

B. Spezielle Mikrochemie.

I. Anorganischer Teil.

Sauerstoff.

Priestley wies schon die Abgabe von Sauerstoff durch assimilierende Pflanzen im Sonnenlichte nach. In der Physiologie benutzt man zu derartigen Experimenten vorzugsweise Wasserpflanzen, bei denen der Sauerstoff durch die gesamte Blattfläche ausgeschieden wird, während er bei Landpflanzen durch die Spaltöffnungen nach außen gelangt. Quantitativ ermittelt man den ausgeschiedenen Sauerstoff, indem man die Pflanzen oder Pflanzenteile in einen Rezipienten einschließt, in diesen einen Strom kohlensäurehaltiger Luft mit bestimmtem Sauerstoffgehalt einleitet und sodann in der abgesaugten Luft die Zunahme an Sauerstoff bestimmt. Pfeffer¹⁾ hat für abgeschnittene Blätter einen eigenen Apparat konstruiert. Hoppe-Seyler²⁾ läßt den abgegebenen Sauerstoff auf Bluthämoglobin wirken und prüft letzteres spektralanalytisch. Helodeasprosse werden mit Wasser und etwas faulendem Blute in ein Glasrohr eingeschmolzen. Der im Glasrohr befindliche Sauerstoff wird nach einiger Zeit vollständig absorbiert, spektralanalytisch läßt sich in der Flüssigkeit kein Oxyhämoglobinstreifen mehr nachweisen. Bringt man nun das Glasrohr ins Sonnenlicht, dann assimiliert der Sproß, gibt von neuem Sauerstoff ab, die Flüssigkeit zeigt wiederum bei der spektroskopischen Prüfung den Oxyhämoglobinstreifen. Derart lassen sich noch 0,002 ccm Sauerstoff nachweisen, doch eignen sich nicht alle Wasserpflanzen zu diesem Versuch.

Zum mikroskopischen Nachweis bedient man sich der Bakterienmethode von Engelmänn³⁾. Die erforderlichen Bakterien sind leicht zu beschaffen. Man erhält sie, wenn man Erbsen oder andere Hülsenfrüchte einige Tage in Wasser faulen läßt. Von diesem faulenden Wasser überträgt man einen Tropfen in Cohnsche Normallösung (1 g

¹⁾ W. Pfeffer, Pflanzenphysiologie, II. Aufl., 1897, I, S. 292.

²⁾ F. Hoppe-Seyler, Ztschr. f. phys. Chem., 1877, I, S. 121.

³⁾ Th. W. Engelmänn, Neue Methode zur Untersuchung der Sauerstoffausscheidung pflanzlicher und tierischer Organismen, Botan. Ztg., 1881, XXXIX, S. 441.

saures phosphorsaures Kali, 1 g schwefelsaure Magnesia, 2 g neutrales weinsaures Ammoniak, 0,1 Chlorkalzium, 200 g destilliertes Wasser). Nach wenigen Tagen erhält die milchig trübe gewordene Nährlösung eine grünliche Kahmhaut, die im Zoogloea-Stadium unbewegliche Bakterien enthält, während in der Nährlösung sich zahlreiche $1,5 \mu$ lange stäbchenförmige Bakterien finden, die in ruckweiser Bewegung begriffen sind. Diese Bakterien stellen ihre Bewegungen bei Sauerstoffmangel ein, um sie bei Zutritt von Sauerstoff sofort wieder aufzunehmen, und zwar in der Richtung der Sauerstoffquelle hin. Bringt man einen Tropfen der die Bakterien enthaltenden Nährlösung unter Deckglas, so erhalten die Bakterien ihre Bewegungen am längsten am Deckglasrande, wo die letzten Sauerstoffmengen noch vorhanden sind, und sammeln sich dort auch an. Man bringt das zu prüfende möglichst zarte Präparat (zur Demonstration verwendet man Algenfäden, *Spirogyra*) in einen Tropfen Wasser, fügt eine größere Anzahl der gezüchteten Bakterien (*B. Termo*) zu und verkittet den Deckglasrand mit Wachs, Paraffin, Vaseline oder Kakaobutter, um sowohl Strömungen im Untersuchungstropfen zu verhindern, als auch die Flüssigkeit vor dem Verdunsten zu schützen und auch den Zutritt neuen Sauerstoffes zu verhindern. Die Bakterien sammeln sich an der Sauerstoffquelle, bei *Spirogyra* beispielsweise an jenen Stellen, an denen das Chlorophyllband der Membran anliegt. Bei Verdunklung des Präparates, bei Einstellung der Assimilation, hört die Bakterienbewegung auf, um bei erneuter Belichtung momentan wieder einzutreten.

Mittels eines Mikrospektralobjektivs läßt sich auch die Stärke der Kohlensäureassimilation in allen Teilen des Spektrums messen. Näheres hierüber bei Engelmann, Bot. Ztg., 1882, XL, S. 419.

In neuerer Zeit wird die Photo-Methode von Beijerinck¹⁾ angewandt. Sie gelingt nicht nur mit Pflanzenteilen (*Fucus*, *Helodea*), sondern auch wenn man lebende Blätter vom Klee mit destilliertem Wasser zerreibt und das Filtrat, welches zahlreiche Chlorophyllkörner enthält, mit Leuchtbakterien in einer Flasche mischt. Nach kurzer Zeit (etwa $\frac{1}{2}$ Stunde) wird die Mischung dunkel. Von neuem dem Licht ausgesetzt, wird die Flüssigkeit wieder leuchtend, d. h. die Bakterien leuchten wieder, infolge des im Lichte entbundenen Sauerstoffes. Molisch²⁾ verwendet als Leuchtbakterie *Micrococcus phosphoreus* Cohn,

¹⁾ M. W. Beijerinck, Kulturvers. m. Zoochlorellen, Bot. Ztg. 1890, S. 744. Photobacter. as a React. in the Investig. of the Chlorophyllfunction, K. A. Amsterdam 1901, S. 45, Zentralbl. f. Bakt., 1902, IX, S. 685.

²⁾ H. Molisch, Über Kohlensäureassimilationsversuche mittels der Leuchtbakterienmethode, Botan. Ztg., 1904, LXII, S. 1.

der von Rindfleisch leicht zu erhalten ist, und benutzt zur Kultur eine schwach alkalische Fleischbouillon von folgender Zusammensetzung: 1 Liter verdünnter Rindfleischsaft (von $\frac{1}{8}$ kg Rindfleisch), 10 g Pepton, 10 g Glyzerin und 30 g Kochsalz. Präparatengläser (etwa von 9 cm Höhe und von 2 cm lichter Weite mit Glasstöpseln) werden zu $\frac{1}{3}$ mit dem Filtrat des Pflanzenbreies beschickt, dann mit leuchtender Bouillon völlig angefüllt und der Stöpsel unter Vermeidung von Luftblasen aufgesetzt. Am besten gelingen die Versuche bei 5–20° C, da bei dieser Temperatur *Micrococcus phosphoreus* seine größte Leuchtkraft besitzt. Versuchsobjekte sind Blätter von *Trifolium pratense*, *Lamium album*, *Sambucus nigra*, *Calendula officinalis*, welche auch grüne Preßauszüge geben. Bräunlich gefärbte Filtrate (von *Robinia pseudacacia*, *Rheum*, *Abies excelsa*) bringen die Photobakterien nicht zum Aufleuchten. Selbst der Preßsaft von toten Blättern von *Lamium album* entbindet Sauerstoff und bewirkt ein Aufleuchten. Doch dürfen die Blätter nur an der Luft und im Exsikkator getrocknet sein und nicht bei 100° C. Hingegen vertragen sie ein Trocknen bei 50–70°, wie V. Baldasseroni¹⁾ fand (bei *Spinacia oleracea*, *Senecio vulgaris*, *Veronica* u. a.), der als Leuchtbakterie *Micrococcus phosphoreus* und *Photobacterium italicum* benutzte.

Der Nachweis mit Leuchtbakterien und Preßsäften hat ein größeres Interesse, da man eine Zeitlang der Ansicht zuneigte, daß die Photosynthese ausschließlich auf enzymatische Vorgänge zurückzuführen wäre. Auch Usher und Priestley²⁾ sagen, daß zur Photosynthese aus Kohlensäure und Wasser nötig sind: lebendes Protoplasma, Gegenwart eines katalytischen Enzyms und die Anwesenheit von Chlorophyll. Die Versuche zeigen jedoch nur, daß die Sauerstoffentwicklung auf die Tätigkeit der Chlorophyllkörner zurückzuführen ist, die in den Auszügen zugegen sind und auch nach dem Trocknen der Blätter eine Zeitlang ihre assimilatorische Fähigkeit beibehalten, falls sie nicht zu sehr geschädigt sind.

Wasserstoffsuperoxyd.

Wasserstoffsuperoxyd hemmt das Wachstum und ist für Pflanzen stark giftig, eine Ansicht, die allerdings von Bach und Chodat³⁾ verneint wurde. Nach Pfeffer (Physiologie) schadet „eine vorübergehende Einwirkung einer konz. Lösung weniger als eine andauernde Einwirkung einer verdünnten Lösung“. Einer der ersten, der sich mit dem Nachweis von Wasserstoffsuperoxyd in den lebenden

¹⁾ V. Baldasseroni, Ricerche sull'assimilazione del carbonio fuori dell'organismo virente, *Annali di Bot.*, 1906, IV, S. 287.

²⁾ F. L. Usher u. J. H. Priestley, A study of the mechanism of carbon assimilation in green plants, *Proc. roy. Soc.*, 1906, LXXVII, S. 369.

³⁾ R. Chodat und Bach, *Ber. chem. Ges.*, 1902, XXXV, S. 2487.

Gewebe beschäftigte, war Clermont¹⁾. Seine positiv ausgefallenen Versuche wurden jedoch von Bellucci²⁾ nicht bestätigt und auch die in den folgenden Jahren von Loew³⁾, Bokorny und Pfeffer angestellten Untersuchungen konnten den Beweis für die Gegenwart von Wasserstoffsuperoxyd in den lebenden Zellen nicht erbringen.

Bokorny⁴⁾ benutzte zum Nachweis lebende Spirogyren. Stärkehaltige Spirogyren wurden in eine sehr verdünnte Lösung von Eisenvitriol und Jodkalium gebracht. Bei Anwesenheit von Wasserstoffsuperoxyd hätten die Zellen Blaufärbung zeigen müssen, da Wasserstoffsuperoxyd bei Gegenwart von Eisenchlorid aus Jodkalium Jod freimacht und letzteres die Stärke bläut. Zellfäden, die mit Wasserstoffsuperoxyd getränkt waren, zeigten die Färbung, die lebenden Spirogyren aber nicht. Ein negatives Resultat lieferte auch ein Verfahren, welches den eisenbläuenden Gerbstoff der Spirogyren zur Reaktion heranzog, der bei Gegenwart von Wasserstoffsuperoxyd durch Eisenvitriol sofort blau gefärbt wird. Wasserstoffsuperoxyd fehlte, die Blaufärbung trat erst ganz allmählich ein und war eine Folge der langsamen Oxydation des Eisenvitriols durch die Luft. — Bokorny lieferte auch experimentell den Nachweis, daß die benutzten, stark verdünnten Reagentien von den lebenden Zellen aufgenommen werden. Pfeffer⁵⁾, der anfangs gegen vorstehende Befunde Einwände erhob, kam bei erneuerten Versuchen zu gleichen Resultaten und konnte insbesondere bestätigen, daß lebende Zellen sehr gut ohne Störung stark verdünnte Reagenzlösungen (Eisenvitriol, Cyanin) aufzunehmen vermögen. Er zeigte, daß künstlich in den Zellsaft eingeführte Wasserstoffsuperoxydlösungen (0,01—0,1 %; die in der käuflichen Lösung enthaltenen Spuren freier Salzsäure werden zuvor mit Natriumbikarbonat neutralisiert) abnorme Oxydationsprozesse hervorrufen. Beispielsweise wird der farblose Zellsaft in den Epidermiszellen der Keimpflanzen von *Vicia faba* (Stengel, Wurzel) oder der in den Wurzelhaaren von *Trianea bogotensis* braungefärbt, nach längerer Einwirkung erfolgt Ausscheidung braunschwarzer, körniger Massen.

Außerdem zeigte sich, daß blauer Zellsaft durch Wasserstoffsuper-

¹⁾ Clermont, Compt. rend., 1875, LXXX, S. 1591.

²⁾ Bellucci, Ber. chem. Ges., 1876, IX, S. 83.

³⁾ O. Loew, Ber. chem. Ges., 1889, XXII, S. 146.

⁴⁾ Th. Bokorny, Das Wasserstoffsuperoxyd und die Silberabscheidung durch aktives Albumin, Jahrb. f. wiss. Bot., 1886, XVII, S. 347. Über d. Nachweis von Wasserstoffsuperoxyd in lebenden Pflanzenzellen, Ber. d. botan. Ges., 1889, VIII, S. 275.

⁵⁾ W. Pfeffer, Beiträge zur Kenntnis der Oxydationsvorgänge in lebenden Zellen, Abh. Sächs. Ges. d. Wissensch., math. natur. Kl. 1889, XV, S. 375.

oxyd entfernt wird oder gelbe bis braune Farbe annimmt. Hierauf fußend, wurde nun eine durch Erwärmen bereitete wässrige Cyaninlösung in Wurzelhaare (*Trianea bogotensis*) eingeführt, die Zellen nehmen lebend den Farbstoff auf. Nachfolgender Zusatz von Wasserstoffsperoxyd bewirkte wiederum innerhalb einer Minute Entfärbung des künstlich gefärbten Zellinhalts.

Auch naphthansaures Kobalt wäre zu probieren. Charitschkoff¹⁾ benutzt makrochemisch ein mit naphthansaurem Kobalt getränktes Papier, das Wasserstoffsperoxyd noch in einer Verdünnung von 1:1000000 durch Farbenumschlag von rosa nach olivgrün anzeigen soll. Sehr empfindlich ist ferner die Reaktion mit essigsäurem Benzidin. Wenn man 5 ccm einer Wasserstoffperoxydlösung, die 0,0001 g Wasserstoffperoxyd im Liter enthält, mit $\frac{1}{2}$ ccm einer 5%igen Lösung von Gummi arabicum mischt und einige Tropfen Benzidinazetat zufügt, dann tritt deutliche Blaufärbung auf²⁾.

Schwefel.

Schwefel findet sich in den Pflanzen vorzugsweise in organischer und anorganischer Bildung, tritt aber auch in elementarer Form auf.

In **elementarer Form** kommt Schwefel mit Sicherheit nur in niederen Pflanzen vor. Studienobjekte sind Schwefelbakterien und -algen. Cramer³⁾ hatte Schwefelkörnchen in Beggiatoaarten entdeckt, später berichtete Cohn⁴⁾ über schwefelhaltige Organismen. Unser heutiges Wissen verdanken wir im wesentlichen Winogradsky⁵⁾. Eine umfassende Darstellung gab in neuerer Zeit Omelianski⁶⁾. In Oscillarien fand Hinze⁷⁾ schwefelhaltige Gasvakuolen und Lauterborn⁸⁾ im Bodensee mit Gallertscheiden versehene Bakterien mit Schwefelkörnchen erfüllt, die er *Thioploca* nennt. Jönsson⁹⁾ gibt für das Mycel von *Penicillium*, das auf verdünnter Schwefelsäure gezogen war, Schwefelkörper an, die denen der Beggiatoa nahestehen und aus Schwefel und einer ölartigen Substanz bestehen sollen. Schwefelbakterien sind stets in schwefelhaltigen Gewässern anzutreffen, oxydieren Schwefelwasserstoff zu Schwefel, verbrennen letzteren interzellulär weiter zu

¹⁾ K. W. Charitschkoff, Chem. Ztg., 1910, XXXIV, Rep. S. 529.

²⁾ Journ. de Pharm. d'Anvers, 1907, S. 377.

³⁾ C. Cramer, Chem. phys. Beschr. d. Thermen von Baden in d. Schweiz, 1870.

⁴⁾ Ferd. Cohn, Beitr. z. Biologie d. Pfl., 1875, I, S. 141.

⁵⁾ S. Winogradsky, Beitr. z. Morph. u. Physiologie d. Bakterien, 1888, Heft 1, Schwefelbakterien.

⁶⁾ Omelianski, Der Kreislauf d. Schwefels in Lafars Handbuch d. techn. Mykologie, 1904, III.

⁷⁾ G. Hinze, Schwefeltropfen in Oscillarien u. Gallen von Beggiatoa m., Ber. d. bot. Ges., 1900, XVIII, S. 394 u. 1901, XIX, S. 369.

⁸⁾ Lauterborn, Ber. d. bot. Ges., 1907, XXV, S. 238.

⁹⁾ Jönsson, Entstehung schwefelhaltiger Ölkörper in den Mycelfäden von *Penicillium glaucum*, Bot. Centralbl., 1889, XXXVII, S. 201.

Schwefelsäure und erreichen dadurch den gleichen Nutzeffekt, den andere Organismen mit der Atmung erzielen. Miyoshi¹⁾ berichtet über die Schwefelbakterien japanischer Thermen. Zu den farblosen Bakterien zählen dort: Thiotrix und Beggiatoa, von roten Schwefelbakterien kamen Chromatium-Arten und Thioderma roseum vor. Bütschli²⁾ fixierte Schwefelbakterien mit Jodalkohol und färbte mit Delafields Hämatoxylin. Aspergillus niger bildet bei Kultur auf Lösungen von thioschwefelsaurem Natrium Schwefeltröpfchen in den Hyphen, in abgestorbenen Zellen kristallisiert der Schwefel in Form von Doppelpyramiden aus³⁾.

Die wasserbewohnenden Schwefelbakterien sind leicht zu züchten. Man zerschneidet ein frisch aus dem Sumpfe ausgehobenes Rhizom einer Butomusart sofort, ohne es abzuwaschen, und übergießt es in einem geeigneten Gefäße mit 3—5 Liter Wasser, dem einige Gramm Gips zugesetzt sind. Nach einigen Tagen tritt Schwefelwasserstoffgeruch auf, der Bodensatz färbt sich schwarz, die Flüssigkeit wird opaleszent und in einigen Wochen sind Schwefelbakterien auffindbar, vorzugsweise farblose, bewegliche, relativ starke (bis 35 μ) Beggiatoafäden, dann farblose festsitzende Thiotrixfäden; daneben treten auch rote Formen auf. Das Gefäß muß im Dunkeln gehalten werden, im Lichte entwickeln sich grüne Oscillarien und grüne Zoogloen, der Schwefelwasserstoffgeruch hört allmählich auf. Man kann ferner Schwefelbakterien durch Mazeration von Heu in gipshaltigem Wasser gewinnen. Zerkleinertes Heu wird 10 Tage in Wasser mazeriert und dann wiederholt in reinem Wasser gekocht. Eine Handvoll von diesem Heu wird in ein tiefes Gefäß mit gipshaltigem Wasser gebracht und eine Messerspitze Sumpfschlamm zugesetzt. Bereits nach wenigen Tagen beginnt die Entwicklung von Schwefelwasserstoffgeruch. Die Beggiatoafäden, die zunächst ungegliedert erscheinen, sind mehr oder weniger angefüllt mit verschieden großen, stark lichtbrechenden, zähflüssigen oder öltartigen Schwefelkugeln. Die Querwände der einzelnen Zellen treten erst nach längerem Verweilen der Fäden in Brunnenwasser deutlich hervor, wobei allerdings die Schwefelkugeln rasch abnehmen (die Querwände sind übrigens an entschweiften Fäden gut zu sehen, besonders nach Zusatz von Jodreagentien).

Die Schwefelkugeln lösen sich unter Deckglas nicht in Wasser und Salzsäure, hingegen ziemlich schnell in heißer Kalilauge, in Sal-

¹⁾ M. Miyoshi, Studien über die Schwefelrasenbildung und die Schwefelbakterien der Thermen von Yumoto bei Nikko, Journ. of the Coll. of Sc. Univ. Tokyo 1897, X.

²⁾ O. Bütschli, Bemerkungen über Cyanophyceen und Bacteriaceen, Arch. f. Protistenk., 1902, I, S. 41, Ref. Ztschr. f. wiss. Mikr., 1902, XIX. S. 119.

³⁾ M. Raciborski, Einige Chemomorphosen des Aspergillus glaucus, Bull. de l'Ac. de Cracovie, 1906, S. 764.

petersäure + chlorsaurem Kali, in einer wässrigen Lösung von schwefligsaurem Natron und beim Durchsaugen von absolutem Alkohol. In Schwefelkohlenstoff sind sie ebenfalls bis auf Spuren löslich, doch durchdringt derselbe die lebende Zellmembran schlecht. Man tötet die Fäden, indem man sie auf dem Objektträger eintrocknen läßt und fügt dann erst Schwefelkohlenstoff zu. Bütschli¹⁾ fand ferner die Kugeln in 10% wässriger Sodalösung und innerhalb eines Tages in künstlichem Magensaft löslich.

Da der Schwefel in den lebenden Zellen in seiner amorphen oder plastischen Modifikation auftritt, so benutzt man seine Überführung in die kristallinische Modifikation zur Diagnose. Winogradsky brachte die Fäden auf eine Minute in eine konzentrierte wässrige Pikrinsäurelösung, wusch mit viel Wasser aus, worauf sich der Schwefel innerhalb eines Tages sowohl in seiner rhombischen als in seiner monoklinen Modi-

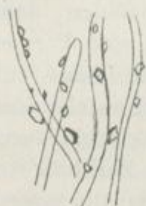


Fig. 19. Kristallinischer Schwefel auf *Beggiatoa spec.* (Pikrinsäure).

fikation ausschied (Fig. 19). Hinze, der die Körnchen in den Zellen von *Thiophysa volutans* als Schwefel identifizierte (l. c.) und überdies in den entschwefelten Thiophysen Schwefelbildner auffand, bringt die Schwefelkugeln dadurch zur Kristallisation, daß er die Präparate in reines Glyzerin einträgt; der Schwefel kristallisiert langsam in monoklinen Kristallen aus. In konzentrierter Salpetersäure erfolgt Kristallbildung schon nach einigen Stunden. Auf gleiche Weise gelang es ihm, den Nachweis zu führen, daß die „Gasvakuolen“ der Oscillarien Schwefel enthalten. Diese lösen sich in absolutem Alkohol, Chloroform, Schwefelkohlenstoff, wobei ein Rest ungelöst bleibt. Sie sind unlöslich in konzentrierter Pikrinsäure, verdünnter Essigsäure, verdünnter Salzsäure, 1% Chromsäure, Glyzerin, Salpetersäure, verdünnter und konzentrierter Kalilauge und in konzentrierter Schwefelsäure. Sie verhalten sich demnach ebenso wie die Schwefeltropfen der *Beggiatoen*. Die sogenannten Gasvakuolen wurden bereits von P. Richter²⁾ für schwefelhaltig angesprochen. Später hielt sie Klebahn³⁾ für Gasbläschen (Luft oder Stickstoff führend), eine Ansicht, die von Molisch durch Isolierung der Bläschen widerlegt wurde, welcher sehr kleine Körnchen in ihnen

¹⁾ O. Bütschli, Über den Bau der Bakterien und verwandter Organismen, Leipzig 1890.

