben Fadens, **e** und **f** aus zwei anderen Fäden ausgewählt entworfen. **e** zeigt die Zelltheilung bei ziemlich dicht knäuelartig zusammengewickeltem Centrialkörperfaden, **f** dagegen bei sehr gelockertem Centrialkörperfaden. Vergr. etwa  $\frac{3300}{1}$ .
- Fig. 24 und 25. *Oscillaria tenerrima* Kütz. Vergr.  $\frac{3300}{1}$ .
- Fig. 24. Fadenende nach mit Essigsäure-Karmin gefärbtem Präparat. Die Zellen **a**, **b** und **c** sind ohne Chromatophor gezeichnet, in der Zelle **d** ist dasselbe angegeben. **a**, **b** und **c** zeigen den zu einem Knäuel zusammengewickelten Centrialfaden, der wenig Kyanophycinkörnchen enthält. Die Zelle **e** ist in Theilung begriffen.

- Fig. 25. Theil eines anderen Fadens der Alge. Die Zellen sämmtlich ohne Einzeichnung des Chromatophors. In der Zelle **a** und **b** enthält das äussere der Querwand anliegende Centralfadenende grössere Kyanophycinkristalle (vermuthlich Trapezoeder), bei der Zelle **c** sind im Centrankörper dagegen ähnliche kleinere Krystalloide und zwei grössere vorhanden, von welchem die letzteren deutlich Würfelform erkennen liessen.
- Fig. 26. *Tolypothrix Aegagropila* Kütz. starke Form. Die Figur zeigt in den Zellen **a** und **b** das Chromatophor nach Behandlung mit etwa 6% Kochsalzlösung. Die grüne Farbe ist jedoch der Deutlichkeit wegen bei Weitem stärker aufgetragen, als wie in Natur die Fibrillen gefärbt sind. In die Zelle **c** ist das Chromatophor nicht eingezeichnet. Dieselbe zeigt den durch einen orangegelben (Phycooxanthin?) Farbstoff bei der lebenden Alge schon gefärbten Centrankörper, dessen Faden wie die in den übrigen Zellen einen dichten Knäuel bildete. Vergr.  $\frac{3.300}{1}$ .
- Fig. 27 bis 31. *Tolypothrix tenuis* Kütz. var. *pallescens* Rabenh. Sämmtliche Figuren sind nach mit Essigsäure-Karmin gefärbten Präparaten entworfen. Vergr. etwa  $\frac{3.300}{1}$ .
- Fig. 27. Ganz junger Faden aus einer alten Scheide. Derselbe besteht aus vier Zellen. Die Zelle **a** ist die am freien Fadenende befindliche, die Zelle **z** war vermuthlich bestimmt, zur Grenzzelle zu werden. Das Chromatophor ist überall weggelassen. Der Centrankörper befindet sich in verschiedenem Zustande in den Zellen.
- Fig. 28. Freies Fadenende. Das Chromatophor ist nur in der Zelle **f** eingezeichnet, und zwar nur die vordere Hälfte desselben, der Centrankörper in **f** weggelassen. In den Centrankörpern der Zellen **a b c** und **e** finden sich grössere Kyanophycin-Krystalloide, welche deutliche Würfel sind, davon in **b** ein durch Octaederflächen enteckter. Ausserdem sind, wie auch in Zelle **d**, überall im Centralfaden noch rundliche Krystalle zahlreich vorhanden.
- Fig. 29. Zwei Zellen aus der Mitte eines lebenskräftigen Fadens mit mehr oder weniger dichtem Centralfadenknäuel. Das Chromatophor ist nicht eingezeichnet.
- Fig. 30. An Kyanophycinnose zu Grunde gehende oder bereits gegangene Zelle aus einem Faden, dessen Zellen sämmtlich dieselbe Beschaffenheit zeigten. Nur in wenigen derselben waren noch Reste des Chromatophors vorhanden.
- Fig. 31. Ende eines lebenskräftigen Fadens mit einer Grenzzelle **b** und einer vegetativen Zelle **a**. Sämmtliche vegetative Zellen des Fadens hatten die Beschaffenheit der Zelle **a**, in welcher nur der Centrankörper eingezeichnet ist, welcher aus einem sehr langen dünnen und kyanophycinarmen Kernfaden bestand, der bei **a** etwas in der Abwicklung begriffen ist. In dem Halse der Grenzzelle **b** hat sich bei **z** eine grössere amorphe Kyanophycin-Masse gesammelt. Der Tüpfelkanal zu **a** ist geschlossen. Ausserdem ist in die Grenzzelle nur noch der Centrankörper eingezeichnet.