²⁾ P. Richter, *Gloietrichia echinulata*, eine Wasserblüte des großen und kleinen Plöner Sees, Forschungsber. Plöner Station, 1894, II, S. 42.

³⁾ H. Klebahn, Gasvakuolen, ein Bestandteil der Zellen der wasserblütbildenden *Phycochromaceen*, Flora, 1895, LXXX, S. 241 und Forschungsber. Station Plön, 1896, IV und 1897, V.

vorhand. Die Isolierung gelingt leicht, wenn man frisches Material (*Aphanizomenon flos aquae*) auf dem Objektträger in 10% Kalisalpetrolösung bringt. Die Fäden zerfallen bereits nach 24 Stunden, es resultiert eine blaue Lösung (von Phycocyan), in der viele Gasvakuolen isoliert sind, besonders wenn man durch Druck (mit einem Kork) auf das Deckglas die Zellen zum Platzen bringt. Es sind demnach zähflüssige, fast weiche Körper. Molisch¹⁾ dachte daran, daß die „Gasvakuolen“ aus einer Grundsubstanz und einem Imprägnierungskörper beständen. Läßt man nämlich auf *Gloietrichia* unter Deckglas 20% Kalilauge einwirken, dann verschwinden die „Vakuolen“, bei nachfolgendem Zusatz von Methylenblau in 1% wässrigem Ammoniak treten aber die von ihnen vordem eingenommenen Stellen blau gefärbt hervor, so daß es den Eindruck macht, „als ob die Kalilauge eine Gerüstsubstanz der „Gasvakuole“ zurückgelassen hätte, die sich mit Methylenblau färbt und erst hierdurch in Erscheinung tritt.“ — Auf ganz andere Weise werden die Gebilde von A. Fischer gedeutet. Sie sollen das erste sichtbare Assimilationsprodukt der Oscillarien sein, Kohlehydratnatur besitzen und wurden von ihm Anabaenin (s. d.) genannt. Anabaenin ist ein Kondensationsprodukt des Glykogens.

A. Fischer weist den Schwefel in Präparaten von Chromatium, die bei Betrachtung in Luft Schwefel und Farbstoff getrennt enthalten, dadurch nach, daß er die Chromatien direkt in Kanadabalsam oder in Dammarlack legt. Schon nach 10 Minuten entfärben sich die Chromatien, und es bilden sich „rot gefärbte Schwefelkörnchen“.

Der zu den unentbehrlichen Elementen zählende Schwefel steht den Pflanzen überall im Boden in Form von Salzen zur Verfügung. In den Zellen tritt er in **anorganischer** und **organischer Bindung** auf. Sind doch, wie schon Scheele wußte, die Eiweißstoffe schwefelhaltig. Die Proteine der Pflanzen haben meist 2% Schwefel, die tierischen Keratine sind schwefelreicher (4–5%). Tammann²⁾ verfolgte den Schwefelgehalt bei der Keimung der Erbse. Nach Schulze³⁾ entstehen in Keimpflanzen bei der Oxydation der primären Zersetzungsprodukte der Eiweiße Sulfate, die dann proteiden Ursprungs sind. Eiweißschwefel ist nicht nur im Samen, sondern auch im Blatte vorhanden. In einigen Fällen ist in den Blättern während der Vegetationsperiode eine Abnahme an Schwefel festgestellt worden, in anderen nicht; ob diese Abnahme eine absolute ist und in Beziehung zu den Eiweißstoffen steht, bleibt noch zu ermitteln. Durch hohen Schwefelgehalt zeichnet sich die Asche der Cruciferen aus, die (schwefelhaltige)

¹⁾ H. Molisch, Die sogenannten Gasvakuolen und das Schweben gewisser Phycobacterien, Bot. Ztg., 1903, LXI, S. 47, und: Zwei neue Purpurbakterien mit Schwebekörperchen, Bot. Ztg., 1906, LXIV, S. 223.

²⁾ Tammann, Ztschr. f. phys. Chem., 1885, IX, S. 416.

³⁾ E. Schulze, Ber. deutsch. bot. Ges., 1903, XXI, S. 67.

Senföle führen (*Cochlearia armoracia* 17,12%, *Brassica oleracea* 20% SO_3 in der Asche). In Holz und Rinde liegen wohl überwiegend Sulfate vor. Reich an Schwefel ist der Splint (im Mittel 2–4%, bei *Morus alba* 9,82%, *Pinus strobus* 10,29%). Die Rinden führen meist weniger als 1%, doch werden für Chinarinden 4–6%, für die Borke der Fichte 6% angegeben. Im Sekretwasser der Drüsen der Halophyten finden sich Sulfate von Kalium, Natrium und Magnesium (Schtscherback)¹⁾. Da die Bestimmung des Schwefels in der Asche ausgeführt wird, so wissen wir in den meisten Fällen nichts Bestimmtes über die Art der Bindung. Auch die Asche der Meeresalgen ist reich an Schwefel.

In der Nähe der Röstöfen (für Spateisenstein), die die Luft mit Schwefligsäureanhydrid erfüllen, erkranken zuweilen Pflanzen (Fichten). In der Pflanze wird die schweflige Säure zu Schwefelsäure oxydiert. In solchen Fällen kann abnorm hoher Gehalt an Schwefelsäure in den Pflanzen bei Berücksichtigung der Sulfate des Bodens als Beweis für die schädigende Wirkung der Gase dienen²⁾.

Der Schwefelgehalt ist überwiegend in der Asche ermittelt worden. Die mikrochemischen Methoden stützen sich im wesentlichen auf die Angaben Schimpers³⁾. Viele Verbindungen der Schwefelsäure sind wasserlöslich, die zu prüfenden Schnitte dürfen somit vorher nicht gewässert haben. Hingegen kommt es in Alkohol- und Glycerin-Präparaten und -Material bisweilen zur Ausscheidung von Sulfaten. Dabei ist zu beachten, daß Sulfate (allerdings auch Nitrate) meist schwer- oder unlöslich in 70–80% wässriger Chlorhydratlösung sind (Schaer)⁴⁾. Trägt man Schnitte direkt in Baryumchlorid (1:10) ein, dann zeigt Bildung von rhombischen Täfelchen Baryumsulfat an. Doch fällt der Niederschlag oft nur amorph aus. Strontiumnitrat (1:10) bedingt die Bildung kleiner rundlich rhombischer Kriställchen von Strontiumsulfat, die in Wasser natürlich unlöslich sind.

Kalziumazetat, welches in der Chemie als Fällungsmittel benutzt wird, versagt beim Nachweis im Gewebe oft, wahrscheinlich, weil Pflanzensäuren zugegen sind.

Gola⁵⁾ deutet die mit alkalischer Nitroprussidnatriumlösung in meristematischen Geweben (Sproß- und Wurzelspitzen,

¹⁾ J. Schtscherback, Ber. deutsch. bot. Ges., 1910, XXVIII, S. 30.

²⁾ R. Hartig, Über die Einwirkung des Hütten- und Steinkohlenrauches auf die Gesundheit der Nadelhölzer, Forstl.-naturw. Ztschr., 1896; A. Wieler, Untersuchungen über die Einwirkung von schwefliger Säure, Berlin 1907; K. Feist, Nachweis einer Schädigung von Fichten durch Röstgase, Arch. d. Pharm., 1911, CCXLIX, S. 7.

³⁾ A. F. W. Schimper, Zur Frage d. Assimil. d. Mineralsalze d. d. grüne Pflanze, Flora, 1890, LXXIII, S. 219.

⁴⁾ E. Schaer, Neuere Beobacht. üb. Verwend. d. konz. Chlorhydratlös., Schw. Wochenschr. f. Chem. u. Pharm., 1910, XLVIII, S. 618.

⁵⁾ G. Gola, Lo zolfo e i suoi composti nell' economia delle piante, Malpighia, 1902, XVI, S. 368.

Asparagus) eintretende Rotfärbung auf Schwefel; Moerner¹⁾ hatte diese Reaktion, die übrigens Haushofer²⁾ ebenfalls als Schwefelreaktion empfiehlt, vorher für Cystein angegeben. Bei der Nachprüfung erwies sie sich bei Asparagus umständlich und launisch. Gleichfalls eine rote Farbenreaktion gibt die Methode von Brunner³⁾, die noch zu überprüfen wäre. Die Präparate werden im Reagenzglas längere Zeit mit konzentrierter Kalilauge behandelt und geben nach Zusatz von Nitrobenzol und etwas Alkohol eine rötliche Färbung.

Der mikrochemische Nachweis nach Behrens⁴⁾ als Kalziumsulfat, Bleisulfat und Caesiumalaun ist mit Geweben noch nicht genügend erprobt worden. Emich⁵⁾ empfiehlt sulfidhaltige Objekte nach dem Benetzen mit Kalziumchlorid Bromdämpfen auszusetzen. Die gefällten

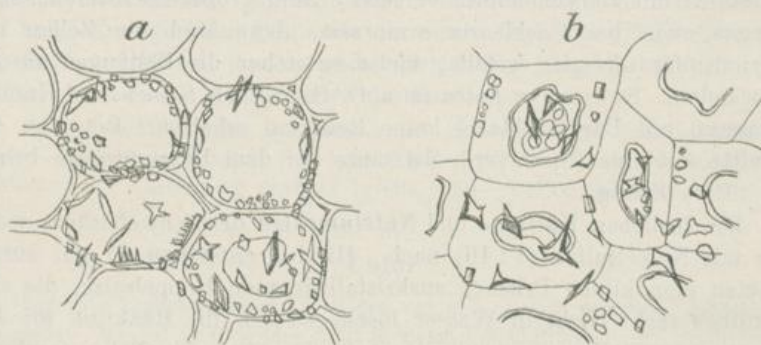


Fig. 20. Schwefelnachweis mit Baryumchlorid; a) *Cochlearia armoracia* (Wurzel); b) *Strychnos nux vomica* (Endosperm, Schnitt mit Äther entfettet, dann verd. Salzsäure, Baryumchlorid, Wasser, Chloralhydrat) (Tunmann).

Sulfide und auch freier Schwefel werden schnell oxydiert und es bilden sich Gipsnadeln. Bei der Meerrettigwurzel und bei einigen Rinden erhielt ich keine Erfolge. Durch die Bromdämpfe treten gleichzeitig die Alkaloide in Reaktion, Stärke wird gefärbt u. a.

Bei der Nachprüfung hat sich zum Nachweis im Gewebe Baryumchlorid in jeder Hinsicht als das beste Reagens bewährt (Fig. 20). Nur erhält man den Niederschlag nicht, wie Schimper angibt, in Täfelchen, sondern teils körnig, teils in langgestreckten x-förmigen Skeletten, die bei gewöhnlicher Beleuchtung wie lang ausgezogene Oktaeder aussehen.

¹⁾ Moerner, Ztschr. f. phys. Chem., 1900, XXVIII, S. 594.

²⁾ K. Haushofer, Mikr. Reakt., S. 116.

³⁾ Th. Brunner, Ztschr. f. analyt. Chemie, 1881, XX, S. 390.

⁴⁾ H. Behrens, Anleit. z. mikrochem. Analyse, S. 121.

⁵⁾ Fr. Emich, Ztschr. f. anal. Chemie, 1893, XXXII, S. 163.

Zuweilen finden sich dreieckige Täfelchen, zierliche Sternchen und isoliert liegende federartige Formen. Die Kristalle zeigen bei auffallendem Lichte hellen Fettglanz. Die gleichen Fällungen erhält man mit reinen Substanzen. Des weiteren ist zu beachten, daß Nitrate gleichzeitig gefällt werden. Die Schnitte müssen nach der Behandlung mit Baryumchlorid gut ausgewaschen werden (zur Entfernung von Baryumnitrat); sie können dann in Chloralhydrat aufgehellt werden. Nicht nur anorg. Schwefel wird auf diese Weise angezeigt, sondern auch der Schwefel der Senfoele und zuweilen (nicht immer) selbst Eiweißschwefel der Samen (Strychnos). Die aleuronhaltigen Schnitte werden mit Äther vom Fett befreit, nach dem Austrocknen auf dem Objektträger einige Zeit in wenig verd. Salzsäure (1 : 10) liegen gelassen und schließlich mit Baryumchlorid versetzt. Sind größere Schwefelmengen zugegen, wie bei *Cochlearia armoracia*, dann sind die Zellen mit Baryumsulfat oft ganz erfüllt; meist entstehen die Fällungen an den Zellwänden. Schimper hatte (a. a. O. S. 222) bei Samen und Knollen (*Solanum*) mit Baryumchlorid keine Reaktion erhalten. Betupfen der Schnitte mit einer Spur verd. Salzsäure vor dem Baryumzusatz bringt hier öfters Erfolg.

Die löslichen **Kalium-** und **Natriumsalze** der Schwefelsäure weist man mit Nickelsulfat (1 : 10) nach. Hierbei entstehen in gut ausgebildeten monoklinen Prismen auskristallisierende Doppelsalze, die sich allerdings recht leicht in Wasser lösen, so daß die Reaktion für Lokalisationsermittlungen wenig geeignet ist. Auf alle Fälle empfiehlt sich mehrtägiges Austrocknen der Objekte im Exsikkator. Verdunstet man den wässerigen Auszug der Asche, dann scheidet sich zuerst das schwerlösliche Kaliumsulfat in hexagonalen Täfelchen aus. Diese Täfelchen werden durch Baryumchlorid in farblose, durch Platinchlorid in rötliche Körnchen übergeführt. Kaliumsulfat könnte auch mit einer wässerigen Lösung von Bismarckbraun identifiziert werden; es müßten sich alsdann nach Retgers¹⁾ faserige, stark dichroitische Kristalle abscheiden.

Interessant ist das Vorkommen von äußerst kleinen Prismen und Täfelchen in Desmidiaceen, die nach A. Fischer aus **Kalziumsulfat** bestehen und teils in scharf begrenzten Vakuolen auftreten (in den Zellenden von *Closterium*), teils im Zellsaft zerstreut sind. Diese Gipskristalle lösen sich langsam in kalter Kalilauge, Salz- und Salpetersäure, sofort beim Erhitzen in diesen Reagentien. Sie sind unlöslich in Essigsäure und in kalter konzentrierter Schwefelsäure, bleiben auch

¹⁾ J. W. Retgers, Künstl. Färbung von Kristallen mittels organisch. Farbst., Ztschr. f. phys. Chem., 1893, XII, S. 600.

beim Glühen unverändert zurück. Baryumchlorid führt sie in Baryumsulfat über, das in Salpetersäure und in Salzsäure unlöslich ist¹⁾. — Die von Hansen für die großen monoklinen Kristalle in *Angiopteris* angegebene Gipsnatur wird von Monteverde, Belzung u. a. bestritten; es soll sich um Oxalat handeln.

Das als schwer löslich bekannte Kalziumsulfat scheint bisweilen in den Zellen in Lösung gehalten zu werden. Wenigstens sind die Sphärokristalle, die sich in Marattiaceenblättern, welche monatelang in Alkohol gelegen haben, ausscheiden, nach Monteverde²⁾ Gips. Hansen findet jedoch, daß diese Ausscheidungen, die auch sechseckige Täfelchen bilden, aus Gips und aus Magnesiumsulfat bestehen. Sphärokristalle von Gips scheiden sich ferner bei Alkoholmaterial von *Hebeclinium macrophyllum* in den jugendlichen Holzzellen aus³⁾ und Belzung⁴⁾ traf beim Einlegen der Präparate in reines Glyzerin gelegentlich des Asparaginnachweises pinsel- und büschelartige Gipskristalle (*Lupinus albus*), und zwar in den Interzellularräumen an.

Zur quantitativen Bestimmung des Schwefels (und der Halogene) in kleinen Mengen organischer Substanzen hat J. Donau⁵⁾ ein Verfahren ausgearbeitet; zur Ausführung genügen bereits 0,001–0,003 g Substanz.

Chlor.

Chloride kommen überall im Boden vor und werden von den Pflanzen aufgenommen. Mangel an Chloriden führt in vielen Fällen Störungen im Stoffwechselprozeß herbei. Für Buchweizen und einige andere Pflanzen ist Chlor völlig entbehrlich. Diese Pflanzen schreiten auch in chlorfreien Lösungen zur Samenbildung. Die Chloride wirken in bestimmten Konzentrationen als Reizmittel; werden diese überschritten, dann treten Giftwirkungen auf (P. Koenig). Meist bestimmt man den Gehalt an Chlor in der Asche. Dieser beträgt im Samen gewöhnlich 0,5–1,5 %, im Samen der Kokosnuß aber 13,42 %, der Roßkastanie 6,30 %, des Mohnes 4,58 % der Gesamtasche. Geringere Mengen Chloride kommen im Holze vor. Auch hier gibt es, abgesehen von den auf stark chloridhaltigem Boden wachsenden Pflanzen, Ausnahmen, so hat das Holz von *Aesculus hippocastanum* bis 6 %, das von *Prunus mahaleb* bis über 11 % Chlor in der Asche. Ebenso verhält es

¹⁾ Alfr. Fischer, Über d. Vorkommen von Gipskristallen bei den Desmidiaceen, Jahrb. f. wiss. Botanik, 1884, XIV, S. 133.

²⁾ N. A. Monteverde, Über Kristallablagerungen bei den Marattiaceen, Bot. Zentralbl., 1886, XXXIX, S. 358.

³⁾ A. Hansen, Über Sphärokristalle, Arb. d. bot. Inst. Würzburg, 1885, III, S. 92.

⁴⁾ E. Belzung, Exist. de l'oxal. de calc. à l'état diss., Journ. d. Botan., 1894, VIII, S. 213.

⁵⁾ J. Donau, Sitzber. Wien. Akad., 1912, CXXI, Abt. 2b, Sep.

sich mit der Rinde. Durch hohen Chlorgehalt zeichnet sich u. a. die Chinarinde und die Roßkastanie aus, in welchen er 3–5 % der Gesamtasche betragen kann. Am meisten schwankt der Gehalt an Chloriden in den Blättern; man hat in der Asche mancher Blätter nur Spuren gefunden, in der anderer Blätter bis zu 25 %; selbst der Chlorgehalt verschiedener Blätter der gleichen Pflanze schwankt. Der Chlorgehalt der Blätter, zu verschiedenen Zeiten bestimmt, zeigt keine Gesetzmäßigkeiten¹⁾. Größere Mengen finden sich in der Blüte, besonders in der Korolle. Im allgemeinen bevorzugen die Chloride nach Schimper in den Organen die grünen Gewebe. Die Blätter verschiedener Halophyten scheiden mit ihren Drüsen Chloride von Kalium, Natrium und Magnesium aus (*Statice*, *Tamarix*, *Frankenia*), wie in letzter Zeit von Sechtscherback²⁾ von neuem auf mikrochemischem Wege gezeigt wurde.

Der mikrochemische Chlornachweis im Gewebe wurde von Schimper³⁾ studiert, der Silbernitrat und Thalliumsulfat erprobte. Die Objekte dürfen zuvor nicht gewässert haben. Beim Nachweis mit Silbernitrat (1:20) schreibt Schimper vor, die Schnitte unter Deckglas mit dem Reagens zu versetzen, eintrocknen zu lassen und den entstandenen amorphen Niederschlag von Chlorsilber in einer Spur Ammoniak zu lösen. Man läßt wiederum eintrocknen und erhält nun Kristalle. Dieses zweimalige Eintrocknenlassen der Schnitte ist aber nicht nötig. Es empfiehlt sich folgender Gang: Die Schnitte, die mit einem reinen Messer angefertigt sind, werden auf $\frac{1}{4}$ –1 Stunde in einen Tropfen Silbernitrat gelegt, ohne mit dem Deckglase bedeckt zu werden. Bei Gegenwart größerer Mengen Chlor sind die Fällungen makroskopisch sichtbar. Sie erscheinen käsigweiß, wenn man den Objektträger über eine weiße Unterlage hält, bei mikroskopischer Betrachtung fast schwarz und flockig bis körnig, doch auch bräunlich und gallertförmig, hautartig (*Laminaria*). Nach Bildung des Niederschlages wird ein Schnitt mit einem fein ausgezogenen Glasstäbchen aus der Silberlösung herausgenommen, auf einem zweiten Objektträger direkt in verdünnte Salpetersäure eingelegt und das Deckglas aufgelegt. Das Chlorsilber bleibt ungelöst, doch werden stärkehaltige Präparate weitgehend aufgehellt. Auf die anderen noch in der Silberlösung liegenden Schnitte wird Ammoniak bis zur Lösung des Niederschlages zugesetzt und das Deckglas aufgelegt. Innerhalb einiger Stunden hat sich das Chlorsilber nun in kristallinischer Form ausgeschieden. Man wird finden, daß die Ausscheidung bereits vollendet ist, wenn noch der halbe Raum unter dem Deckglas mit Flüssigkeit erfüllt ist. Die Ammoniakgase sind

¹⁾ J. Vandevelde, Bull. Soc. Chim. Belg., 1909, XXIII, S. 84.

²⁾ J. Sechtscherback, Ber. d. bot. Ges., 1910, XXVIII, S. 30.

³⁾ A. F. W. Schimper, Zur Frage d. Assimilation d. Mineralsalze d. die grüne Pflanze, Flora, 1890, LXXIII, S. 217.

nämlich verdunstet, und Chlorsilber ist in der restierenden wässrigen Flüssigkeit unlöslich. Ein vollständiges Eindunsten der Lösung ist daher nicht erforderlich. Nur ein Teil der Kristalle entsteht in den Zellen. Ganz überwiegend sind es Kristalle von 10–25 μ Größe, reguläre Würfel, Oktaeder, Rhombendodekaeder und Kombinationen. Sie liegen einzeln oder zu Gruppen vereint. Besonders häufig sind Gruppen von 4 Kristallen (Würfel und Oktaeder). Nach längerer Zeit entstehen außerdem bis 70 μ große Kristalle von flacher tafelförmiger Gestalt (Fig. 21). Die Kristalle werden nach einigen Stunden tiefviolett bis schwarz, die großen Kristalle veilchenblau. Die Reduktion erfolgt bei den verschiedenen Objekten in verschieden langer Zeit (auch beim Liegen der Schnitte im Dunkeln), bei *Laminaria* in 10 Minuten, bei *Daucus carota* nach mehreren Stunden. Das Silberchlorid, sei es amorph oder kristallinisch, löst sich leicht in konzentrierter Quecksilbernitratlösung, Natriumhyposulfit, Ammoniak, Cyankalium, ist aber in verdünnten Säuren unlöslich. Die Kristalle leuchten im polarisierten Lichte nicht auf. Dem Chlorsilber in der Kristallform ähnlich sind die durch Silbernitrat entstehenden Fällungen der Arsenite und Arsenate. Gerade die aus 4 Kristallen bestehenden Gruppen sind für arsenigsaures Silber ebenfalls typisch. Bei Wasserpflanzen (Meeresalgen) ist die Gegenwart größerer Mengen von Arsenverbindungen nicht völlig ausgeschlossen. In zweifelhaften Fällen werden die Chlorsilberkristalle noch nach Borodin identifiziert. Chlorsilberkristalle müssen in einer konzentrierten Lösung von Chlorsilber in konzentrierter Salzsäure oder in Kochsalzlösung an Größe zunehmen. — Jederzeit zur Verfügung stehende Versuchsobjekte sind: *Laminaria Cloustoni* (Droge), *Daucus carota* (Wurzel), *Beta*, *Solanum* u. a.



Fig. 21. *Laminaria Cloustoni* (Längsschnitt), Chlornachweis mit Silbernitrat und Ammoniak (Tunmann).

Außerdem läßt sich eine Lösung von Thalliumsulfat¹⁾ benutzen. Die Präparate werden direkt in das Reagens eingetragen. Nach

¹⁾ K. Haushofer, Mikr. Reaktionen, 1885, S. 125.

einiger Zeit, zuweilen erst beim Eintrocknen, scheidet sich Thalliumchlorür in den Zellen in Oktaedern und in undeutlich ausgebildeten Kristallen des regulären Systems mit unebener, grubig punktierter Oberfläche aus, die in auffallendem Lichte grauweiß, in durchfallendem Lichte schwarz erscheinen. Diese Eigenschaft läßt sich zum Auffinden der Fällungen in Geweben verwerten, indem man den Spiegel ab- oder horizontal stellt. Öfters entstehen körnige Gebilde, die nur wenige μ groß werden. Schöne Kristallformen erhält man bei Meeresalgen, bei *Chondrus crispus* bis 25 μ große Würfel (Fig. 22). Die Kristalle lösen sich in Wasser und nehmen bei der Prüfung nach Borodin auf Zusatz einer konzentrierten wässrigen Lösung von Thalliumchlorür an Größe zu.

Zum mikrochemischen Nachweis der Chloride in der Asche zieht man die Asche mit etwas warmem Wasser aus und bringt an



Fig. 22. *Chondrus crispus*, Chlornachweis mit Thalliumsulfat (Tunmann).

verschiedenen Stellen des Objektträgers, am besten in der Nähe der Ecken, einige Tropfen des Auszuges zur Verdunstung. Entstehung regulärer Würfel im Rückstand deutet auf Chlorkalium oder Chlornatrium hin. Auch in Milchsäften oder in dem ausgepressten Saft frischer Pflanzen kann man durch Eintrocknenlassen die Chloride zur Kristallisation bringen.

Als Vorprobe auf wasserlösliche Kristalle benutzt man eine 70–80% wässrige Chloralhydratlösung. Im allgemeinen sind die Chloride (auch Bromide und Jodide), die Phosphate und die Salze organischer Salze leicht in der hochprozentigen Chloralhydratlösung löslich, die Nitrate und Sulfate aber fast unlöslich. Auch wenn es sich um kristallinische Ausscheidungen in Alkoholmaterial handelt, gibt die Chloralhydratlösung Anhaltspunkte. — Über den Nachweis der Alkalimetalle in diesen Kristallen siehe unter Natrium, Kalium u. f.

Jod.

Jod ist, wenn auch nur in Spuren, weit verbreitet; es findet sich im Meerwasser (1:300000), in Mineralquellen (Vauquelin, Liebig), in der Ackererde und im Regenwasser (Bourcet), sowie in den in der Luft schwebenden Staubteilchen (Gautier). So ist es erklärlich, daß Jod in neuerer Zeit makrochemisch in vielen Pflanzen aufgefunden wurde (in Süßwasseralgen, Flechten, in Land-

pflanzen besonders in stärkearmen Knollen und Wurzeln, in Knospen und krautigen Stengeln, Gautier). Durch hohen Jodgehalt sind die Meeresalgen ausgezeichnet, besonders die Laminarien, aus deren Asche man lange Zeit hindurch Jod ausschließlich gewann. Dies geschieht in Japan noch jetzt. Der Jodgehalt japanischer Algen ist hoch (*Fucus vesiculosus* 0,741, *F. serratus*, 0,7965, *F. digitatus* 1,2012, *Laminaria saccharina* 0,4174 %, Ossendowski). *Laminaria Cl.* von Helgoland zeigte große Schwankungen (0,096, 0,059, 0,108 % im Stengel, 0,143, 0,071, 0,124 % im Blatt, Tunmann). Von verschiedener Seite wird angenommen, daß alle pflanzlichen und tierischen Zellkerne jodhaltig sind, und aus Badeschwämmen (Kalifornien) haben 1910 Wheeler und Mendel ein 3,5-Dijodtyrosin isoliert. In den Laminarien sollen nach Eschle (1897) ausschließlich organische Jodverbindungen vorkommen, die nur zum kleinen Teile in Wasser, Alkohol, Azeton, Alkalien und Säuren löslich sind. Van Itallie (1889) nimmt die Gegenwart von Jodiden an, und nach eigenen Erfahrungen dürfte ein Teil des Jods sicher als Jodid vorliegen.

Makrochemisch gelang Flückiger¹⁾ der Jodnachweis noch mit 0,1 % der Laminariadroge. Er röstete die gepulverte Substanz unter Zusatz der doppelten Menge Bimsstein vorsichtig bis zur Verkohlungs, nahm die Masse mit Wasser auf und wies das Jod im Filtrat, nach Ansäuern mit Eisenchlorid, durch Ausschütteln mit Schwefelkohlenstoff nach, der sich violett färbte. In ähnlicher Weise konnte van Itallie²⁾ in 10 g *Chondrus crispus* den Jodnachweis erbringen und zwar in den mit Wasser und 50 % Alkohol erhaltenen Auszügen.

Einfacher und sicherer ist bei *Laminaria* der mikrochemische Nachweis. Den in Wasser liegenden Präparaten fügt man einige Stärkekörnchen zu und läßt vom Deckglasrande 1—2 Tropfen Eisenchlorid³⁾ (offizinelle Lösung) einwirken. An zweiter Stelle kann konzentrierte Salpetersäure⁴⁾ benutzt werden. (Die Reagentien sind vorher auf Reinheit — Jod und Jodsäure — zu prüfen.) Es ist ratsam, mehrere Präparate, welche aber ganz zart sein können, unter ein Deckglas zu

¹⁾ F. A. Flückiger, Nachw. d. Jods in *Laminaria*, Arch. d. Pharm., 1887, CCXXV, S. 519.

²⁾ L. van Itallie, Über das Vorkommen von Jodium in *Fucus vesiculosus* und *Chondrus crispus*, Arch. d. Pharm., 1889, CCXXVII, S. 1132.

³⁾ Tunmann, Über das Jod und den Nachweis desselben in der *Laminaria*, Pharm. Zentralh., 1907, XLVIII, S. 505.

⁴⁾ Nach Tschirch (Handbuch, Anmerkungen) soll Price Jod „mittels HCl und KNO₃ und Stärkekleister“ nachgewiesen haben. Diese Reaktion ist für mikroskopische Schnitte nicht zu empfehlen; sie mißlingt gewöhnlich. Der Stärkekleister färbt sich durch die starke Säureentwicklung rasch rot (Amylodextrin), die Jodbläunung tritt nicht klar hervor, bleibt auch ganz aus; wahrscheinlich entweichen die Spuren Jod bei der intensiven Reaktion am Deckglasrande. Das Reagens schädigt leicht die Linsen.

bringen. Das frei gewordene Jod färbt die Stärkekörner tief blau, die schönste Färbung zeigen die nahe dem Deckglasrande liegenden Körner. Die Reaktion, die innerhalb $\frac{1}{4}$ Stunde den Höhepunkt erreicht, tritt noch mit 0,001 g der Droge ein und mit 0,01 g lebenden Materials. Bei Benutzung von 0,01 g Droge und Anwendung reichlicher Stärke ist die Blaufärbung mit bloßem Auge wahrnehmbar. Unter Berücksichtigung der mit gleichem Material ausgeführten quantitativen Bestimmungen und der Vergleichsversuche mit Kaliumjodidlösungen von bestimmtem Gehalt gelingt es mit dieser Methode noch 0,0005 mg Jod nachzuweisen. Der Nachweis gelingt auch mit 0,02 g des aus der Schnittfläche eines gut gereinigten frischen Laminariastengels austretenden Schleimes. Frisches Material ist gut vom (jodhaltigen) Meerwasser zu befreien. Die die Reaktion bedingenden Jodverbindungen lassen sich innerhalb 24 Stunden mit Wasser oder Alkohol den Geweben (Schnitten) entziehen. Bei Florideen (*Chondrus crispus*, getrocknetes Material, Droge) trat die Reaktion nicht immer ein und nur bei Anwendung von Präparaten im Gesamtgewicht von 0,5–1,0 g. Die Jodamylumreaktion gibt nur bei jenen Pflanzen positive Resultate, bei denen die Jodverbindungen in relativ größerer Menge vorhanden sind.

Justus¹⁾ hat Jod in den Zellkernen der Knospen von *Fraxinus* nachgewiesen. Die Präparate des in Alkohol fixierten und in Celloidin eingebetteten Materials werden durch Waschen mit Wasser vom Alkohol befreit und 1–2 Minuten mit Chlorwasser behandelt, um das Jod in jonisiertes Jod überzuführen. Nun kommen die Schnitte auf mehrere Stunden in eine 0,01% Silbernitratlösung, dann wird durch 24stündige Mazeration mit konzentrierter Kochsalzlösung das Silberchlorid ausgewaschen. Nachdem man die Präparate mit Wasser abgespült hat, gelangen sie in eine 3–5% Quecksilberchloridlösung, um das Silberjodid in rotes Quecksilberjodid überzuführen, welches in konzentriertem Glyzerin (mehr oder weniger gut) sichtbar ist. Das Verfahren lieferte bei der Laminaria brauchbare Resultate, doch erschien es vorteilhaft, das Auswaschen mit der Kochsalzlösung 2 Tage lang fortzusetzen und die Lösung einmal zu erneuern. Auch erwies sich eine 2% Quecksilberchloridlösung am geeignetsten. Stärkere Sublimatlösungen geben mehr chromgelbe Färbungen. Die Zellwände blieben farblos, die Chromatophoren zeigten die besten Färbungen, weniger gut bei *Fucus* Zellkern und Plasma. Wenn sich das Jod bei dieser Reaktion auf organisierte Zellbestandteile niederschlägt, so ist dies noch kein einwandfreier Beweis für eine Lokalisation des Jods in Zellkern

¹⁾ J. Justus, Über den physiologischen Jodgehalt der Zelle, Virchows Arch. 1902, CLXX, S. 501.

und Chromatophor, zumal sich aus den Präparaten der *Laminaria* das Jod mit Wasser und Alkohol ausziehen läßt und, wie wir oben sahen, der austretende Schleim Jodreaktion gibt.

In *Bonnemaisonia asparagoides* hat Golenkin¹⁾ Zellen nachgewiesen, welche in der Rinde jüngerer Sprosse vorkommen und die Cystocarprien bedecken. Diese Zellen enthalten eine große stark lichtbrechende Vakuole, die mit Cyanin intensiv braun wird und somit eine Jodverbindung enthalten soll, denn Jodlösungen geben nach makrochemischen Versuchen mit Cyanin einen braunen, in Wasser sehr schwer löslichen Niederschlag, der aber sehr unbeständig sein soll. Größeres Gewicht ist auf den Befund zu legen, daß diese Alge Stärkekleisterpapier bläut, vorausgesetzt, daß diese Reaktion auch bei gut gereinigten Objekten eintritt.

Stickstoff (Salpetersäure).

Als Stickstoffquellen für die Eiweißproduktion dienen den Pflanzen Ammoniumverbindungen, in bestimmten Fällen der Stickstoff der Luft, vor allem aber die Nitrate des Bodens. Nitrite, die sich zwar beim Mais den Nitraten gegenüber als gleichwertige Düngungsmittel erwiesen²⁾, sind für keimende Samen mehr oder weniger giftig. Ältere, aber noch in Entwicklung begriffene Pflanzen sind gegen mäßige Nitritmengen unempfindlich³⁾. Die Nitrate gelangen aus dem Boden in die Leitungsbahnen und werden bei der Eiweißsynthese verarbeitet, wahrscheinlich, doch nicht ausschließlich, in den Blättern, nach Schimper in den Chlorophyllkörnern. In den Wurzeln ist die Nitratreaktion einige Millimeter oberhalb der Wurzelhaarzone noch gut zu erhalten. Doch dringen die Nitrate nicht so schnell in die Wurzelhaare ein, wie einige Farbstoffe (Methylviolett)⁴⁾. Im Mesophyll der Blätter sind die Nitrate nur schwer nachweisbar, gut jedoch in dem chlorophyllarmen Leitparenchym (Blattnerven, Rindenparenchym, Mark). Im Samen fehlen sie (Schimper). Typische Salpeterpflanzen (in erster Linie zu mikrochemischen Studien geeignet) sind *Zea mays*, *Phaseolus multiflorus*, *Cucurbita pepo*, *Helianthus annuus*, ferner *Beta vulgaris*, *Solanum tuberosum*, Solanaceen (*Atropa belladonna*, *Datura*), viele Boragineen und nach Lutz Urticaceen, Chenopodiaceen, nicht Malvaceen und Kryptogamen (Moose).

Zur Untersuchung ist tunlichst lebendes Material heranzuziehen,

¹⁾ M. Golenkin, Algologische Notizen, Bull. d. l. Soc. Impér. d. Naturalistes d. Moscou 1894 nach Ztschr. f. wiss. Mikr., 1894, XI, S. 533.

²⁾ Th. Schloesing fils, Nitrates et Nitrites pour engrais, Compt. rend., 1905, CXXI, S. 745.

³⁾ A. Stutzer, Wirkung von Nitrit auf Pflanzen, Journ. f. Landw., 1906, LIV, S. 125.

⁴⁾ L. Kny, Über den Ort der Nährstoffaufnahme durch die Wurzel, Ber. deutsch. bot. Ges., 1898, XVI, S. 216.

da der Nitratgehalt beim Trocknen, wie Couperot¹⁾ zeigte, infolge enzymatischer Prozesse um $\frac{1}{3}$, selbst um $\frac{1}{2}$ abnimmt. Von den zahlreichen in der Chemie benutzten Reaktionen auf Salpetersäure und Nitraten hat sich in der Pflanzenmikrochemie die Reaktion mit Diphenylamin am meisten bewährt. Zum Nachweis wird eine Lösung von 0,05—0,1 g Diphenylamin in 10,0 g konzentrierter Schwefelsäure benutzt (Molisch)²⁾. Die frischen Schnitte kommen direkt in das Reagens oder aber man läßt die Präparate zuvor auf dem Objektträger eintrocknen und fügt dann das Reagens zu. Bei Gegenwart von Nitraten erfolgt sofort Blaufärbung, die nach kurzer Zeit in ein schmutziges Braungelb übergeht. Eingehend wurde die Reaktion von Müller³⁾ und Serno⁴⁾, speziell zur Unterscheidung von Kaliumnitrat und Asparaginkristallen, benutzt. Letzterer wandte eine 2%ige Lösung von Diphenylamin an. Die konz. Schwefelsäure zerstört die Präparate ziemlich schnell, um sie länger zu erhalten, kann man eine etwas verdünnte Säure anwenden, etwa drei Teile Säure und ein Teil Wasser, bei stärkerer Verdünnung tritt nach eigenen Befunden aber keine Reaktion mehr ein. Gegen die Diphenylamin-Reaktion hat man, vorzüglich in der botanischen Literatur, geltend gemacht, daß sie auch zugleich salpetrige Säure und Nitrite anzeige, daß aber letztere in den Pflanzen nicht vorkommen. Nun hat jedoch Soltsien⁵⁾ gezeigt, daß die Reaktion gar nicht durch salpetrige Säure und Nitrite veranlaßt werden kann. Im Gegenteil vermag die Gegenwart von viel salpetriger Säure neben Spuren von Salpetersäure sogar das Eintreten der Reaktion zu verhindern. Das gleiche läßt sich, wie schon hier bemerkt sei, bezüglich der Brucinreaktion sagen. Was nun das Vorkommen von Nitriten in Pflanzen anlangt, so sind wir hierüber noch ganz im unklaren. Allerdings soll sich in Pflanzen der durch Cholera verseuchten Gegenden ein sehr hoher Gehalt an salpetriger Säure ermitteln lassen, ebenso in einigen Bakterien (Cholera-bazillus)⁶⁾. Im normalen Lebensprozeß hat man aber Nitrite noch nicht gefunden, jedenfalls nicht mit genügender Sicherheit. Im Saft der Fuch sienstengel und im Stengel-

¹⁾ Couperot, Compt. rend., 1909, CXLIX, S. 957.

²⁾ H. Molisch, Über den mikrochem. Nachweis von Nitraten und Nitriten in der Pflanze mittels Diphenylamin oder Brucin, Ber. deutsch. bot. Ges., 1883, II, S. 150.

³⁾ C. O. Müller, Ein Beitrag zur Kenntnis der Eiweißbildung in der Pflanze, Dissertation, Leipzig 1886.

⁴⁾ Serno, Über das Auftreten und das Verhalten der Salpetersäure in den Pflanzen, Landw. Jahrb., 1889, S. 877.

⁵⁾ P. Soltsien, Pharm. Ztg., 1906, LI, S. 765.

⁶⁾ Mazé, Compt. rend., 1911, CLII, S. 1624.

saft von *Urtica*¹⁾ wurden Nitrite angegeben. Es fragt sich indessen, ob die Nitrite sich nicht erst infolge enzymatischer Prozesse beim Austritt aus den Zellen bildeten. Wenigstens geben Querschnitte von *Urtica* mit essigsaurer Antipyrinlösung keine Nitritreaktion. Auch ist die Annahme berechtigt, daß in den Pflanzen Substanzen vorkommen, die unter gewissen Bedingungen salpetrige Säure liefern. So fand Betting²⁾ in frischen Blättern von *Erythrina* neben der von Weehuizen³⁾ ermittelten salpetrigen Säure auch Azeton.

Bei Pflanzensäften wird man zum Nitritnachweis die Jodstärkereaktion heranziehen. Diese wird allerdings durch Ferrisalze und Wasserstoffsuperoxyd verhindert, ist aber ungemein scharf (noch 0,0025 µg in 100 g Wasser sind nachweisbar). Man mischt frisch bereiteten Jodstärkekleister mit der zu prüfenden Flüssigkeit und säuert mit verdünnter Schwefelsäure an (Blaufärbung). Ein sehr empfindliches Reagens auf Nitrite hat Dané⁴⁾ angegeben. Das Reagens besteht aus einer Lösung von 0,02 g synthetischem Indol in 150 ccm 95 % Alkohol. Bei Anwesenheit von Nitriten tritt bei Zusatz des Reagens und 50 % Schwefelsäure eine rosarote bis rote Färbung auf. Die Reaktion ist noch bei einer Verdünnung von 1:2,5 Mill. zu erkennen und eignet sich zum Nachweis von Nitrit in Schwefelsäure und anderen Reagentien. In der Pflanzenasche beweist die Gegenwart von Nitrit, daß in der Pflanze Nitrate vorhanden waren, die durch die Kohle reduziert worden sind.

Blaufärbung mit Diphenylamin geben noch verschiedene Substanzen, wie Bromsäure, Jodsäure, Wasserstoffsuperoxyd, chromsaures Kali, Eisenoxydsalze, Mangansuperoxyd, chlorsaures Kali⁵⁾. Diese sind praktisch nicht von Belang, da sie weniger in Pflanzen auftreten. Andererseits wird die Reaktion durch noch unbekannte Substanzen und Ursachen zuweilen verhindert. So fanden schon Molisch und Schimper⁶⁾, daß verholzte Elemente keine Blaufärbung geben, auch wenn sie einen großen Nitratgehalt aufweisen. In solchen Fällen kommt man, wie Ellram⁷⁾

¹⁾ R. S. Tjaden Moddermann, Chem. Centralbl., 1888, I, S. 377. — Giustiniani, Chem. Centralbl., 1896, I, S. 930.

²⁾ H. Wefers Betting, Pharm. Weekbl., 1909, XLVI, S. 1089.

³⁾ J. Weehuizen, Über salpetrige Säure in *Erythrina*, Pharm. Weekbl., 1907, XLIV, S. 1229.