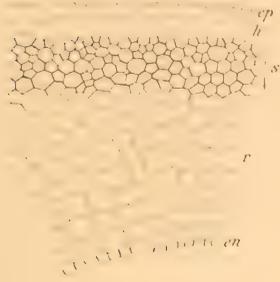




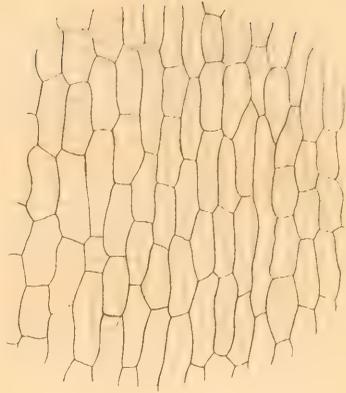




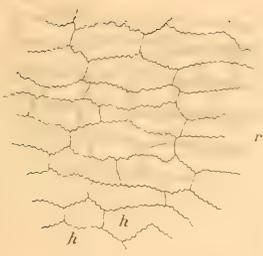
1.



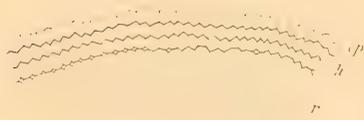
2.



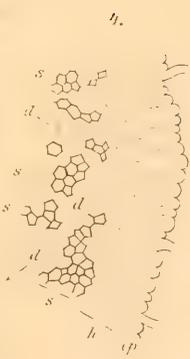
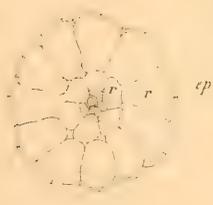
3.



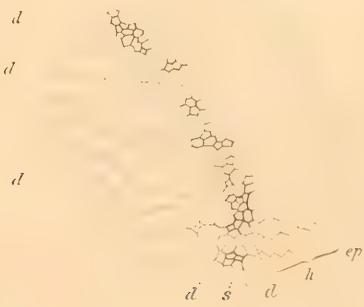
3.



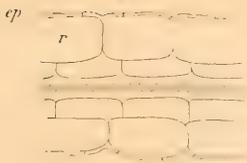
6 a



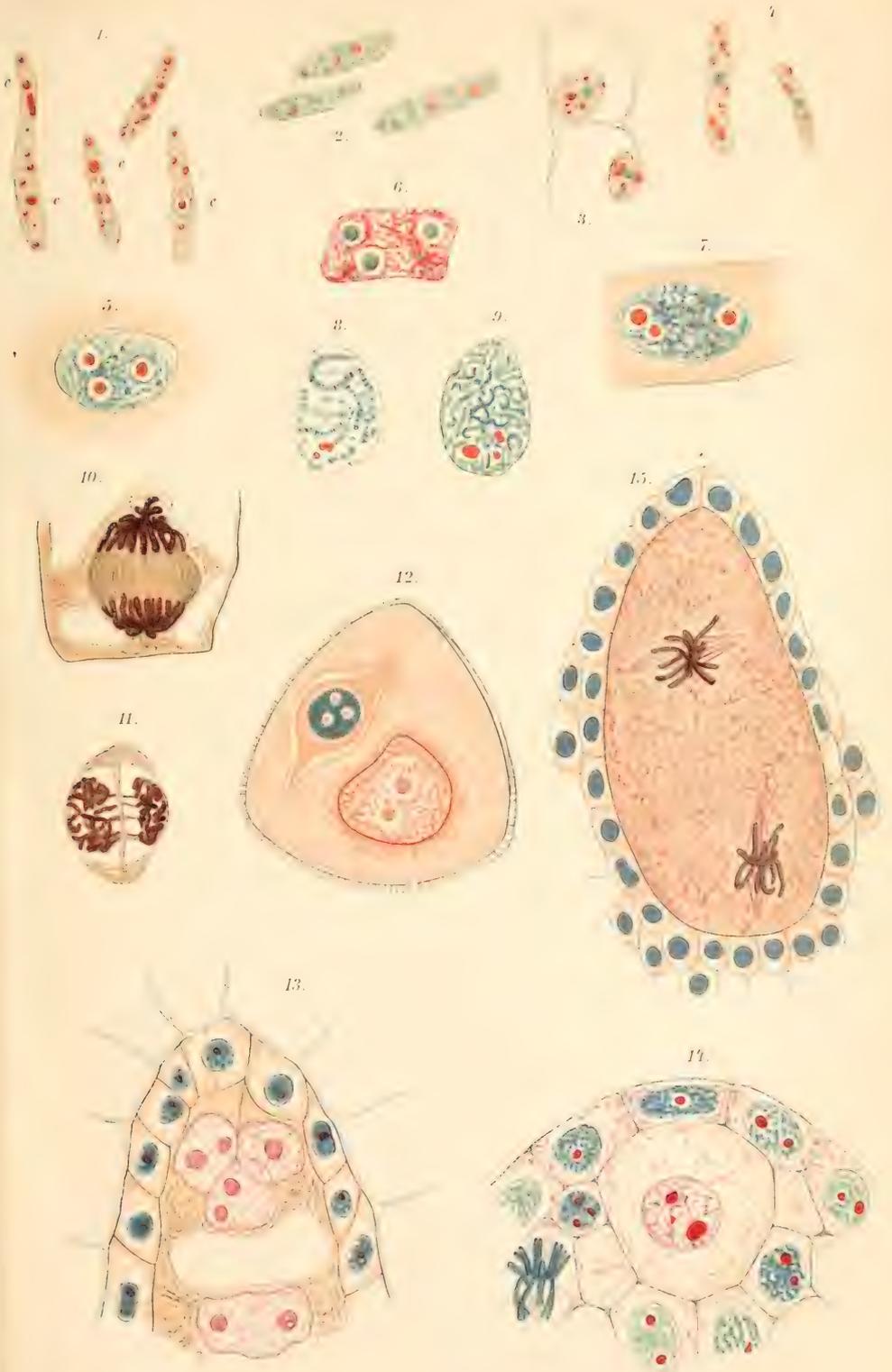
7.