⁴⁾ Dané, Einfaches Verfahren zum Nachweis der Nitrite, Bull. de la Soc. chim. de France, 1911, IX, S. 354.

⁵⁾ B. Frank, Unters. über die Ernährung der Pflanze mit Stickstoff, Landwirtschaft. Jahrb., 1888, XVII, S. 421 und Bemerkungen hierzu, S. 723; ferner Kreusler, Zum Nachweis von Nitraten im Erdboden, Landwirtschaft. Jahrb., 1888, XVII, S. 721.

⁶⁾ A. F. W. Schimper, Flora, 1890, LXXIII, S. 218.

⁷⁾ W. Ellram, Über den mikrochemischen Nachweis von Nitraten in den Pflanzen, Dorpater Sitzber., 1895, XI, Bot. Zentralbl., 1896, LXVII, S. 74.

zeigte, der ebenfalls die Diphenylreaktion für die beste hält, zum Ziele, wenn man vor der Ausführung der Diphenylaminprobe erst die Ligninreaktion mit Phloroglucin-Salzsäure ausführt. Auch in chlorophyllhaltigen Geweben soll die Reaktion oft ausbleiben, selbst bei Anwesenheit reichlicher Nitratsmengen (Lutz¹⁾).

Allgemein benutzt wird ferner die ebenfalls von Molisch in die Mikrochemie eingeführte Reaktion mit Brucin-Schwefelsäure, einer Lösung von 0,2 g Brucin in 10 ccm reiner konzentrierter Schwefelsäure. Nitrathaltige Zellen werden intensiv rot gefärbt. Die Färbung verblaßt nach einiger Zeit. Die Reaktion ist nicht so scharf wie die Diphenylaminprobe.

Arnaud und Padé²⁾ benutzten zum Nachweis Cinchonamin. Sie legten die Schnitte in eine mit Salzsäure angesäuerte 0,4 %ige wässrige Lösung von salzsaurem Cinchonamin. In Nitrat-Zellen gelangen Kristalle von salpetersaurem Cinchonamin zur Abscheidung (rechtwinklige, sechseckige Täfelchen, Behrens). Auch R. Brauns³⁾ erbringt den Nitratsnachweis durch kristallinische Abscheidungen. Die Präparate werden auf dem Objektträger direkt in einen Tropfen wässriger Baryumchloridlösung gelegt. Es scheiden sich nach Erwärmen auf dem Wasserbade reguläre Oktaeder von Baryumnitrat aus, welche gewöhnlich auf einer Oktaederfläche aufliegen und somit einen drei- oder sechseckigen Umriß zeigen. Doch muß erst erprobt werden, ob sich die Reaktion auch für pflanzliche Gewebe eignet. Jedenfalls müßten die Fällungen weiter identifiziert werden, da wir mit der Gegenwart von Sulfaten rechnen müssen. Zu versuchen wäre auch das Reagens von Busch⁴⁾ Nitron oder Diphenylanilodihydrotriazol (bei Zusatz von Essigsäure Bildung langer feiner Nadeln). Fluri⁵⁾ hat bei Anwendung einer 10 %igen Nitronlösung in 5 %iger Essigsäure weiße Nadeln erhalten. Diese Versuche erstrecken sich aber nur auf Spirogyren, die mit Salpeter plasmolysiert waren. Die Niederschläge entstanden nur in der Salpeterlösung, niemals in den Zellen.

¹⁾ L. Lutz, Sur l'accumulation des nitrates dans les plantes parasites et saprophytes et sur l'insuffisance de la diphenylamine sulfurique comme réactif microchimique de ces substances, Bull. Soc. bot. France, 1909, XLV, S. 104.

²⁾ A. Arnaud und L. Padé, Rech. chim. de l'acide nitrique, des nitrates dans les tissus végétaux, Compt. rend., 1884, XCVIII, S. 1488.

³⁾ R. Brauns, Eine mikrochemische Reaktion auf Salpetersäure, Ztschr. f. wiss. Mikr., 1896, XIII, S. 207.

⁴⁾ P. Busch, Chem. Centralbl., 1905, I, S. 900 und: Die Fällung der Salpetersäure mittels Nitron, Ztschr. f. analyt. Chem., 1909, XLVIII, S. 375.

⁵⁾ M. Fluri, Der Einfluß von Aluminiumsalzen auf das Protoplasma, Flora, 1908, XCIX, S. 85.

Methodische Untersuchungen fehlen somit noch. Zu beachten wäre bei der Reaktion, daß nach Visser¹⁾ auch salpetrige Säure, Chlorsäure, Perchlorsäure, Oxalsäure und Salizylsäure kristallinische Nitronniederschläge geben.

Gewiß ist das Bestreben, Farbenreaktionen durch Reaktionen mit kristallinischen Fällungen zu ersetzen, sehr lobenswert. Doch stehen die bisherigen Erfolge in dieser Hinsicht den Farbenreaktionen an Schärfe nach. Als Hilfsreaktion läßt sich übrigens die Farbenreaktion mit Arbutin-Schwefelsäure²⁾ anwenden. Allerdings wird hierbei nur noch 0,1 mg Salpetersäure angezeigt. Die Präparate werden mit einer Arbutinlösung (einer frisch mit warmem Wasser bereiteten konz. wässerigen Lösung von Arbutin) gut durchfeuchtet und dann unter Deckglas gebracht. Auf Zusatz von konz. Schwefelsäure entsteht in nitrathaltigen Zellen eine starke chromgelbe Färbung. Die Reaktion tritt nicht immer ein, aus ihrem Ausbleiben darf nicht auf die Abwesenheit von Nitraten geschlossen werden. Bei den Farbenreaktionen empfiehlt es sich, stets Vergleichspräparate zu durchmustern, denen man nur Schwefelsäure zusetzt. Denn ein Mangel der genannten Reaktionen besteht darin, daß Schwefelsäure allein bekanntlich häufig Farbenreaktionen im Gewebe hervorruft, beispielsweise bei Anwesenheit von Alkaloiden, ein Umstand, der vornehmlich bei der Brucin- und bei der Arbutin-Reaktion zu berücksichtigen ist.

Kaliumnitrat kommt sehr häufig im Gewebe vor und ist nach dem Gesagten leicht nachzuweisen. Die Schnitte kommen auf dem Objektträger in etwas Alkohol. Nach Verdunsten des Alkohols scheiden sich die Salpeterkristalle in rhombischen Tafeln, zuweilen auch in Prismen aus (Abb. unt. Asparagin). Beim Einlegen der Objekte in Glyzerin erfolgt die Ausscheidung nach Belzung (S. 75, Anm. 4) auch in den Interzellularräumen. Die Kristalle werden auf Salpetersäure mit Diphenylamin-Schwefelsäure oder in anderer Weise geprüft, der Kaliumgehalt wird mit Platinchlorid ermittelt (s. Kalium).

Die in neuester Zeit von Schmidt und Lumpp³⁾ als sehr empfindlich empfohlene Reaktion mit einer Lösung von Di-(9,10-monoxypheanthryl-)amin in konzentrierter Schwefelsäure (1:10) erwies sich bei einigen Versuchen nicht

¹⁾ H. L. Visser, „Nitron“ als mikrochemisches Reagens, Chem. Weekbl., 1906, III, S. 743 (Chem. Centralbl., 1907, I, S. 302).

²⁾ Makrochemisch mit reinen Substanzen von C. Reichard (Chem. Ztg., 1906, XXX, S. 65), mikrochemisch im Gewebe in einigen Fällen von O. Tunmann erprobt (Pharm. Centralh., 1906, XLVII, Nr. 46).

³⁾ J. Schmidt und H. Lumpp, Neue sehr empfindliche Farbenreaktion zum Nachweis von Salpetersäure und Nitraten, Ber. chem. Ges., 1910, XLIII, S. 794. Das Reagens ist gebrauchsfertig von Kahlbaum, Berlin zu beziehen.

sehr brauchbar, da der Übergang der blauen Färbung des Reagens in die bläulich rote bis weinrote Farbe bei Gegenwart von Nitraten unter dem Mikroskop nicht augenfällig in Erscheinung tritt.

Phosphor.

Phosphor tritt in den Pflanzen teils in anorganischer (Phosphate), teils in organischer (Eiweißverbindungen, Nukleoproteide, s. d.) Bindung auf. Phosphate können in der Pflanze auch bei der Zersetzung organischer Phosphorverbindungen entstehen. Überwiegend stammen sie aus dem Boden. Die Phosphate des Bodens sind für die Pflanzen unentbehrlich; sie nehmen an dem Aufbau der plasmatischen Gebilde (Zellkern, Stroma) in hervorragendem Maße teil. Den Wurzeln stehen im Boden leicht und schwer lösliche Phosphate zur Verfügung. Im Holz erreicht der Phosphorsäuregehalt im Mai zur Zeit der größten Wachstumstätigkeit sein Maximum; im allgemeinen enthält die Holzasche 3–6%. Abnorm hohe Werte zeigt die Asche von *Tectona grandis* L. (29%) und von *Quercus* (22%). Die Asche der Rinden führt nur geringe Mengen Phosphor (Ausnahmen: Birkenrinde 12%, Chinارينde bis 18% Phosphorsäureanhydrid u. a.). In den Blättern lassen sich im Mesophyll und in den Palisaden nur geringe Mengen Phosphate nachweisen. Große Quantitäten finden sich im Leitparenchym der Blattnerven. Wahrscheinlich ist im Blatte die Phosphorsäure in organischer Bindung zugegen. Die Blatταςche hat einen Gehalt von 10–15%, zuweilen bis zu 30% an Phosphorsäureanhydrid. Zum Herbst erfolgt eine Rückwanderung der Blattphosphorsäure in den Stamm, doch kommt es nicht zu einer Entleerung der Blätter. Am größten ist der Gehalt in den Samen, in denen er 40–50% der Reinasche beträgt. Die Samenschalen sind arm an Phosphorsäure. Im Samen ist die Art der Speicherung der Nährstoffe (Aleuron, Fett, Stärke) nicht von Einfluß auf den Gesamtgehalt an Phosphor. Die Phosphorsäure ist dort fast nur in organischer Bindung zugegen, in Wurzeln und Rhizomen hingegen vorzugsweise als Phosphat. Die Leitung der Phosphate findet in dem chlorophyllarmen Mark- und Rindenparenchym der Wurzel und Stengel, sowie im Nervenparenchym der Blätter statt. In den Siebröhren werden organische Phosphorverbindungen geleitet. Bemerkt sei schließlich, daß von Stoklasa (Ber. bot. Ges., 1909, XXVII, S. 10) ein Phosphorgehalt des Chlorophylls (als Glycerin-Phosphorsäure) auch in neuester Zeit angegeben wird.

Zum mikroskopischen Nachweis des Phosphors in Phosphaten benutzte Hansen¹⁾ eine salpetersaure Lösung von Ammoniummolybdat, die in der Chemie und in der Mineralogie schon lange zu gleichem Zwecke gebraucht wurde. Benutzt wird eine Lösung von 1,0 g molybdänsaurem Ammon in 12,0 ccm Salpetersäure (spez. Gew. 1,18). Es entsteht eine gelbliche Fällung von Ammoniumphosphormolybdat, die zuweilen feinkörnig ausfällt, meist aber reguläre Kristalle, (5–10 μ groß, Kombinationen von Würfel und Oktaeder) bildet (Fig. 23b).

¹⁾ A. Hansen, Über Sphärokristalle, Arb. aus dem bot. Institut Würzburg, 1885, III, S. 95.

Die Fällung löst sich in Ammoniak. Bei Beginn ihrer Ausbildung sehen die Kristalle wie kleine gelbe Fetttropfchen mit schwarzem Rand aus, dann wie Sphärokristalle mit zentralem Kern; eine kristallinische Struktur ist im gewöhnlichen Lichte erst nach einer Stunde wahrnehmbar. Die Reaktion, die oft erst nach einigen Stunden eintritt, kann durch die Gegenwart einiger organischer Verbindungen (weinsaure Salze) verhindert werden. Auch in Lösung befindliche Kieselsäure wird mitgefällt. Diese ist bei manchen Objekten nicht ausgeschlossen (Equiseten, Bambusen). Bei Präparaten, die stark verkieselte Membranen besitzen, verfährt man, um ganz sicher zu sein, in folgender Weise: Einige Präparate werden auf dem Objektträger mit einigen Tropfen Wasser ausgezogen, die Präparate werden beiseite geschoben,

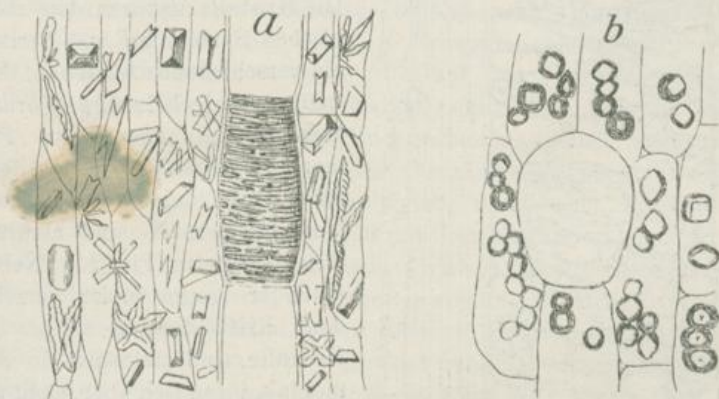


Fig. 23. Phosphornachweis; a) *Cochlearia armoracia* (Wurzel, Längsschnitt) mit Ammoniak; b) *Althaea officinalis* (Wurzel, Längsschnitt) mit Ammoniummolybdat (Tunmann).

die Lösung wird bei mäßiger Temperatur eingedampft. Hierbei wird event. anwesende Kieselsäure unlöslich. Der Rückstand wird dann mit molybdänsaurem Ammon behandelt. — Außerdem sind Arsenverbindungen, die bei dieser Methode ebenfalls in Reaktion treten, zu berücksichtigen. Mit Ammoniummolybdat wird organisch gebundene Phosphorsäure (Nukleoproteide, s. d.) ebenfalls Reaktionen geben, vornehmlich nach längerer Zeit oder bei gelindem Erwärmen; um diese jedoch mit Sicherheit nachweisen zu können, müssen die Präparate verascht werden. Die Asche liefert sofort einen Niederschlag, der die Gesamtphosphorsäure anzeigt. — Zur Ermittlung der Lokalisation kann die Reaktion oft nicht dienen, da das Ammoniumphosphormolybdat vorwiegend außerhalb der Zellen entsteht. Andererseits hat die Reaktion bei amylnreichen Schnitten den Vorteil, daß die Säure des Reagens die Stärke löst und die Fällungen besser sichtbar werden. Auch ist

zu beachten, daß bei Ermittlung von Phosphaten (S. 89) die gleichzeitig erfolgende Alkaloid- und Eiweißfällung störend wirken kann, vorzüglich bei Samen.

Sehr empfindlich ist ferner der Nachweis mit Magnesiummischung von Pfeffer¹⁾. Diese Reaktion wird durch andere organische Substanzen nicht verhindert (Schimper)²⁾. Man benutzt gesättigte wässrige Lösungen von Magnesiumsulfat und von Chlorammonium. Zum Gebrauch mischt man 25 Volumen Magnesiumsulfatlösung mit 2 Volumen Chlorammoniumlösung und 15 Volumen Wasser (Zimmer-

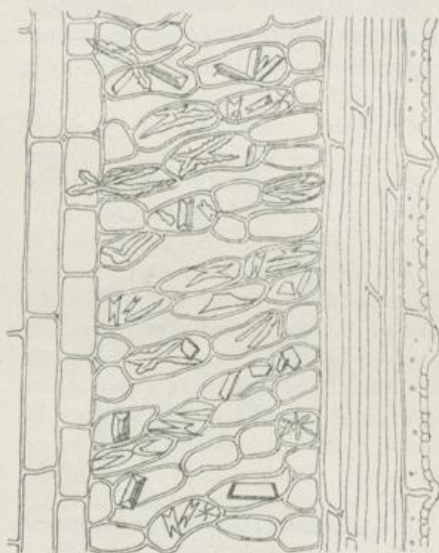


Fig. 24. Phosphornachweis mit Magnesiumgemisch, *Equisetum arvense* (Längsschnitt) (Tunmann).

mann). Es bilden sich recht charakteristische Kristalle von Ammonium - Magnesium - Phosphat. Die Kristalle gehören dem rhombischen System an und besitzen ein verschiedenes Aussehen. Man trifft sargdeckelartige Formen, kreuzförmig angeordnete Prismen, 4—8strahlige Sterne, deren Strahlen in kleine Täfelchen auslaufen, sowie X- und H-artige Kristallskelette (Fig. 24). Nebeneinander treten meist verschiedene Kristallformen auf³⁾. Die Kristalle sind unlöslich in Ammoniak, lösen sich aber leicht und schnell in Säuren, selbst in Essigsäure. Trägt man die Schnitte direkt in die Magnesiummischung ein, so erhält man die Kristalle zum großen Teile innerhalb der

Zellen. Neuere Erfahrungen zeigen, daß die zur Bildung von Ammonium-Magnesium-Phosphat nötige Menge Magnesium, wenn auch nicht immer, so doch oft, neben den Phosphaten in den Geweben enthalten sind. In derartigen Fällen genügt zur Kristallbildung schon ein Zusatz

¹⁾ W. Pfeffer, Untersuchungen über die Proteinkörner u. die Bedeutung des Asparagins beim Keimen d. Samen, Jahrb. f. wiss. Bot., 1872, VIII, S. 429.

²⁾ A. F. W. Schimper, Flora, 1890, LXXIII, S. 216.

³⁾ Die bei der Reaktion entstehenden Kristalle stimmen in jeder Hinsicht mit dem Mineral Struvit überein, wie O. Richter zeigte (Ein Beitrag zur Kenntnis des Magnesium-Ammonium-Phosphates $\text{Mg}(\text{NH}_4)\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, Tschermaks Min. u. Petrogr. Mitt., 1901, XX, S. 89).

von Ammoniak (Fig. 23a). Da anwesendes Kalium die analoge Verbindung in gleicher Kristallform bilden kann, so bleibt es in solchen Fällen fraglich, ob die Kalium- oder Magnesiumverbindung des phosphorsäuren Ammoniums vorliegt. Zum Nachweis von Eiweiß-Phosphorsäure müssen die Präparate vorher verascht werden. So veraschte Pfeffer die Globoide der Aleuronkörner und fügte der Asche ammoniakalische Chlorammoniumlösung zu, worauf sich aus dem amorphen Magnesiumphosphat der Asche langsam Kristalle von phosphorsaurer Ammoniakmagnesia ausschieden.

Die beiden im Vorstehenden besprochenen Methoden sind derzeit die besten Reaktionen auf Phosphorverbindungen. Es ist zweckmäßig, beide Reaktionen auszuführen, da sie sich ergänzen. Bleibt mit dem Magnesiumgemisch eine Reaktion aus, tritt aber mit Ammoniummolybdat nach einiger Zeit oder bei gelindem Erwärmen ein (wenn auch geringer) Niederschlag auf, so deutet dies auf eine organische Phosphorverbindung hin, die durch die Salpetersäure des Reagens zersetzt wurde. Legumin und Casein (Nucleoalbumin) geben nach einigen Minuten selbst ohne Erwärmung den charakteristischen gelben Niederschlag von Ammoniumphosphormolybdat, nicht aber Lezithin- und Glycerin-Phosphorsäure. Erhält man mit dem Magnesiumgemisch runde oder elliptische Körner, so ist nach Iwanoff¹⁾ ein Hinweis darauf gegeben, daß die organische Phosphorverbindung als Eiweißverbindung vorliegt. Casein und Vitellin geben nämlich ähnliche kugelige Niederschläge²⁾; Glycerinphosphorsäure gibt mit dem Magnesiumgemisch einen feinkörnigen Niederschlag, Lezithin reagiert aber nicht, auch nicht echtes Globulin (Conglutin).

Lilienfeld und Monti³⁾ haben Untersuchungen ausgeführt, die neben dem Phosphor in Phosphaten auch den in organischer Bindung nachweisen sollten. Die Untersuchungen wurden mit tierischen Geweben ausgeführt und beruhen darauf, daß beim Eintragen eines phosphorhaltigen Gewebes in eine Salpetersäurelösung von Ammoniummolybdat die Molybdänsäure in den phosphorhaltigen Zellen niedergeschlagen wird. Da der Niederschlag nicht gut sichtbar ist, so wird die Molybdänsäure durch geeignete Mittel reduziert. Ungeeignet zur Reduktion erwiesen sich Zinnchlorür, Alkaloide, Eisenchlorid; Gerbsäure ließ sich eher verwenden. Die besten Resultate gab Pyrogallol. Freie

¹⁾ L. Iwanoff, Das Auftreten und Schwinden der Phosphorverbindungen in den Pflanzen, *Jahrb. f. wiss. Bot.*, 1901, XXXVI, S. 355.

²⁾ Moraczewski, *Ztschr. f. phys. Chem.*, 1898, XXV, S. 252.

³⁾ L. Lilienfeld und A. Monti, Über die mikrochemische Lokalisation des Phosphors in den Geweben, *Ztschr. f. phys. Chem.*, 1892, XVII, S. 410.

Phosphorsäure soll sofort gefällt werden, die gebundene erst bei längerem Behandeln der Schnitte mit molybdänsaurem Ammoniak. Letztere läßt sich jedoch durch Barytwasser oder Natriumkarbonat sofort in Freiheit setzen. Die Präparate kommen somit auf $\frac{1}{2}$ bis mehrere Stunden in molybdänsaures Ammoniak, werden dann gründlich mit Wasser ausgewaschen und gelangen schließlich auf einige Minuten in eine 20%ige wässrige Pyrogallollösung. Durch die Pyrogallollösung nehmen die phosphorhaltigen Zellen und Zellbestandteile je nach ihrem Phosphorgehalt eine gelbe, braune bis schwarze Färbung an. Werden die Präparate in Alkohol entwässert, dann hält sich die Färbung einige Zeit in Kanadabalsam.

Trotzdem dieses Verfahren auf botanischem Gebiete einer scharfen Kritik begegnete, wurde es von Pollacci¹⁾ warm empfohlen, der zur Reduktion Zinnchlorür benutzt, welches nach den Erfahrungen von Lilienfeld und Monti sich nicht bewährte. Die Molybdänsäure-Zinnchlorür-Reaktion wird in folgender Weise ausgeführt. Die Präparate (von lebendem oder von in Alkohol eingelegtem Material) werden mit Hilfe einer mit Platinspitzen versehenen Pinzette (oder mit Platindraht, Glasstäbchen) in eine Lösung von molybdänsaurem Ammoniak gebracht, deren Temperatur 40° nicht übersteigen soll, dann wiederholt gründlich mit durch wenig Salpetersäure angesäuertem Wasser ausgewaschen und schließlich in eine 4%ige wässrige Lösung von Zinnchlorür übertragen. Je weniger Phosphor zugegen ist, um so konzentrierter muß die Zinnchlorürlösung gewählt werden. Phosphor zeigt sich durch eine dunkelblaue bis blaugrüne Färbung im Gewebe an (Bildung von Molybdänsesquioxid). Die Präparate sind in Glyzerin, Wasser, Kanadabalsam und verdünnter Salpetersäure haltbar. Das Molybdänsäure-Reagens hat folgende Zusammensetzung²⁾: a) Lösung von 15 g kristallinischem molybdänsaurem Ammonium in 100 ccm ammoniakalischem Wasser; b) 70 Teile Salpetersäure (spez. Gew. 1,18) und 30 Teile Wasser. Gleiche Teile von a) und b) werden gemischt, der beim Mischen entstehende Niederschlag löst sich beim Schütteln. Pollacci³⁾ hat seine Reaktion wiederholt verteidigen müssen.

¹⁾ G. Pollacci, Über die Verteilung des Phosphors in den pflanzlichen Geweben, *Malpighia* 1894, VIII, Sep.

²⁾ G. Pollacci, Über die Methoden zum mikrochemischen Nachweis des Phosphors in pflanzlichen Geweben, *Atti dell' Ist. Bot. dell' Univ. di Pavia*, 1900, 2 Ser. VI, S. 15 und 1904, X, S. 16.

³⁾ G. Pollacci, Über die mikrochemische Prüfung auf Phosphor mittels des Molybdänreagens und Zinnchlorürs in tanninhaltenen Zellen, *Malpighia* 1895, IX, S. 370. — Andere Resultate als Pollacci erhielten Arcangeli (*Sulla ricerca microch. del Fosforo nei tessuti vegetali*, *Att. d. Soc. Toscana, Pisa*, 1902, XVIII) und nach E. Zacharias (*Progr. rei bot.*, 1909, III, S. 127) auch Bertolo.

Die Kritik setzte mit einer Arbeit von Raciborski¹⁾ ein. Unvollständiges Auswaschen des molybdänsauren Ammoniums soll die Reaktion verursachen; die Salpetersäure bilde außerdem Xanthoprotein und dieses gibt mit Zinnchlorür eine ähnliche Reaktion; in gerbstoffhaltigen Zellen sei die Reaktion ebenfalls unbrauchbar. Auch Fiori hat in Gerbstoffzellen Schwarzfärbung beobachtet. Diese soll jedoch nach Pollacci in Säuren, also auch in der stets etwas sauren Zinnchlorürlösung langsam verschwinden, worauf bei Gegenwart von Phosphor die Blaufärbung hervortritt. Heine²⁾ hat aber gezeigt, daß das von ihm hergestellte Histon, dessen Asche keine Phosphorreaktion gab, stärker nach Lilienfeld und Monti reagierte als eine phosphorreiche Nukleinsäure.

Géneau de Lamarlière³⁾ verfolgt die Phosphate in den Zellmembranen durch Erwärmen der Präparate mit einer Lösung von Ammoniummolybdat in Salpetersäure. Die Reaktion (Gelbfärbung) ist verschieden von der durch die Salpetersäure des Reagens bewirkten Reaktion. Letztere tritt auch in der Kälte ein und verblaßt beim Erwärmen. Doch bleibt es dahingestellt, in wie weit sich Silikate an der Reaktion beteiligen, die in vielen Fällen mit der Verholungsreaktion zusammenfällt. Die Molybdänreaktion tritt noch ein, wenn man die Phoroglucinreaktion durch Behandeln der Präparate mit Eau de Javelle unmöglich gemacht hat. Lamarlière bringt ferner die mit Molybdänsalpetersäure behandelten Präparate in schwache Zinnchlorürlösung und erzielt Blaufärbung der Zellwände. Hierbei bläuen sich nun auch Membranen, die mit Molybdänsalpetersäure allein keine Reaktion geben. Die vorliegende Beobachtung bedarf somit einer weiteren Prüfung; sie stützt nicht die Angaben über die Lokalisation des organisch gebundenen Phosphors.

In Cyanophyceen und in Hefezellen weist Macallum⁴⁾ organische Phosphorverbindungen nach, indem er das durch Alkohol gehärtete Material erst in Wasser, dann bei 35° auf $\frac{1}{4}$ —48 Stunden in salpetersaures Molybdänammon bringt, mit verdünnter Salzsäure kurz aus-

¹⁾ M. Raciborski, Kritisches Referat über die Arbeit von Lilienfeld und A. Monti, Über die mikrochemische Lokalisation des Phosphors in den Geweben, Bot. Ztg., 1893, LI, 2. Abt., S. 245.

²⁾ L. Heine, Ztschr. f. phys. Chem., 1896, XXII, S. 132.

³⁾ L. Géneau de Lamarlière, Quelques observations sur le molybdate d'ammonium employé comme réactif des membranes cellulaires, Bull. soc. bot. de France, 1902, XLIX, S. 183.

⁴⁾ A. B. Macallum, On the cytology of non-nucleated organisms, Transact. Canadian Inst., 1899, VI, S. 439 und: On the detection and localization of Phosphor, Proc. Roy. Soc., 1898, LXIII, S. 474.

wäscht und schließlich in eine 1%ige Lösung von salzsaurem Phenylhydrazin überträgt. Phosphorhaltige Zellbestandteile sollen blaugrün werden.

Phosphate treten in den lebenden Zellen fast nur in gelöster Form auf. In den frischen Blättern von *Robinia pseudacacia* und von *Soja hispida* hatte Nobbe¹⁾ Kalziumphosphat angegeben, eine Angabe, die aber von Kohl²⁾ widerlegt wurde. Nachprüfungen ergaben für die erste Pflanze nur die Anwesenheit von Kalkoxalat. Zimmermann³⁾ gibt für die lebenden Zellen der Stengel und Blätter einer *Cyperus*-art Kalziumphosphat-Ausscheidungen an. Es sind runde Gebilde, die einen aus oxalsaurem Kalk bestehenden Kern besitzen, um den das Kalk-

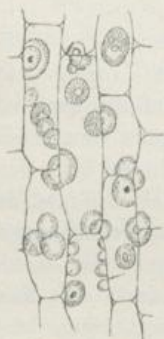


Fig. 25. *Helianthus annuus* (peripheres Markparenchym), in Alkohol zur Abscheidung gelangte, Kalziumphosphat enthaltende Sphärite (Tunmann).

phosphat schalenartig angelagert ist. Sie sind von einer Hülle umgeben, die bei langsamer Lösung der Grundmasse zurückbleibt. Die Globoide enthalten stets Phosphat (Kalk-Magnesium) in fester Form (s. Aleuronkörner). Phosphate scheiden sich aber, weniger beim Trocknen der Pflanzen, weit mehr und besser beim Einlegen frischer Pflanzen in Alkohol nach einiger Zeit aus. Die Ausscheidungen in Glycerin sind meist von etwas abweichender Form. Unter diesen Ausscheidungen, die die Gestalt von Sphäriten besitzen, prävaliert der phosphorsaure Kalk.

Die sog. **Kalziumphosphatsphärite** (Fig. 25) lösen sich unter Deckglas nur langsam in Wasser, Ammoniak und in Essigsäure, leicht in Mineralsäuren, in Salzsäure ohne Gasentwicklung, in Schwefelsäure unter sofortiger Bildung von Gipsnadeln. Im polarisierten Lichte erscheinen sie wie Inulinsphärite oder Stärkekörner. In Glycerin sind die durch Alkohol gefällten Sphärite unlöslich, sie halten sich daher in Glyzeringelatine. Diese Sphärite bestehen aber keineswegs nur aus phosphorsaurem Kalk. Schon Leitgeb⁴⁾ wies darauf hin, daß sie keine chemisch einheitliche Substanz darstellen. Viele Sphärite, vornehmlich die

¹⁾ Nobbe, Hänlein, Counciler, Vorläufige Notiz betr. das Vorkommen von phosphorsaurem Kalk in der lebenden Pflanzenzelle, Landw. Versuchsstat., 1879, XXIII, S. 471.

²⁾ F. G. Kohl, Kalksalze, S. 156.

³⁾ A. Zimmermann, Über Kalziumphosphatausscheidungen in lebenden Zellen, Beitr. z. Morph. u. Physiolog. d. Pflanzenzelle, 1893, H. III, S. 311.

⁴⁾ H. Leitgeb, Über die durch Alkohol in Dahliaknollen hervorgerufenen Ausscheidungen, Bot. Ztg., 1887, XLV, S. 129 und: Über Sphärite, Mitt. d. bot. Inst. Graz, 1888, I, 2. Heft, S. 257.

deutlich kristallinen, besitzen einen amorphen Kern, der aus einer organischen Substanz noch unbekannter Natur besteht. Beim Glühen läßt sich an geeigneten Objekten (Dahlien, Asclepiadaceen, kaktusartige Euphorbiaceen, Mesembryanthemum-Arten) Verkohlung der Kernsubstanz beobachten. Der Kern löst sich nicht in Wasser, selbst nicht in heißem, ist auch unlöslich in Alkohol und in Äther. Er nimmt Farbstofflösungen (Boraxkarmin, Methylenblau) an, ohne die Farben zu halten. Denn beim Auswaschen verschwindet die Färbung wieder. Sphärite, die weder Schichtung noch Kern zeigen, lassen sich vollständig mit Karmin tingieren. Hier scheint die organische Substanz durch die ganze Masse der Sphärite verteilt zu sein. Nun vermögen größere Quantitäten von Kalziumphosphat Glykose zu lösen und so festzuhalten, daß sich selbst nach stundenlangem Einleiten von Kohlensäure der Kalk nicht ausscheidet. Es ist daher nicht ausgeschlossen, daß die Sphärite aus phosphorsaurem Kalk und einem Polysaccharid bestehen. Auch ist an das Vorkommen weiterer Doppelverbindungen der Phosphorsäure zu denken. Hansen¹⁾ meinte, daß die Kalziumphosphate in der lebenden Pflanze an Eiweißsubstanzen gebunden seien. So gibt Re²⁾ in *Agave americana* Sphärite an, die aus Kalk, Phosphorsäure und einer noch unbekannten organischen Substanz bestehen. Letztere zeigt sich durch Bräunung der Sphärite bei Einwirkung von verdünnter Silbernitratlösung an. Die Sphärite der kaktusartigen Euphorbien (*E. coerulescens*, *E. resinifera* u. a.) sollen nach Belzung³⁾ ein mit Äpfelsäure gepaartes Phosphat sein. Diese Sphärite sind zunächst amorph, nehmen erst später ihre radiäre Struktur an, lösen sich in Wasser und stimmen in ihrem Verhalten mit künstlichem äpfelphosphorsaurem Kalk überein. — Bei den oben (S. 92) erwähnten *Cyperus*-Sphäriten löst sich der phosphorsaure Kalk selbst in heißem Wasser und 5%iger Essigsäure nur sehr langsam. Eisessig übt keine Wirkung aus, erst bei nachfolgendem Wasserzusatz erfolgt Lösung. Durch Salzsäure wird der Kalziumoxalatkerne gelöst, die Phosphathülle bleibt ungelöst zurück. In 10%iger Kalilauge findet keine Veränderung statt. Ammoniak färbt die Sphärite gelb. Im polarisiertem Lichte erscheint die Grundsubstanz isotrop, der Kern stark aufleuchtend. Auch die Sphärite, die man in *Helianthus annuus* (Rinden- und Mark-

¹⁾ A. Hansen, Über die Bedeutung der durch Alkohol in Zellen bewirkten Kalziumphosphatausscheidungen, *Flora*, 1889, LXXII, S. 408.

²⁾ L. Re, Über das Vorkommen von Sphäriten bei *Agave americana*, *Annuaire Real. Istit. botan. di Roma*, 1894, V, S. 38.

³⁾ E. Belzung, Nature des sphérocristaux des Euphorbes cactiformes, *Journ. de Bot.*, 1893, VII, S. 221.

parenchym) antrifft, müssen eine komplizierte Zusammensetzung haben. Sie lösen sich nicht in heißem Wasser und beim Kochen in Chloralhydrat. Die von Heinricher¹⁾ in *Lathraea*-Arten (Alkoholmaterial) studierten Phosphatkugeln zeigen keine Struktur und lösen sich nicht in Wasser, Chlorzinkjod, 3%iger Kalilauge und innerhalb vier Stunden in Eau de Javelle. In letzterem Reagens lösen sie sich nach 20 Stunden; in kochendem Wasser sind sie schwer und nicht völlig löslich. Hingegen sind sie schnell und leicht löslich in 1%iger Essigsäure, 1%iger Chromsäure, Pikrinsäure, verdünnten Mineralsäuren. In konz. Essigsäure lösen sich die Phosphatkugeln nur schwer. Ein Gehalt an Magnesium oder Kalzium ließ sich in ihnen nicht nachweisen. Ein eigenartiges, an die Sphärite von *Euphorbia* erinnerndes Verhalten zeigen nach Tunmann²⁾ die durch Alkohol bewirkten Fällungen in *Equisetum arvense*. Lebende Schnitte, auf dem Objektträger mit Alkohol behandelt, zeigen in den Assimilationszellen kleine Sphärokristalle; in Alkoholmaterial sind die Ausscheidungen auf Gruppen von Zellen beschränkt. Sie sind schwer löslich in warmem Wasser und Chloralhydrat. Erst bei längerem Erwärmen lösen sich größere Anteile und zurück bleibt eine ölige Masse; Essigsäure und verdünnte Schwefelsäure lösen sehr schwer, konz. Schwefelsäure läßt braune Tropfen austreten unter Bildung von Gipsnadeln. Ammoniummolybdat und Magnesiumgemisch geben positive Resultate. Die Kristalle bestehen aus Phosphorsäure, gebunden an Kalzium und an einen noch unbekannten Körper, wahrscheinlich organischer Natur. Rodier³⁾ beschreibt Sphärite im Alkoholmaterial von *Senecio vulgaris* und *cineraria* (Rinden- und Markparenchym). Sie gleichen den von Hansen in *Euphorbia caput medusae* angegebenen, haben eine radiär kristallinische Rinde und eine amorphe Zentralmasse. Letztere und die Hüllhaut sollen organischer Natur sein. Phosphor ist im Gewebe nur in geringer Menge nachweisbar. Die Kristalle sind löslich in kaltem Wasser, Essigsäure, Salzsäure, Salpetersäure ohne Gasentwicklung und geben mit verd. Schwefelsäure Gipsnadeln. Die Natur dieser Sphärite scheint doch noch fraglich zu sein. Ungemein reich an Kalziumphosphat fand Vogl⁴⁾ die unterirdischen Teile von *Dentaria enneaphylla* L. (*Cruciferae*, *Radix Saniculi*), in denen sich in

¹⁾ E. Heinricher, Anatomischer Bau und Leistung der Saugorgane der Schuppenwurz-Arten, Cohns Beitr. z. Biol. d. Pfl., 1895, VII, Sep.

²⁾ O. Tunmann, Bemerkungen über einige Kryptogamen-Drogen, Schweiz. Wechschr. f. Ch. u. Ph., 1910, XLVIII, Nr. 43.

³⁾ E. Rodier, Sur la formation et la nature des sphérocristaux, Compt. rend., 1889, CVIII, S. 906.

⁴⁾ A. v. Vogl, Üb. Rad. *Saniculi* d. Apoth., Öst. Apoth.-Ztg., 1904, XLVIII, Nr. 21.

der primären Rinde Sphärite bis zu 300 μ Durchmesser ausscheiden. Die großen Sphärite sind nun häufig mit einer dicken amorphen oder fein radial gestreiften Schale umgeben, die, „wenn nicht allein, so doch hauptsächlich Eiweißstoffe“ enthält, während nur der kristallinische Kern aus Kalziumphosphat besteht. Die Kristalle in Holz und Rinde des Teakholzes (*Tectona grandis* L.) wurden von Wiesner¹⁾ für Kalziumphosphat gehalten. Die Asche des Holzes enthält 29 % Phosphorsäure (Thoms)²⁾. Nach Kohl³⁾ bestehen die Kristalle aus Kalkoxalat, da sie sich in verdünnter und in konzentrierter Essigsäure nicht lösen.

Cobaltnitrat (1:100) kann als Hilfsreaktion beim Nachweis von Kalziumphosphat dienen. Kalziumphosphatzellen (zuweilen auch die Inhalte der Siebröhren) geben mit verd. wässriger Cobaltnitratlösung beim Aufkochen einen blauen Niederschlag. Doch muß die Gegenwart der Phosphate mit weiteren Reagentien festgestellt und die beim Einlegen in Alkohol entstehende Ausscheidung studiert werden.

Weit seltener sind bisher Ausscheidungen von **phosphorsaurer Magnesia** gefunden worden. Drusen und Sphärokristalle von Magnesiumphosphat traf Hansen⁴⁾ in frisch in Alkohol eingelegten Stengelstücken von *Saccharum officinarum* an. Die Kristalle lösen sich schwer in kaltem Wasser und in Essigsäure, besser in heißem Wasser, leicht in Salzsäure (ohne Gasentwicklung), Salpetersäure und Schwefelsäure (ohne Bildung von Gipskristallen). Magnesium wurde mit ammoniakalischer Lösung von Chlorammon und Natriumphosphat, Phosphorsäure mit molybdänsaurem Ammon nachgewiesen. Ähnliche Bildungen hat Zacharias⁵⁾ in den Siebröhren von *Cucurbita pepo* angetroffen.

Arsen (arsenige Säure).

Arsenige Säure und ihre Salze sind selbst in kleinsten Dosen für die Wurzeln höherer Pflanzen starke Gifte. Relativ unschädlich ist noch arsensaures Kali. Wahrscheinlich existieren noch weitere relativ unschädliche Arsenverbindungen, die von den Pflanzen, wenigstens in minimen Mengen, ohne Schädigung aufgenommen werden. Arsenverbindungen stehen den Pflanzen zur Verfügung in vielen Gesteinsarten (im Mergelboden Colorados), im Meerwasser (Gautier) und in Düngemitteln (Superphosphate enthalten 0,3 % Arsen, Stoklasa). Auch aus Desinfek-

¹⁾ J. Wiesner, Über die Ablagerung von kohlensaurem Kalk im Stamme dikotyler Holzgewächse, Sitzber. Wiener Akad., 1881, II, S. 7.

²⁾ G. Thoms, Landwirtsch. Versuchsstat., 1879, XXIII, S. 413.

³⁾ F. G. Kohl, Kalksalze, S. 156.

⁴⁾ A. Hansen, l. c., S. 115.

⁵⁾ E. Zacharias, Bot. Ztg., 1884, XLII, S. 65.

tionsmitteln wird Arsen aufgenommen. In den Weinkulturen benutzt man zum Bespritzen Bleiarseniat. Erfolgt die Behandlung vor dem Blühen der Reben, dann sind die reifen Trauben arsenfrei; wird nach dem Blühen mit Arsen bespritzt, dann konnten L. Moreau und Vinet (1911) in 100 g Trauben 0,4 mg Arsen nachweisen. Plato und Guth zogen *Penicillium brevicaulis* auf arsenhaltigem Agar (1:50000). Der Pilz entwickelte dabei den für Arsenverbindungen typischen Knoblauchgeruch. Nachdem Gautier (1910) Arsen als normalen Bestandteil in Meeresalgen gefunden hat, haben Tassily und Leroide (1910) folgende Quantitäten ermittelt: *Chondrus crispus* 0,070 mg, *Fucus vesiculosus* 0,010 mg, *Mousse de Corse* 0,025 mg, *Laminaria digitata* 0,010 mg, das Präparat Gelose 0,020 bis 0,025 mg Arsen in je 100 g.

Der Nachweis im Gewebe und mit Schnitten ist noch nicht versucht worden. Mit Arsenverbindungen bespritzte Pflanzen (s. ob.) müßten als Versuchsobjekte dienen. Zum makroskopischen Arsennachweis zerstörten Gautier und Bertrand¹⁾ 100 g Substanz zunächst mit 4 g Schwefelsäure und 40 g Salpetersäure, dann bis zur vollständigen Verkohlung der Masse mit Salpetersäure in der Hitze. Die fein zerriebene Kohle wird mit Wasser ausgezogen, das Wasserextrakt mit Schwefelwasserstoff behandelt und der Niederschlag im Marshschen Apparat untersucht. Die Sublimation wurde bereits von Helwig²⁾ zum mikrochemischen Nachweis benutzt, der Abbildungen und Beschreibungen der Sublimationskristalle gibt. Später benutzten Hartwich und Toggenburg³⁾ die Sublimation der arsenigen Säure und verbinden sie mit der Kapillaranalyse. Dieses Verfahren dürfte sich jedenfalls auch für Pflanzen eignen. Aus arsenhaltigen Suppen wurde kapillaranalytisch Arsen im Filtrierpapierstreifen aufgesaugt, die arsenhaltige Zone aus dem Streifen herausgeschnitten, mit Wasser ausgekocht und der wässerige Auszug eingedampft. Der mit Sand gemischte Rückstand kommt auf ein Uhrgläschen innerhalb eines aufgesetzten 1 cm hohen Glasrohres. Das Glasrohr wird oben mit einer kleinen Glasplatte geschlossen. Die Sublimation erfolgt bei kleinster Flamme. Bei Verwendung reiner Substanz lassen sich noch aus 0,01 mg Arsenigsäureanhydrid Sublimate erhalten. Das Sublimat enthält reguläre Oktaeder und Tetraeder, seltener monokline Prismen und kann in heißem Wasser gelöst und daraus mit 0,1% Silbernitrat und stark verdünntem Ammoniak in feine gelbe Nadelchen von Silberarsenit übergeführt werden. — Haushofer⁴⁾ empfiehlt zum Nachweis von Arsensäure die schwach

¹⁾ A. Gautier, Compt. rend., 1900, CXXIX, S. 936; G. Bertrand, Ann. Inst. Pasteur, 1902, XVI, S. 553.