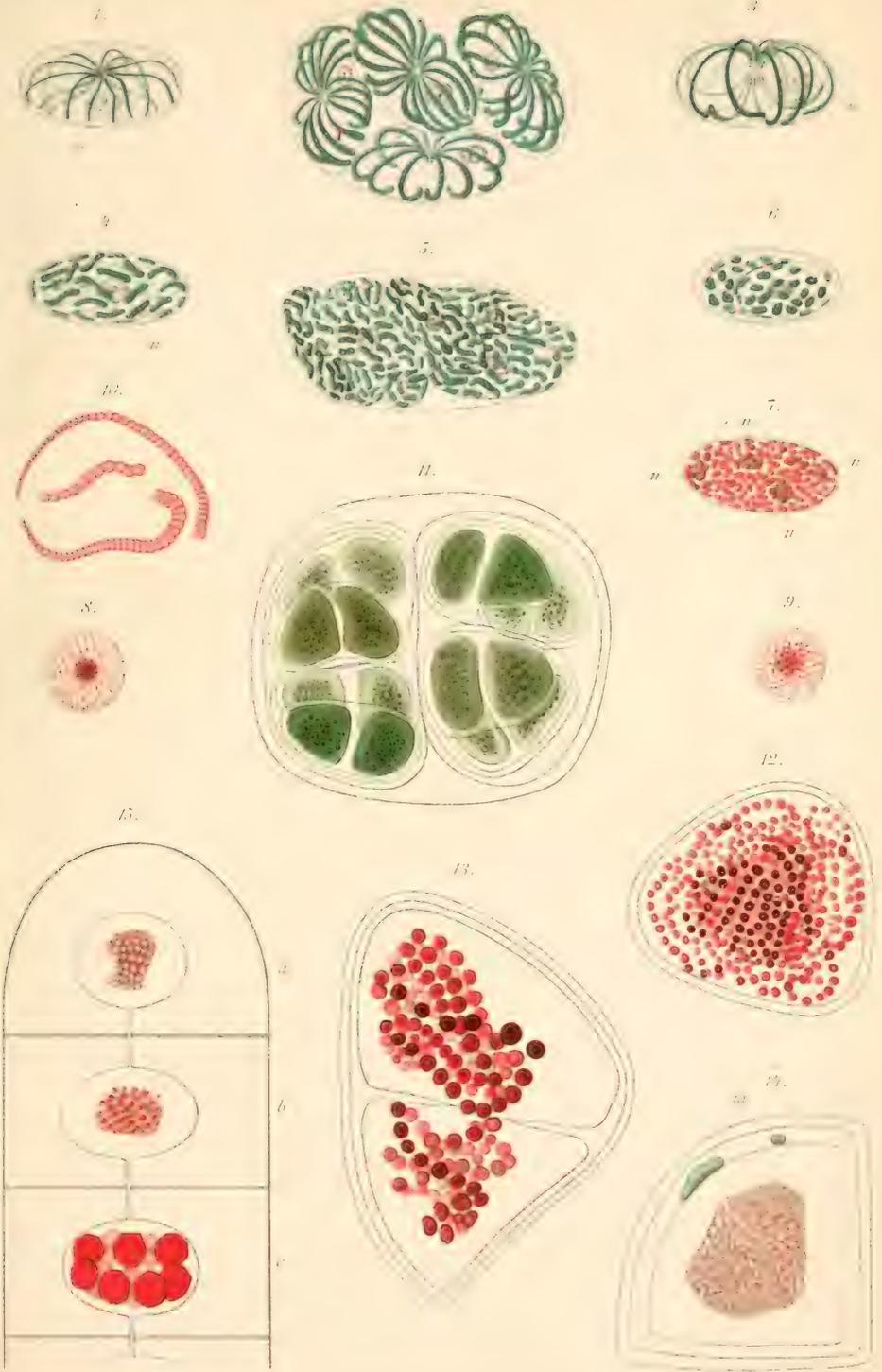
6 b





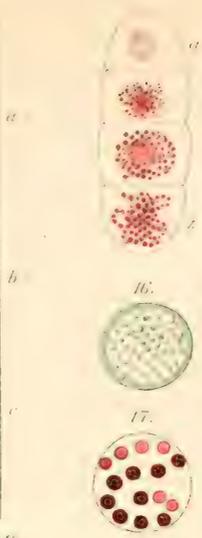
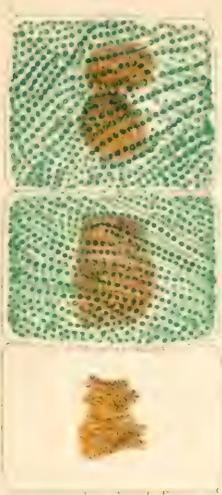




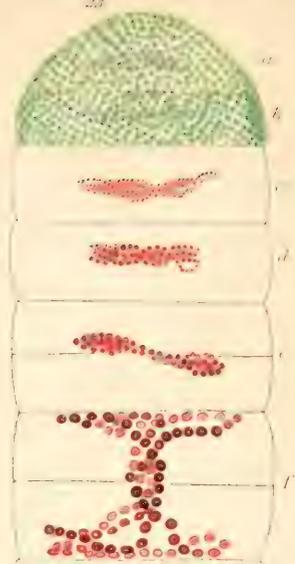




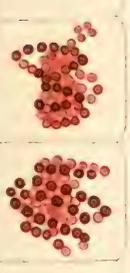
26



23



29.



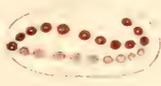