²⁾ A. Helwig, Das Mikroskop in der Toxikologie, Mainz 1865.

³⁾ C. Hartwich und F. Toggenburg, Nachweis von arseniger Säure durch Mikrosublimation, Schweiz. Wchschr. f. Chem. u. Pharm., 1909, XLVII, Nr. 52.

⁴⁾ K. Haushofer, Mikr. Reakt., S. 15.

alkalische Lösung mit Magnesiumsulfat und Chlorammonium zu versetzen. Die Niederschläge gleichen den Kristallen von Magnesiumammoniumphosphat. In neuerer Zeit benutzt man hierzu ein Körnchen Magnesiumazetat.

Bor.

Bor ist in Spuren in Pflanzen, die auf borathaltigem Boden wachsen (Kalifornien, Italien) vielfach gefunden worden, besonders im Obst, Vitis (Kalifornien), dann in *Hedera helix*, *Humulus lupulus* u. a. In nicht zu geringen Mengen wirkt es fördernd auf das Wachstum (katalytische Düngemittel Bertrands). Große Mengen wirken giftig.

Der Nachweis im Gewebe ist noch nicht versucht worden. Da geeignetes Material nicht überall zur Verfügung steht, wird man sich die Versuchspflanzen bei borathaltiger Düngung kultivieren müssen. Der Nachweis wird bei nicht zu geringen Mengen mittels der Kurkumareaktion gelingen, wenigstens geht dieses aus dem Kurkuminnachweis (s. d.) hervor. Die Schnitte müßten in Kurkumatinktur eingetragen werden, dann wird die Flüssigkeit verjagt. In den trockenen Präparaten werden die borsäurehaltigen Zellen eine rotbraune Färbung annehmen, die Färbung wird bei Zusatz von Natronlauge vorübergehend blau werden.

Bei Auszügen wird man in gleicher Weise verfahren oder die Empfindlichkeit durch Anwendung von Kurkumaleinenfaser steigern (Empfindlichkeitsgrenze 0,0005 µg, Emich)¹⁾. Die filtrierte Abkochung von 5 g Kurkumapulver in 10 g Weingeist wird zur Trockne gebracht und der Rückstand in einigen Kubikzentimetern 50% Weingeist unter Zusatz von wenig Soda gelöst. Mit der Lösung wird gebleichte Leinenfaser (oder Baumwolle, nicht Schafwolle oder Seide) aufgeköcht. Nach der Färbung wird die Faser herausgenommen, abgepreßt, in stark verdünnter Schwefelsäure abgespült, in Wasser ausgewaschen und getrocknet vorrätig gehalten. Den mit Salzsäure angesäuerten Probetropfen läßt man nun auf dem Objektträger an einem Ende der Kurkumafaser eintrocknen; hat sich das Ende braun gefärbt, dann bewirkt Zusatz von 13% Sodalösung vorübergehend Blaufärbung.

Kohlenstoff.

Kohle.

Zum Nachweis der Kohle bedient man sich des von Wiesner²⁾ erprobten Chromsäure-Gemisches, welches, wie Zimmermann³⁾

¹⁾ J. Donau, Lieb. Ann., 1907, CCCLI, S. 426.

²⁾ J. Wiesner, Über den mikroskopischen Nachweis der Kohle in ihren verschiedenen Formen und über die Übereinstimmung der Lungenpigmente mit der Rußkohle, Sitzber. Wien. Akad., 1892, CI, 1. Abt., S. 379.

³⁾ A. Zimmermann, Ztschr. f. wiss. Mikr., 1892, IX, S. 264.

mitteilt, von Crüger in die botanische Mikrotechnik eingeführt wurde. Eine konzentrierte wässrige Lösung von Kaliumdichromat wird mit überschüssiger Schwefelsäure versetzt; dann wird soviel Wasser zugefügt, als erforderlich ist, um die sich ausscheidende Chromsäure in Lösung zu halten. Das Reagens gestattet eine Ermittlung des Grades der Verkohlung. Amorpher Kohlenstoff ist, selbst in seinen kleinsten Teilchen, völlig undurchsichtig und wird erst, ebenso wie Ruß, nach längerer Zeit von dem Chromsäuregemisch angegriffen und gelöst. Hingegen wird Braunkohle, die in kleinsten Teilchen braun gefärbt und durchscheinend erscheint, nach kurzer Zeit bis auf einen farblosen Rückstand gelöst. Dieser Rückstand läßt zuweilen die Zellstruktur deutlich erkennen und gibt Zellulosereaktion. Anthrazit besteht aus braungefärbten, durchscheinenden Körnchen, die sich im Chromsäuregemisch ohne Zelluloserückstand lösen, und aus schwarzen Teilchen, die mit der Braunkohle übereinstimmen. In der Steinkohle finden sich amorpher Kohlenstoff, Braunkohlepartikelchen und verkohlte Harze. Die Holzkohle läßt sich unterscheiden als Rotkohle (mit der Braunkohle übereinstimmend) und als Schwarzkohle (wie Rußkohle sich nur sehr schwer im Chromsäuregemisch lösend, aber noch Zellstrukturen zeigend). Graphit enthält kleine schwarze Körnchen, die selbst nach 2 Monaten im Chromsäuregemisch unverändert bleiben. — Auch starke Bleichmittel werden sich zur Diagnose eignen. Lignit wird durch Kaliumchlorat-Salzsäure bis zur blaßgelben Farbe aufgehellt (T. F. Hanausek, Kohleschicht, Sitzber. Wien. Akad., 1907, CXVI, S. 11), Kohle aber nicht (Ed. Praël, Schutz- u. Kernholz, Diss. Rostock, 1888, S. 71).

Kohlensäure und Karbonate.

Unter den Karbonatausscheidungen steht weitaus der kohlensaure Kalk an erster Stelle¹⁾. Nur in geringerer Menge finden sich andere kohlensaure Alkalisalze. Die Kalküberzüge der Potamogetonarten führen relativ große Anteile an kohlensaurer Magnesia. Die Trichome der Bohnen und Malvaceen scheiden kohlensaures Kali aus. Die meisten Hydathoden (Haberlandt) scheiden kohlensauren Kalk an die Oberfläche aus. Bei den Gesneraceen ist der subkutikulare Raum der Drüsen mit kohlensaurem Kalk erfüllt, ohne daß es zu einer Ausscheidung nach außen kommt (Solereder). Das ausgeschiedene Karbonat bildet kleine Schüppchen, überzieht auch zuweilen krustenartig die ganze Oberfläche (Wüstenpflanzen). An vielen submersen Pflanzen zeigt die Oberfläche einen Karbonatüberzug, der aber überwiegend aus dem Wasser stammt. Es sei ferner an die Kalkalgen erinnert, bei denen der Kalk nicht nur der Membran aufgelagert, sondern ihr auch eingelagert ist. Kalkeinlagerungen der Membran kommen vor-

¹⁾ Vergl. auch: Kohl, Kalksalze u. Kieselsäure, S. 98; Haberlandt, Physiolog. Pflanzenanatomie, S. 430; Solereder, Systemat. Anatomie, S. 934 u. a.

zugsweise bei Trichomen vor und werden oft von Kieselsäure begleitet (Cruciferen, Saxifragaceen, Boragineen, Compositen, Loaseen, Umbelliferen, Urticaceen u. a.). Mehr oder weniger umgebildete Trichome, die Karbonate führen, sind auch die Cystolithen (gestielt) und die cystolithenähnlichen Gebilde (ungestielt), die im Innern der Gewebe (hauptsächlich in Epidermiszellen, nicht im Holze) und in Trichomzellen (Haarcystolithen) auftreten (Urticaceen, Acanthaceen, Cucurbitaceen u. a.).

Zum Teil sind die Ausscheidungen amorph, bei *Hanburia mexicana* finden sich rhomboedrische Kristalle von Kalziumkarbonat abgelagert in den gemeinsamen Wänden einzelner Zellgruppen der Epidermis. Kristalle finden sich ferner zwischen den Rindenzellen einzelner Charen, auf den Hyphen von Pilzen, in den Blatthöhlen von *Lathraea squamaria*. Auch das Karbonat der Cystolithen ist doppelt lichtbrechend, also kristallinischer Natur. Im Zellinhalte ist kohlenaurer Kalk angetroffen worden in Form kleiner Körnchen bei Myxomyceten und bei Mucorineen, in Cotyledonen von *Urtica dioica*, in Perikarprien von *Lithospermum*, *Celtis*, *Cerinthe*, sowie im Kernholz (Gefäße, Tracheiden, Thyllen) einiger Dikotylen (*Ulmus*, *Sorbus*, *Pirus*, *Fagus*, *Salix*, *Betula* u. a.). Betreffs des Vorkommens im Kernholz möchte ich daran erinnern, daß Glykose große Mengen Kalziumkarbonat in Lösung zu halten vermag. Beim Übergang der Elemente ins Kernholz wird der Gehalt an Glykose abnehmen, so daß es zur Karbonatausscheidung kommt. — In physiologischer Hinsicht sollen die Inkrustationen einen Schutz gegen Tierfraß bedingen (Stahl), bei den Kalkalgen nach Kohl, der die Cystolithen als Kalkspeicher anspricht, mechanisch und festigend wirken. Auch die Kalkfüllungen des Kernholzes dürften festigend wirken. Durch Kalkausscheidungen, die Kohl mit der Atmung in Zusammenhang bringt, wird ein Transpirationsschutz erzielt (Volkens).

Zum Nachweis der Kohlensäure in den Ausscheidungen von Kalziumkarbonat benutzt man vorteilhaft nur konzentrierte Salzsäure. (Die hier und da empfohlene Essigsäure löst, verdünnt angewandt, zu langsam.) Man lege das Präparat in einen kleinen Tropfen Wasser, so daß nur das Präparat selbst vom Wasser bedeckt ist, und füge während der Beobachtung konzentrierte Salzsäure zu, deren Einwirkung durch seitliches Heben des Deckglases beschleunigt wird. Derart lassen sich selbst geringe Quantitäten Kohlensäure an der „Blasenbildung“ nachweisen. Liegt das Präparat in viel Wasser und erfolgt die Lösung infolge Anwendung einer schwachen Salzsäure oder einer konzentrierten Essigsäure langsam, so kommt es vor, daß die allmählich frei werdende Kohlensäure von der Untersuchungsflüssigkeit absorbiert wird und sich der Sichtbarmachung entzieht (Melnikoff)¹⁾. — Durch Glühen wird das Kalziumkarbonat in Kalziumoxyd übergeführt, verliert also die Kohlensäure; die Präparate geben mit Salzsäure keine Blasenbildung mehr. (Über Cystolithen s. Kalzium.)

¹⁾ P. Melnikoff, Untersuchungen über das Vorkommen des kohlensauren Kalkes in Pflanzen, Dissertation Bonn, 1877.

Schwefelkohlenstoff.

Über Schwefelkohlenstoff liegen nur wenige Erfahrungen vor. Jedenfalls ist er in Gasform ein giftiger Körper, und Bokorny zeigte, daß Holzpflanzen durch einen Gehalt des Bodens an Schwefelkohlenstoff geschädigt werden. Bekannt ist ferner, daß im Senföle kleinere Mengen Schwefelkohlenstoff (A. W. Hofmann) vorkommen. Diese bilden sich bei der Einwirkung von Myrosin auf das Glykosid Sinigrin (Gadamer), weil letzteres ein Molekül Wasser enthält, und Wasser Allylthiocyanat sehr leicht angreift.

Schwefelkohlenstoffausscheidungen in Gestalt stark lichtbrechender Tröpfchen fand Went¹⁾ an den Seitenzweigen des Mycel von *Schizophyllum lobatum* Bref., einem Pilze, der auf Java allgemein verbreitet ist auf toten Zweigen (Bambusen, Zuckerrohr) und einen intensiven Geruch entwickelt. Der Pilz wurde auf Zuckereptonagar gezüchtet, die Kulturflüssigkeit destilliert, das Destillat in alkoholische Kalilauge aufgefangen und makrochemisch der Schwefelkohlenstoffgehalt ermittelt durch Neutralisation mit Essigsäure und Zusatz von Kupfersulfatlösung (gelber Niederschlag von xanthogensaurem Kupfer). Eine mikrochemische Bearbeitung der Ausscheidungen fehlt noch. Der Schwefelkohlenstoff wird wahrscheinlich von kleinen Drüsen (Knötchen) ausgeschieden.

Silicium.

Kieselsäure kommt vorzugsweise in den Zellwänden vor. Ob sie nur die Membranen inkrustiert oder mit der Membransubstanz verestert ist, bleibt noch unsicher. Verkieselte Membranen zeichnen sich durch Härte und Festigkeit aus, gewähren den Pflanzen einen Schutz²⁾ und sind nach v. Mohl³⁾ noch wachstumsfähig; daher nimmt die Kieselsäure während der Entwicklung dauernd zu. Schon Sachs zeigte (an Wasserkulturen von Zea u. a.), daß sie zum Leben nicht unbedingt nötig ist. Oft tritt sie gemeinsam mit Kalziumsalzen auf, oft vertritt sie diese. Bekannt sind die Kieselpanzer der Diatomeen (Kieselgur): viele Pilze (*Secale cornutum*), Gefäßkryptogamen (*Equisetum*-Arten, reichlich 4%) und Monokotylen (Gramineen, die Asche von *Saccharum officinarum* besteht fast nur aus Kieselsäure, Cyperaceen, Palmen) führen Membrankieselsäure, ebenso zahlreiche Familien der Dikotylen⁴⁾ (Urticaceen, Aristolochiaceen, Euphorbiaceen, Compositen, Cucurbitaceen, Chrysobalanen, Burseraceen u. a.). — In der Asche von Holz und Rinde sind überwiegend nur wenige Prozent Kieselsäure, in der Cautorinde aber 98%, im Holz der Coniferen meist 10, der Cedrela-Arten oft 30—50%. — Reich an Kieselsäure sind die kutikularisierten Membranen der Epidermen und

¹⁾ F. A. Went, Schwefelkohlenstoffbildung durch *Schizophyllum lobatum*, Ber. deutsch. bot. Ges., 1896, XIV, S. 158.

²⁾ E. Stahl, Pflanzen und Schnecken, Jena 1888, S. 72.

³⁾ H. v. Mohl, Über das Kiesel skelett lebender Pflanzenzellen, Bot. Ztg., 1862, XX, S. 230.

⁴⁾ Vollständiges Verzeichnis der Dikotylen bei H. Solereder, Syst. Anat. d. Dikotyled., Ergzbd., 1908, S. 353.

Trichome (Kutikularwärzchen, Haarknoten); teils ist die gesamte Außenmembran verkieselt, teils nur bei bestimmten Zellgruppen (Grenzellen der Trichome). Stark verkieselt sind verbildete Spalten, auch der Ausführungskanal des Entleerungsapparates der Myrtaceen¹⁾. Seltener sind Korkzellen verkieselt (Liquidambar, Croton eluteria)²⁾.

Bei der Diagnose sind die Kieselmembranen bisher viel zu wenig beachtet worden; sie leisten in sehr vielen Fällen vorzügliche Dienste, so sind die Trichome der Digitalisverfälschungen (Inula-Arten, Symphytum officinale) verkieselt, Digitalistrichome nicht verkieselt³⁾. Mit Hilfe kieselhaltiger Aschenskelette konnte Cyperus esculentus im Darminhalte 6000 Jahre alter ägyptischer Mumien nachgewiesen werden⁴⁾.

Weit weniger oft finden sich Kieselsäureausscheidungen im Zellinnern. Diese können entweder frei im Zelllumen liegen oder sind, der häufigere Fall, der Zellwand an einer Stelle angeheftet (Cyperus alternifolius). Kohl hält diese „Kieselkörper“ als Konkreme von fast reiner Kieselsäure, da sie keine Zellulosereaktion geben, und führt die Bräunung beim Glühen auf anhaftende Substanzen zurück. Doch finden sich zuweilen bei den Aristolochiaceen große Kieselkörper, deren zentrale, ungeschichtete Masse nicht verkieselt ist, aber auch keine Zellulosereaktion gibt⁵⁾. Zudem ist es nicht ausgeschlossen, daß die Kieselsäure als organische Verbindung (ähnlich wie der Kohlenstoff) auftritt, wodurch sich die Bräunung beim Glühen erklären würde. Es ist auch möglich, daß Zellulose übersehen wurde (s. S. 105). Nach Kohl soll bei Kieselkörpern zuerst das Plasma verkieseln. Ausfüllung von Gefäßen und anderen Elementen des Kernholzes ist zuerst wohl von Crüger⁶⁾ bei der Stammpflanze der Cantorinde, der westindischen Chrysobalanee Moquilea, beobachtet worden, kommt auch bei einigen Verbenaceen vor. Im Rindenparenchym von Moquilea greift der geschichtete, doppelbrechende, opalisierende Kieselkörper selbst in die feinsten Tüpfelkanäle und in die Interzellularen hinein. Mohl (l. c.) fand ähnliche Bildungen nahe den Gefäßen in den Blättern von Magnolia glauca, Licania crassifolia, Davilla brasiliana, Hirtella racemosa Lam., Mirbelia nilagirica Zenk.

Kieselkörper finden sich ferner im Holzparenchym und in den Markstrahlen von Petrea volubilis; bei Petrea arborea sind auch Gefäße und Thyllen verkieselt (Crüger, l. c.). Sie kommen vor in den Blättern von Chrysobalanus icaco, Hirtella punctata Miq., Davilla radula Mart. (Mohl, l. c.), in Hymenophyllaceen (Mettenius⁷⁾), in Palmen und Moraceen (Phoenix dactylifera, Caryota urens,

¹⁾ O. Tunmann, Entleerungsapparat der Myrtaceendrüsen, Arch. d. Pharm., 1910, CCXLVIII, S. 25.

²⁾ Hockauf, Pharm. Post, 1897, XXX, Nr. 51.

³⁾ C. Hartwich u. Bohny, Apoth.-Ztg., 1906, XXI, S. 277.

⁴⁾ Fr. Netolitzky, Arch. f. Chem. u. Mikr., 1911, IV, Heft 5.

⁵⁾ Tunmann, Micania Guaco (Rhizoma Aristolochiae), Gehe's Ber., 1910.

⁶⁾ Crüger, Westind. Fragmente, Bot. Ztg., 1857, XV, S. 299.

⁷⁾ Mettenius, Abhandl. d. Kgl. sächs. Ges. d. Wissensch., 1864, VII 2, S. 419.

Rosanoff¹⁾, Treub²⁾), in den Blättern der Podostemaceen (Epidermis, subepidermale Zellen, Trichome, Cario³⁾) und in den langgestreckten Zellen nahe der Gefäße, Warming⁴⁾). Außerdem untersuchten Kieselkörper Licopoli⁵⁾ bei *Chamaerops humilis* L. und anderen Palmen, Pfitzer⁶⁾ bei Orchideen, Kohl bei Palmen, Orchideen, Scitamineen, Grob⁷⁾ bei Gramineen, Solereder⁸⁾ bei Aristolochiaceen, wo sie ein wichtiges diagnostisches Merkmal bilden. Schließlich sei noch der Kieselkörper im Holzparenchym der Dipterocarpeen, Malvaceen, Sterculiaceen, Tiliaceen, Burseraceen, Anacardiaceen, Sapotaceen gedacht, die von Bargagli-Petrucci⁹⁾ beschrieben wurden. Kieselkörper sollen auch im Milchsaft von *Antiaris toxicaria* vorkommen (Gorodetzky¹⁰⁾). Wenn auch die Kieselkörper überwiegend in Blättern auftreten, so finden sie sich doch bisweilen in Früchten und in Samen. Crüger fand Kieselkörper in der Frucht von *Scleria flagellum*. Schad¹¹⁾ beschreibt feinwarzige Körner in den Sklereiden der Samen von *Elettaria cardamomum*, Boehmann¹²⁾ und Stscherbatscheff¹³⁾ dergleichen in den Palisaden der Malvaceensamen, die vorher Lohde¹⁴⁾ als Wandverdickungen angesprochen hatte. Anderseits sollen die zuerst von Beck beschriebenen Kiesel-säure-Körperchen der Papilionaceen-Samen nach Mattiolo und Buscalioni¹⁵⁾ Reste von Zellkernen sein. Wahrscheinlich werden sich, in vielen Fällen wenigstens, Kieselkörper dort im Samen finden, wo sie in den vegetativen Teilen der betreffenden Pflanzen auftreten.

Um Hinweise auf Kieselsäure zu erhalten, kann man Vorprüfungen anstellen. Bringt man nämlich, wie Küster fand, Präparate mit Kieselkörper oder mit verkieselten Membranen in einen Tropfen Benzol,

¹⁾ Rosanoff, Über Kieselsäureablagerung in einigen Pflanzen, Bot. Ztg., 1871, XXIX, S. 749.

²⁾ M. Treub, Observations sur le Sclérenchym, Amsterdam 1877.

³⁾ Cario, Anatom. Unters. von *Tristicha hypnoides* Spreng., Bot. Ztg., 1881, XXXIX, S. 28.

⁴⁾ E. Warming, Kiselsyre dannelser hos Podostemaceae, Kjobenhavn 1881.

⁵⁾ Licopoli, Ricerch. e microchim. s. *Chamaerops humilis* L., Att. d. R. Ac. d. Science fis. e mat. di Napoli, 1881, XI.

⁶⁾ R. Pfitzer, Flora, 1877, LX, S. 245.

⁷⁾ Grob, Beitr. z. Anat. d. Epiderm. d. Gramineenblatt., Zürcher Dissertat. 1896.

⁸⁾ H. Solereder, Vergl. Anatom. d. Aristolochiaceen, Englers Jahrb., 1889, X, S. 410.

⁹⁾ Bargagli-Petrucci, Malpighia, 1902.

¹⁰⁾ Serg. Gorodetzky, *Antiaris toxicaria* in pharmakogn. u. pharmakodynamischer Hinsicht, Pharm. Ztschr. f. Rußland, 1895, S. 248.

¹¹⁾ A. Schad, Unters. über d. Malabar-Kardamomen, Berner Dissertat. 1897.

¹²⁾ F. Boehmann, Samen und Früchte, Berner Dissertat. 1901.

¹³⁾ D. Stscherbatscheff, Entw. einig. off. Pfl., Arch. d. Pharm., 1907, CCXLV, S. 48.

¹⁴⁾ Lohde, Über den Bau einiger Samenschalen, Dissertat. Leipzig 1874.

¹⁵⁾ O. Mattiolo u. L. Buscalioni, Ricerche anatomico-fisiologiche sui tegumenti seminali delle Papilionacee, Accad. di Torino, 1892, XLII².

Nelkenöl oder Phenol, so nehmen verkieselte Bestandteile einen rötlichen Glanz an¹⁾. Am besten eignet sich hierzu reines Phenol, verharztes Nelkenöl und Monobromnaphthalin. Das Präparat gelangt trocken auf den Objektträger und wird mit einer kleinen Messerspitze kristallisierten Phenols bedeckt; das Phenol wird durch gelindes Erwärmen geschmolzen, dann abgesaugt und durch Nelkenöl ersetzt. Erforderlichenfalls kann in Kanadabalsam eingeschlossen werden. Selbst schwach verkieselte zarte Membranen lassen sich auf diese Weise herausfinden. Der rote Glanz wird wahrscheinlich durch den Brechungsunterschied von Objekt und Untersuchungsmedium bedingt. Küster fand ferner, daß die Kieselkörper der Chrysobalanen Methylenblau und Gentianaviolett speichern. Die gleiche Eigentümlichkeit zeigt übrigens Tabaschir; dieser Körper wird außerdem durch Jodchloroform und Jodschwefelkohlenstoff braun (Ambronn)²⁾, ein Verhalten, welches die Kieselkörper der Chrysobalanen nicht zeigen. Hingegen nehmen die Kieselfüllungen nach dem Glühen in violetter Jodlösung ebenfalls wie Tabaschir eine braune Färbung an. Das gleiche gilt von den verkieselten Membranen der Chrysobalanaceen und auch nach Wieler³⁾ von den Kieselausfüllungen der Interzellularen des interfazikulären Grundgewebes von *Saccharum*.

Der gebräuchlichste Nachweis der Kieselsäure in Membranen oder in Zellinhalten geschieht durch Veraschung. Ist die Kieselsäure in den Membranen in größerer Menge abgelagert, dann bleiben die Präparate nach dem Glühen im Zusammenhang als sog. Kieselenskelette. Die Präparate werden am besten auf einem Glimmerplättchen über einer Spiritusflamme geglüht. Nach dem Abkühlen wird das Plättchen auf einen Objektträger gelegt, dann wird etwas Wasser zugefügt; nach dem Auflegen eines Deckglases wird das Präparat mikroskopisch durchmustert. Es hält nun schwer, durch Glühen allein rein weiße Rückstände zu erzielen. Gewöhnlich sind gleichzeitig mehr oder weniger große braune oder schwarze Anteile von verkohlten Produkten zugegen. Es ist daher bei allen Objekten ratsam, den Glühprozeß durch die Wirkung von Säuren zu unterstützen. Die Präparate werden auf dem Glimmerplättchen in konzentrierter Salzsäure erhitzt, dann wird geglüht, der Asche nochmals ein Tropfen Salzsäure zugefügt und vorsichtig weiß ge-

¹⁾ E. Küster, Über Kieselablagerungen im Pflanzenkörper, Ber. deutsch. bot. Ges., 1897, XV, S. 136 und: Die anatomischen Charaktere der Chrysobalanen, Bot. Zentralbl., 1897, LXIX, S. 46.

²⁾ H. Ambronn, Mitt. an Küster, Ber. deutsch. bot. Ges., 1897, XV, S. 137.

³⁾ A. Wieler, Beiträge zur Anatomie des Stockes von *Saccharum*, Fünftücks Jahrb., 1897, II, 1.

brannt. Die Veraschung mit Salzsäure ist bei kieselsäurearmen Objekten, wie bereits Zimmermann¹⁾ angibt, dem Verfahren von Sachs vorzuziehen. Letzteres besteht darin, daß die Schnitte auf dem Glimmerplättchen in einem Tropfen konzentrierter Schwefelsäure geglüht werden. — Übrigens lassen sich störende Verkohlungsreste aus den Kiesel skeletten oft durch vorsichtiges Durchsaugen von Salpetersäure entfernen.

Auf Anregung von Sachs beschäftigte sich Miliarakis²⁾ mit dem Nachweis und der Herstellung von Kiesel skeletten. Seine Methode kombiniert die 1863 von Pollender zu gleichem Zwecke vorgeschlagene Chromsäure mit konz. Schwefelsäure. Das zu untersuchende Material wird in toto in einem Becherglase mit konz. Schwefelsäure behandelt, bis es schwarz geworden ist, oder falls zarte Blätter vorliegen, bis diese durchsichtig geworden sind. Nun wird eine 20%ige wässrige Chromsäurelösung zugefügt. Die Pflanzenstücke zerfallen unter heftiger Gasentwicklung. Nach Beendigung der Gasentwicklung wird mit destilliertem Wasser aufgefüllt, absetzen gelassen und nach vorsichtigem Abgießen der Flüssigkeit der pulverige Bodensatz in Untersuchung genommen. Im allgemeinen wird man die Reaktion auf dem Objektträger vornehmen und Präparate und nicht Pflanzenstücke verwenden. Die Schnitte kommen unter Deckglas in konzentrierte Schwefelsäure, nach einiger Zeit wird 20% Chromsäure zugefügt, schließlich eine konzentrierte Chromsäurelösung, dann wird mit Wasser, event. mit Alkohol vorsichtig ausgewaschen.

Bei diesem Verfahren ist eine Glasbildung, bestehend aus Produkten der Kieselsäure mit Kalk-Magnesia-Salzen, die bei dem Glühen in Schwefelsäure auf Platinblech oder dem Glimmerplättchen häufig zu beobachten ist und welche die feinere Struktur der Skelette verwischt, ausgeschlossen. Andererseits wurde schon von Miliarakis, besonders aber von Kohl³⁾ hervorgehoben, daß das Verfahren nur bei starker Verkieselung zusammenhängende Skelette liefert, während zarte Kiesel skelette völlig aufgelöst werden. Um diesen Übelstand zu vermeiden, hat man nur nötig, mit dem Chromsäurezusatz vorsichtig zu sein und bei geringen Mengen Kieselsäure die Reaktion stets unter Deckglas vorzunehmen. Man setzt nach Einwirkung der Schwefelsäure zunächst eine 5%ige Chromsäurelösung zu, wäscht nach 1—2 Stunden mit

¹⁾ A. Zimmermann, Mikrotechnik, S. 53.

²⁾ Spyridion Miliarakis, Die Verkieselung lebender Elementarorgane bei den Pflanzen, Dissertation Würzburg 1884.

³⁾ F. G. Kohl, Anatomisch-physiologische Untersuchung der Kalksalze und Kieselsäure, Marburg 1889, S. 226.

Wasser aus und kontrolliert den Erfolg unter dem Mikroskop. Bei zu schwacher Einwirkung erfolgt nochmaliger Zusatz einer stärkeren Chromsäurelösung. Man gelangt derart stets zum Ziele. Die Reaktion ist bei einiger Übung leicht auszuführen und liefert, im Gegensatz zu dem Veraschungsverfahren, Präparate, die frei von störenden Verkohlungsresten sind.

Es war oben die Vermutung ausgesprochen, daß bei den der Wand anhaftenden, ins Zellumen hineinragenden Kieselkörpern die Zellulosegrundsubstanz (entgegen der Ansicht von Kohl) zuweilen übersehen worden ist. Bei *Cyperus alternifolius* (Blattepidermis) schlug Zimmermann¹⁾ zur Erkennung der Zellulose das von Mohl (a. a. O.) benutzte Verfahren ein. Ein Platintiegel wird mit 3 g Flußspat und 5 ccm konzentrierter Schwefelsäure beschickt. Darauf wird ein mit Wasser gefüllter Platinlöffel eingestellt, welcher die Schnitte enthält. Das Ganze gelangt auf einen Paraffinofen bei etwa 65°. Nach drei Stunden ist die Kieselsäure gelöst, denn das die Schnitte enthaltende Wasser hat genügend Flußsäure zur Lösung der Kieselsäure aufgenommen. Nach dem Auswaschen färbte Chlorzinkjod das Zellulosegerüst blau.

Bei sehr zarten und kieselsäurearmen Blättern (Rubiaceen) verkohlt Netolitzky²⁾ die Schnitte nur, laugt mit destilliertem Wasser die das Schmelzen begünstigenden Alkalien aus, fügt Salzsäure zu, verjagt diese und untersucht in Wasser und nach völligem Eintrocknen. Die Skelette lassen sich mit Methylenblau färben. Auch mit Safranin, ebenfalls in essigsaurer oder neutraler Lösung, kann gefärbt werden. Beide Farbstoffe färben nur die Kieselsäure und nicht Tonerde und Kalk³⁾. Mit dieser Methode habe ich recht gute Erfahrungen gemacht und konnte sie auf dem Deckglase durchführen, wenn die Präparate in eine Ecke desselben gebracht wurden.

In vielen Fällen begnügt man sich mit den angeführten Reaktionen, zumal dann, wenn der Aschenrückstand weiß und unlöslich in Schwefelsäure ist. Besteht das Kieselskelett aus reiner Kieselsäure, dann darf es sich nur in Fluorwasserstoffsäure lösen. Die Reaktion mit dieser Säure ist umständlich, erfordert mehrere Vorsichtsmaßregeln und ein subtiles Arbeiten. Zunächst muß das Objektiv geschützt werden, indem

¹⁾ A. Zimmermann, Über eigenartige verkieselte Membranverdickungen im Blatte von *Cyperus alternifolius*, Beitr. z. Morph. u. Physiol. d. Pflanzenzelle, 1893, Heft III, S. 306.

²⁾ F. Netolitzky, Verkieselungen bei den Rubiaceae Galieae, Öster. bot. Ztschr., 1911, LXI, Nr. 11.

³⁾ S. Keisermann, Kolloidchem. Beih., I, S. 423. — Haushofer empfahl bereits Fuchsinlösung zum Nachweis der amorphen, gelatinösen Kieselsäure, Mikr. Reakt., 1885, S. 121.

man diesem mittels Kanadabalsam ein Stückchen Gelatine (Gelatina alba, Handelsware) aufklebt. Flußsäure ätzt bekanntlich Glas, kommt in Kautschukflaschen in den Handel, läßt sich auch in Merckschen Perhydroflaschen aufbewahren und wird mit Platindraht auf den Objektträger gebracht. Letzterer wird durch eine dünne Schicht Kanadabalsam, Leim, geschmolzenen Paraffins oder Vaseline geschützt. Kärner¹⁾ legt zum Schutz auf den Objektträger ein Stück durchsichtigen Waschbarchentstoff, das vorher durch Reiben mit den Händen etwas erwärmt und geglättet wurde. Man kann auch den Objektträger mit einer dünnen Wachsschicht (Cera alba) überziehen. Rein weiße Kieselskelette lösen sich in Flußsäure innerhalb kurzer Zeit auf. In der durch Flußsäure bewirkten Lösung des Kieselskelettes ruft Zusatz von Natriumchlorid Bildung von Kieselfluornatrium-Kristallen hervor. Da aber das Abheben des Gelatine-Deckplättchen schwer durchführbar ist, so fügt man der Kieselsäure-Asche von vornherein Flußsäure zu, die mit etwas Natriumchlorid versetzt ist, und läßt langsam abdunsten. Die Kieselfluornatrium-Kristalle sind hexagonale Prismen, Pyramiden, Tafeln, sechsstrahlige Sterne und Rosetten²⁾.

Kalium.

Kalium gehört zu den für höhere Pflanzen unentbehrlichen Elementen. Im Samen ist es hauptsächlich im Embryo und im Nährgewebe enthalten. Der Kaligehalt der Asche der Samen beträgt meist über 20%, selten weniger (Piper nigrum 7%). In der Rinde nimmt der Prozentgehalt mit dem Alter überwiegend ab, doch erscheint es fraglich, ob diese Abnahme auch eine absolute ist. Die Rindenasche führt durchschnittlich 3–8% Kali. Kalireich sind die Rinden der Chinchonen (Zweigrinden) und von Daphne mezereum, arm an Kali die von Ulmus Corylus u. a. Im Holze zeichnet sich der Splint durch hohen Kaligehalt aus. In der Asche des Holzes finden sich 15–25%, doch auch 30–45% Kali (Abies pectinata, Quercus). Reich an Kali sind die Blätter (30–55%), vornehmlich die jugendlichen, später ist die Zunahme anderen Mineralstoffen gegenüber im allgemeinen gering. Über die Rolle des Kaliums im Stoffwechsel liegen erwiesene Befunde nicht vor, doch ist man allgemein der Ansicht, daß es sich an den wichtigsten Umsätzen und Vorgängen der Zellen beteiligt (beim Abbau und Aufbau des Eiweißes und beim Zustandekommen des Turgors, beim Abbau der Kohlehydrate, also bei der Atmung). Weevers hat gezeigt, daß die Hauptmenge in den Vakuolen auftritt und daß das Cytoplasma gleichfalls Kaliumionen führt, während Zellkern, Chromatophoren, Chlorophyll kein Kalium enthalten (von

¹⁾ W. Kärner, Über den Abbruch und Abfall pflanzlicher Behaarung und den Nachweis von Kieselsäure in Pflanzenhaaren, Nova Acta Acad. Leop.-Carol., 1889, LIV, S. 219.

²⁾ K. Haushofer, Mikroskopische Reaktionen, Braunschweig, 1885, S. 98.

Stoklasa wird Kalium im Chlorophyll angegeben). Kalireich sind Reservestoffbehälter, Vegetationspunkte, Siebteil und Parenchym (im Holz die Markstrahlen), arm an Kalium die wasserleitenden Elemente. — Den Cyanophyceen fehlt Kalium.

Der Kaliumnachweis in den Präparaten hat einmal mit der Menge des anwesenden Kaliums zu rechnen und ist auch in einigen Fällen von der Art der Bindung desselben abhängig. Große Quantitäten von Kalium führen sinigrinhaltige Objekte, in denen neben den Nitraten, Sulfaten und Chloriden des Kaliums auch das glykosidische Kalium in Reaktion tritt. Sinigrin führende Präparate können daher, neben dem Mesophyll der meisten Blätter, Siebteilen, Endosperm als erste Übungsobjekte dienen. Legt man einen Schnitt der Meerrettigwurzel trocken

auf den Objektträger und fügt Platinchlorid hinzu, so entstehen momentan reguläre Oktaeder von Kaliumplatinchlorid, sowohl in den Zellen (Sinigrinzellen) als auch auf dem Präparate und im Beobachtungstropfen. Würfel entstehen selten; bei den Oktaedern fällt es auf, daß viele nur auf einer Hälfte zur Ausbildung gelangen. Auch Kombinationen von regulären Würfeln und Oktaedern sind nicht selten (Fig. 26). Häufig treten verzernte Formen von sechseitigem Umriß auf. Die Kristalle lösen sich unter Deckglas schwer in Wasser und in Alkohol, erst bei wiederholtem Durchsaugen von Wasser

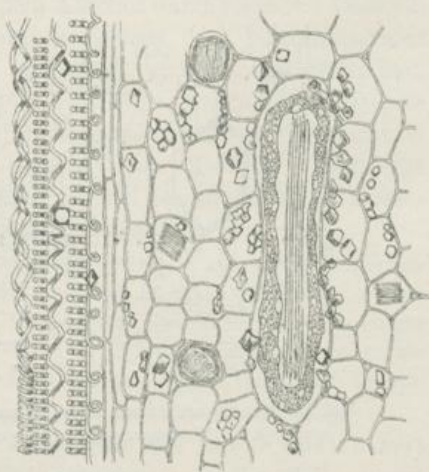


Fig. 26. *Urginea maritima* (Zwiebelblatt, Längsschnitt), Kaliumnachweis mit Platinchlorid (Tunmann).

werden sie angegriffen. Sie vertragen ferner Zusatz von Glycerin, lösen sich aber in Chloralhydratlösung, sowie in warmem Wasser. Gegenwart größerer Mengen von Pflanzensäure erschwert die Kristallisation. Außer dem Kalium treten zugleich die etwa anwesenden Salze von Rubidium, Caesium und Ammonium in Reaktion. Zu berücksichtigen sind in der Praxis nur Ammoniumverbindungen. Von der Anwesenheit etwaiger Ammoniumverbindungen hat man sich mit dem Nesslerischen Reagens zu überzeugen; auch kann man die Platinchloridverbindungen des Kaliums von denen des Ammoniums mit Hilfe der Borodinschen Methode unterscheiden. Um aber bei der Reaktion Ammoniumverbindungen sicher auszuschließen, muß man die Präparate veraschen. Die Asche wird nach dem Vorgange Schimpers in einen

Tropfen angesäuerten Wassers gelöst, bis zum Trocknen erwärmt und vor oder nach dem Erkalten Platinchlorid zugesetzt. Selbstverständlich muß das Platinchlorid auf Reinheit geprüft werden, vor allem frei von Kalium sein. Im wässerigen Auszug der Asche scheiden sich häufig große Würfel aus, die Chlorkalium darstellen. Bringt man einen Tropfen Platinchlorid daneben und führt vorsichtig mit dem Platindraht eine Spur davon zum Kristall, so zerfällt dieser sofort in ein Haufwerk roter Körnchen.

Meist ist der Kaliumgehalt der Präparate ein geringer. Man erwärmt dann die Präparate auf dem Objektträger bis zum Eintrocknen und tropft auf den noch warmen Objektträger Platinchlorid auf. Auch bei Wurzelausscheidungen kann man Kalium direkt nachweisen, indem

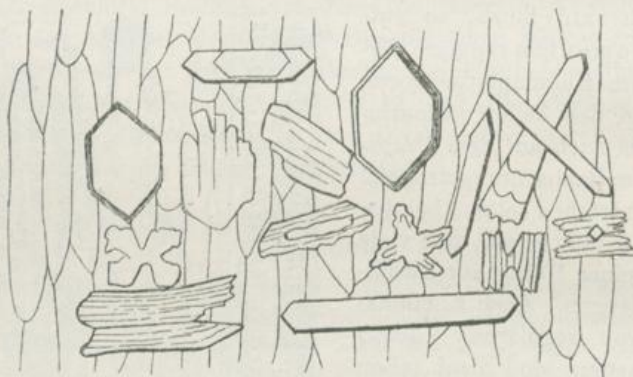


Fig. 27. *Cochlearia armoracia* (Wurzel, Längsschnitt des Markes), Kaliumnachweis mit Weinsäure und nachfolgendem Alkoholzusatz (Tunmann).

man die Flüssigkeit verdunsten läßt, einen Tropfen Platinchlorid zufügt und bedeckt (Czapek)¹⁾. In dem Rückstand des Sekretwassers von Phaseolus- und Malvaceenblättern wies Nestler²⁾ Kalium mit verdünnter Salzsäure als Chlorkalium sowie mit Platinchlorid nach; wahrscheinlich tritt dort kohlen-saures Kali auf, denn der Rückstand, der federartige Bildungen zeigt, ist sehr hygroskopisch und bei Zusatz von Salzsäure erfolgt starke Gasentwicklung. In Glyzerinpräparaten scheiden sich bisweilen Kaliumkristalle aus. Belzung³⁾ stellte derart bei Cucurbita pepo stäbchen- und tafelförmige Kaliumnitratkristalle fest.

¹⁾ Fr. Capek, Zur Lehre v. d. Wurzelaussch., Jahrb. f. wiss. Bot., 1896, XXIX, S. 321.

²⁾ A. Nestler, Die Sekrettropfen an den Laubblättern von Phaseolus multiflorus Willd. u. d. Malvaceen, Ber. d. bot. Ges., 1899, XVII, S. 332.

³⁾ E. Belzung, Sur divers principes issus de la germ. et leur crist. intercellul., Journ. de Bot., 1892, VII, S. 49.

Bisweilen liefert eine wässrige Weinsäurelösung (1:10) gute Dienste. Es bilden sich hexagonale Täfelchen, Platten und Schollen von Kaliumtartarat (Fig. 27). Der Weinsäurelösung bediente sich beispielsweise Guignard beim Nachweis des myrsonsäuren Kaliums (s. Senfölglykoside). Anwesende Ammoniumverbindungen treten gleichfalls in Reaktion, können aber durch Veraschen der Präparate ausgeschlossen werden. Gleichzeitig wird Natrium mitgefällt. Trotzdem läßt sich die Reaktion zum Kaliumnachweis auch bei Schnitten verwenden, wenn man die von Schoorl¹⁾ bei reinen Substanzen gemachten Erfahrungen berücksichtigt. Das in Weinsäure liegende Präparat wird bis zum Kochen erhitzt, der noch heißen Lösung am Deckglasrande Alkohol zugesetzt, dann werden einige Tropfen Alkohol durchgesaugt. Dadurch wird sämtliches Kalium als Tartarat ausgefällt, das Natriumtartarat aber entfernt. Eine Lokalisation ist jedoch nicht zu ermitteln und, wie ich finde, selbst in der Kälte nicht. Die Kristalle polarisieren lebhaft (die typischen tiefblau und goldgelb) und lösen sich nicht in alkoholischer Chloralhydratlösung (gehen zum Teil in federartige Skelette über). Chloralalkoholat kann somit bei vorsichtigem Zusatz zum nachträglichen Aufhellen der Schnitte dienen.

Einige Kaliumsalze zeigen in Farbstofflösungen ein recht charakteristisches Verhalten. Kaliumsulfat scheidet in einer Lösung von Bismarckbraun fasrige, stark dichroitische Kristalle ab, Kalisalpetert bildet in Nigrosinlösungen violette dichroitische Säulen (Retgers)²⁾. Das Verfahren muß erst näher bei pflanzlichen Präparaten ausprobiert werden. Einige Objekte, die stark kaliumhaltig waren, gaben nur einen feinkörnigen oder flockigen Niederschlag.