18.



19.



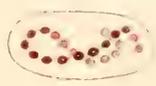
22.



20.



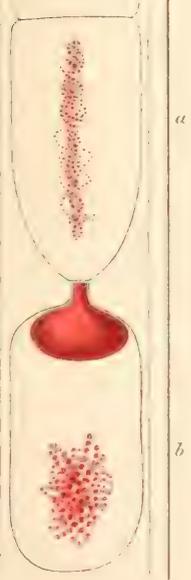
21.



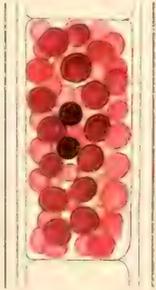
24.



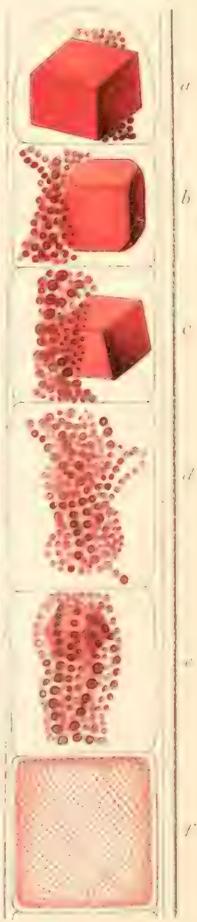
31.



30.



28.









New York Botanical Garden Library



3 5185 00259 2077