Die empfindlichste Reaktion ist jedoch die mit Kobaltnitrit resp. mit Kobaltnitrat, die zum Kaliumnachweis in der Zelle zuerst von Macallum³⁾, in ausgedehnter Weise neuerdings von Weevers⁴⁾, benutzt wurde. 20 g Kobaltnitrat und 25 g Natriumnitrit werden in 10 ccm Eisessig und 65 ccm Wasser gelöst. Nach Beendigung der Stickstoffperoxydbildung wird auf 100 ccm aufgefüllt, mehrere Stunden absetzen gelassen (hierbei scheidet sich ev. im Natriumnitrit vorhanden gewesenes Kalium ab) und filtriert. Diese Natriumkobaltnitritlösung gibt mit Kaliumsalzlösungen einen feinen kristallinen gelben Niederschlag von Kaliumkobaltnitrit, der im Gewebe jedoch meist schwer zu

¹⁾ N. Schoorl, Beitr. z. mikrochem. Analyse, Wiesbaden, Sep. aus Ztschr. f. analyt. Chem., 46.—48. Bd.

²⁾ J. W. Retgers, Über die künstl. Färb. v. Krist. org. Körp. mittels org. Farbst., Ztschr. f. phys. Chem., 1893, XII, S. 600.

³⁾ A. B. Macallum, Journ. of physiol. 1905.

⁴⁾ Th. Weevers, Unters. über die Lokalisation und Funktion des Kaliums in der Pflanze, Rec. d. Trav. botan. Néerl., 1911, VIII, S. 289.

erkennen ist. Um den Niederschlag deutlich erkennen zu können, wird er in schwarzes Kobaltsulfid übergeführt. Kaliumkobaltnitrit löst sich leicht in Wasser von Zimmertemperatur, ist aber in Eiswasser (1—4°) unlöslich. Die Präparate, die einige Minuten in der Natriumkobaltnitritlösung gelegen hatten, werden daher mit Eiswasser ausgewaschen (zur Entfernung des überschüssigen Reagens) und dann in ein Gemisch von gleichen Teilen Glyzerin und Ammoniumsulfid übertragen (letzteres kann man durch Einleiten von Schwefelwasserstoff in Ammoniaklösung, spez. Gew. 0,96, leicht selbst herstellen). Auf diese Weise ist das schwer erkennbare gelbe Kaliumkobaltnitrit am Orte seiner Fällung in

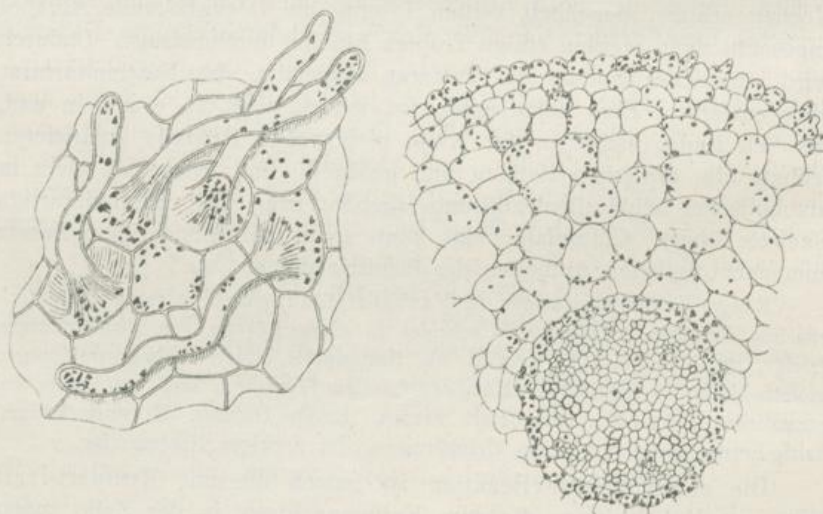


Fig. 28. *Orchis spec.* (2 mm starke Wurzel, Epidermis und Querschnitt). Kaliumnachweis mit Kobaltnitrat, Umsetzung des Niederschlages mit Ammoniumsulfid in Kobaltsulfid, welches eingezeichnet ist (Tunmann).

das schwarze kristallinische Kobaltsulfid übergeführt. Im allgemeinen durchdringt die Natriumkobaltnitritlösung schnell die Zellmembran, anderenfalls läßt sich das Eindringen des Reagens durch Erwärmen auf 60—70° beschleunigen. Fast stets entsteht die Fällung im Cytoplasma (auch in plasmolysierten Zellen), sehr selten in den Zellsaftvakuolen, doch ist diese Lokalisierung eine sekundäre Erscheinung und zeigt die Berührungszone der in Reaktion tretenden Flüssigkeiten an. Im allgemeinen ist die Fällung in der Zelle gleichmäßig verteilt; findet an einer Stelle eine Anhäufung statt (Spitzen der Wurzelhaare), so beruht diese auf dem leichteren Eindringen des Reagens an der betreffenden Stelle (Fig. 28).

Natrium.

Über die Aufgabe des Natriums sind wir erst mangelhaft unterrichtet. Das Kalium kann Natrium nicht ersetzen. Typische Natronpflanzen (*Salsola*) können auch bei Abwesenheit von Chlornatrium zu normalen Pflanzen erzogen und zur Fruchtbildung gebracht werden. Selbst bei Landpflanzen ist der Natriumgehalt sehr vom Boden abhängig und weist große individuelle Schwankungen auf. Am reichlichsten findet sich Natrium in der Asche der Blätter, weit weniger ist in Rinde und Holz zugegen, relativ mehr im Splint, und auch die Samen- asche führt selten mehr als 2%. Nach Osterhouts Untersuchungen¹⁾ ist Natrium den Pflanzen als Schutzstoff nützlich, für manche Meeresalgen als Schutzstoff unentbehrlich.

Zum Nachweis von Natrium bedient man sich einer konzentrierten wässerigen Lösung von Uranylazetat (Streng, Schimper)²⁾. Der Schnitt gelangt direkt in das Reagens, das Präparat wird aber nicht mit dem Deckglase bedeckt, sondern vor Staub geschützt zum Eintrocknen hingelegt, event. im Exsikkator nachgetrocknet. Bei Gegenwart von Natrium scheiden sich typische Kristalle von Natrium-Uranylazetat aus. Die kleineren Kristalle sind farblos, die größeren schwach gelb; es sind Tetraeder und Rhombendodekaeder, die im polarisierten Lichte nicht leuchten und sich leicht von dem gleichfalls ausscheidenden Reagens (Uranylazetat, große rhombische tafelartige Gebilde, die bei gekreuzten Nicols leuchten) scharf abheben (Fig. 29). Die Kristalle der Natriumverbindung zeichnen sich durch ihre dunklen Flächen aus; nach längerem Liegen an der Luft erscheinen sie bei durchfallendem Lichte fast schwarz. Zuweilen ist es ratsam, die Schnitte zuvor mit einer Spur Essigsäure zu befeuchten. Bei Anwesenheit von Magnesium resultieren keine Tetraeder, sondern

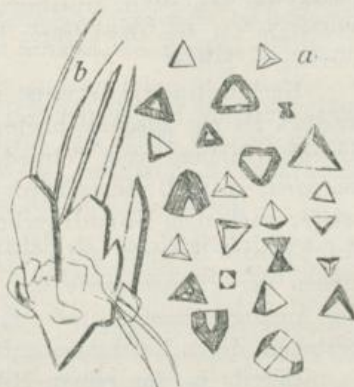


Fig. 29. Natriumnachweis, a) Kristallfällungen mit Uranylazetat in Schnitten von *Fucus spec.*, b) ausgeschiedenes Uranylazetat (Tunmann).

¹⁾ W. J. V. Osterhout, Die Schutzwirkung des Natriums für Pflanzen, *Jahrb. f. wiss. Bot.*, 1909, XLVI, S. 121.

²⁾ A. Streng, Über eine neue mikroskopisch-chemische Reaktion auf Natrium, *Ztschr. f. wiss. Mikr.*, 1884, I, S. 129 und: A. F. W. Schimper, Zur Frage der Assimilation der Mineralsalze durch die grüne Pflanze, *Flora*, 1890, LXXIII, S. 215.

rhomboedrische Kristalle von Uranylmagnesium-natriumazetat. Daher läßt sich auch Uranylmagnesium-azetat als Reagens verwenden. Vorwiegend entstehen die Fällungen außerhalb der Zellen.

Uranylazetat muß frei von Natrium sein. Wenn das Reagens gegenwärtig auch von Merck, Kahlbaum u. a. in vorzüglicher Beschaffenheit zu beziehen ist, so scheint immerhin eine Prüfung auf Reinheit nicht überflüssig zu sein. Spuren von Natrium werden entfernt, indem man Uranylazetat in absolutem Alkohol löst, die Lösung filtriert und eindampft. Ein reines Präparat erhält man ferner, wenn man die Lösung der Handelsware mit Schwefelammonium füllt, das gebildete Schwefeluran gut auswäscht, in Essigsäure löst und das sich abscheidende Uranylazetat umkristallisiert. Zum Aufbewahren der Uranlösung lassen sich mit Vorteil Mercksche Perhydroflaschen verwenden, da die Lösung aus dem Glase des Gefäßes leicht Natrium aufnehmen kann. Am einfachsten ist es, die erforderliche Lösung aus dem gelben kristallinen Pulver in einem Tropfen stark verdünnter Essigsäure auf dem Objektträger jedesmal frisch zu bereiten und keine Lösung vorrätig zu halten.

Nach Schoorl¹⁾ erweist sich in der Chemie Ammoniumuranylazetat als ein ausgezeichnetes Reagens, welches noch 0,01 μ g Natrium anzeigt (Bildung von Tetraedern). Ist aber gleichzeitig viel Kalium zugegen, so muß dieses zuvor entfernt werden. Die Kristalle können weiter nach dem Borodinschen Verfahren identifiziert werden. In der Asche wird Natrium auf gleiche Weise nachgewiesen. Nach dem Ausziehen der Pflanzenasche mit Wasser scheiden sich beim Eintrocknen des Auszuges häufig große farblose Würfel ab, die aus Chlornatrium bestehen, deren Natrium ebenfalls mit Uranylazetat nachgewiesen wird.

Bereits in der reinen Mikrochemie ist der sichere Nachweis des Natriums schwierig. Im Gewebe wird er oft unmöglich und man muß zum Veraschen greifen und mit Uranlösung prüfen. Die anderen Reaktionen versagen überwiegend, da stets Kalium mitgefällt wird und die beim Eintrocknen sich ausscheidenden Kristalle der Kalium- und Natriumverbindungen wenig charakteristisch ausfallen und morphologisch kaum zu unterscheiden sind. Als Hilfsreaktion läßt sich, wenn auch nicht immer mit gleichem Erfolg, Platinchlorid verwenden. Während die typischen kleinen Kristalle von Kaliumplatinchlorid (S. 107) sich bereits im Reagenztropfen abscheiden, bilden sich die weit größeren, flachen, schief auslöschenden Tafeln und Prismen von Natriumplatinchlorid erst nach Verdunsten der Lösung.

Ammonium

Als Stickstoffquelle für die jedenfalls in den grünen Laubblättern vor sich gehende Eiweißsynthese kommen neben den Nitraten des Bodens auch Ammonium-

¹⁾ N. Schoorl, Chem. Weekbl., 1911, VIII, S. 266.

salze in Betracht, die in den wasserleitenden Geweben in die Blätter geleitet werden. Gegenüber den Ammoniumverbindungen des Bodens sind die Ammoniakquantitäten der Luft von untergeordneter Bedeutung. Doch sollen (A. Mayer und L. Koch) die Blätter kleine Mengen Luftammoniak aufnehmen können. Daß die Wurzelhüllen der Orchideen Luftammoniak aufnehmen, war bereits älteren Untersuchern bekannt, und für *Odontoglossum Barkeri* hat Goebel (1889) die Absorption von Luftammoniak experimentell nachgewiesen. Im allgemeinen ist aber die Aufnahme von Ammoniumverbindungen recht gering, größere Mengen nehmen nur säureliebende Pflanzen, besonders Sumpfpflanzen, auf¹⁾. Andererseits wird bei der Spaltung der Eiweißkörper durch proteolytische Enzyme neben Monoaminosäuren und Hexobasen Ammoniak gebildet. In Keimpflanzen (*Pisum*, *Cucurbita*, *Lupinus*) wird Ammoniak wahrscheinlich zur Bildung von Asparagin und Glutamin verbraucht. Ammoniumsalze müssen vornehmlich im Stengel zu gegen sein; Anhäufung von Ammoniak scheint aber für die Pflanze nicht günstig zu sein²⁾. Bei Pilzen ist Ammoniakbildung experimentell festgestellt, bei Schimmelpilzen aus Aminosäure, bei *Azotobakter* aus Nitraten, bei *Bacillus subtilis* aus Nitriten.

Eine eingehende mikrochemische Untersuchung über die Ammoniumverbindungen steht noch aus. Man bedient sich meist des von Strasburger³⁾ zuerst für mikrochemische Zwecke benutzten Nesslerischen Reagens, welches freies und gebundenes Ammoniak anzeigt.

Die Zusammensetzung des Reagens schwankt etwas. Nach Strasburger wird Jodkalium und Quecksilberchlorid in etwas Wasser gelöst, das gebildete rote Quecksilberjodid durch überschüssiges Kaliumjodid in Lösung gebracht und der Lösung einige Tropfen reiner Kalilauge zugesetzt. Benutzt man das Nesslerische Reagens in der Zusammensetzung, wie es in der Chemie Anwendung findet (am besten nach E. Schmidt⁴⁾, 2,0 g Jodkalium, 5,0 g Wasser, 3,2 g Quecksilberchlorid oder soviel, daß beim Erwärmen etwas ungelöst bleibt; nach dem Erkalten wird die Lösung mit 20,0 g Wasser verdünnt, filtriert und mit 40,0 g Kalilauge — 13,4 g Kalium causticum und 26,6 g Wasser — versetzt, dann fallen die Reaktionen etwas abweichend aus, denn durch den Kalilaugeüberschuß geben die Ammoniumsalze Ammoniak frei, der nun neben dem freien Ammoniak in Reaktion tritt.

Bei Gegenwart geringer Mengen Ammoniak entsteht mit Nesslerischem Reagens sofort eine gelbe Färbung, die (und dies ist zu beachten) in einiger Zeit in eine gelbliche Fällung übergehen muß, jedenfalls nicht, ohne ein körniges Gerinnsel zu hinterlassen, verschwinden darf.

¹⁾ P. Ehrenberg, Mitt. landw. Inst. Breslau, 1907, IV, S. 254.

²⁾ Zalewski, Ber. bot. Ges., 1907, XXV, S. 357; Schulze, Loew, Castoro u. a.

³⁾ E. Strasburger, Bot. Praktikum, III. Aufl., 1897, S. 141. — M. Molliard, Sur la formation d'ammoniaque par les tissus végétaux privés d'oxygène, Bull. Soc. bot. de France, 1909, LVI, S. 332.

⁴⁾ E. Schmidt, Pharm. Chemie, 1898, I, S. 133.

Bei Anwesenheit größerer Mengen folgt der Gelbfärbung innerhalb weniger Minuten ein brauner Niederschlag. Versuchsobjekte sind die Stengel der *Helianthus*-Arten, vorzüglich das persistente periphere Markparenchym. Hier läßt sich die Reaktion mit bloßem Auge verfolgen, wenn man den Objektträger über eine weiße Unterlage hält. Durch weitere Reduktion wird die braune Fällung nach einiger Zeit in ein dunkles Gerinnsel übergeführt, das makroskopisch grau, mikroskopisch schwarz erscheint. Der flockig-körnige Niederschlag sammelt sich an den Zellwänden an. Der Nachweis mit dem Nesslerischen Reagens ist keineswegs eindeutig. Nickel²⁾ zeigte, daß viele organische Verbindungen die gleiche oder doch eine ähnliche Reaktion geben.



Fig. 30. *Helianthus annuus* (Mark). Fällungen bei Alkoholzusatz, zum Teil Ammoniumsalze; rechts zwei nativ vorkommende Oxalate (Tunmann).

Zuweilen bestehen Unterschiede in der Endphase der Reaktion. In vitro werden Aldehyde rotbraun, zuletzt grau, Ammoniaksalze aber anfangs gelb, schließlich gelbbrot. Im Gewebe können auch Saponine¹⁾, selbst Zucker Anlaß zu Irrtümern geben. Auf die Gelbfärbung ist ebenfalls wenig Gewicht zu legen, denn Hesperidin wird durch den Alkaligehalt des Reagens mit intensiv gelber Farbe gelöst.

Läßt man auf frische Schnitte von *Helianthus*-Stengel Alkohol einwirken, dann scheiden sich innerhalb weniger Minuten zahlreiche Kristalle aus, teils kleine Stäbchen und Tafeln, teils X-förmige Skelette, die sich zu drusenförmigen Gebilden vereinen. Zuweilen kommt es zur Bildung federartiger Kristallgruppen, die sich in einigen Zellen anhäufen. Diese Kristalle, die sich leicht in Wasser lösen, reagieren positiv mit Nessler. Sie bestehen wahrscheinlich aus Ammoniumsalzen (Fig. 30). Alkohol käme somit beim Ammoniumnachweis als Hilfsreaktion in Betracht. Tragen wir die Präparate statt in Alkohol direkt in eine alkoholische Lösung von Nigrosin ein, dann erscheint eine Anzahl der Kristalle mehr oder weniger bläulich bis violett. Ein Teil der Kristalle bleibt farblos, ebenso das nativ auftretende Kalziumoxalat.

¹⁾ E. Nickel, Die Farbenreaktionen der Kohlenstoffverbindungen, Berlin 1890.

²⁾ Bei Saponinpflanzen ist nach eigenen Erfahrungen Nessler's Reagens wenig brauchbar.

Diese Reaktion stimmt mit den Befunden von Retgers¹⁾ überein, nach dem Ammoniumnitrat den Farbstoff aus Indulin- und Nigrosinlösungen aufnimmt. Im Gewebe fällt die Reaktion nicht so klar aus, wie mit reinen Substanzen, da sich andere Körper mehr oder weniger mitfärben.

Mit Weinsäure hat Dębski²⁾ in Marantaceen Ammonium nachgewiesen.

Bei der Unsicherheit der genannten Reaktionen wäre weiterhin Magnesiumsulfat und Natriumphosphat zu benutzen, welche Haushofer³⁾ empfahl. Die Schnitte müssen mit einer Spur verdünnter Natronlauge alkalisch gemacht werden. Bei Helianthus waren die Erfolge allerdings nicht befriedigend, die Kristalle fielen sehr schlecht aus.

Kalzium.

Kalzium zählt zu den unentbehrlichen Elementen grüner Pflanzen. Pilze können ohne Kalzium gedeihen und für einige Sumpf- und Wasserpflanzen sind Kalziumverbindungen giftig. Für die meisten Pflanzen ist Kalk jedoch von großer Bedeutung, über die aber noch nicht völlige Klarheit herrscht. Verschiedentlich schrieb man dem Kalzium eine Funktion beim Transport der Glykosen zu, da bei Kalziummangel Störungen im Stofftransport beobachtet wurden. Doch diosmieren Kalkglykosen nicht besser als reine Glykosen. Eine wichtige Aufgabe des Kalziums besteht darin, daß es die Giftwirkung löslicher organischer Säuren unschädlich macht und die Säurebildung in der Pflanze reguliert. Auch bei der Zuckersynthese scheint ihm eine Bedeutung zuzukommen; vielleicht wirkt es als Schutzstoff gegen den bei der Assimilation gebildeten Formaldehyd, dann wäre die Erkrankung kalkfrei gezogener Pflanzen als Formaldehydvergiftung aufzufassen. Auf die Entwicklung der Wurzeln übt es einen günstigen Einfluß aus, in den Blättern steigt der Kalkgehalt im Laufe der Vegetation. Im Holz sind beträchtliche Mengen zugegen. Kalziumabscheidungen können die Elemente im Kern- und Wundholz völlig verstopfen (S. 99). Unter den Aschenbestandteilen des Holzes und der Rinden (besonders der älteren) nimmt Kalzium die erste Stelle ein. Relativ gering ist der Gehalt im Samen, erreicht aber in bestimmten Fällen in der Samen- und Fruchtschale hohe Werte. Es beteiligt sich nicht nur am Aufbau der Zellwände und tritt in großen Quantitäten in anorganischer Bindung auf, sondern ist Bestandteil wichtiger Eiweißkörper (Globoide u. a.), findet sich wohl auch in Zellkern und Chromatophoren.

Die Kalziumkristalle gelangen zum kleineren Teil in der Zellwand zur Ausscheidung. Überwiegend entstehen die Kristalle im Zellinhalt und zwar, wie

¹⁾ J. W. Retgers, Über die künstliche Färbung von Kristallen organischer Körper mittels organischer Farbstoffe, Ztschr. f. phys. Chem., 1893, XII, S. 600.

²⁾ B. Dębski, Über den Bau und Bewegungsmechanismus der Blätter der Marantaceen, Anz. der Krakauer Akad., 1895, S. 244.

³⁾ K. Haushofer, Mikr. Reakt., 1885, S. 13.

schon Wakker¹⁾ zeigte, in den Vakuolen, auch dann, wenn nachträglich eine Verwachsung mit der Zellwand erfolgt. Die Bildung der Kristalle in den Vakuolen läßt sich in vielen Fällen in den jugendlichen Zellen durch Plasmolyse mit 4% Rohrzuckerlösung ermitteln. Außerdem bedient man sich mit Vorteil einer 10% durch Eosin rotgefärbten Salpeterlösung. Die Kristalle sind dann stets innerhalb der Vakuole sichtbar. Beim Umlegen des Mikroskopes folgen sie dem Gesetz der Schwere und nehmen die tiefste Stelle in der Vakuole ein.

Zum mikrochemischen Nachweis des Kalziums im Gewebe und in den einzelnen Zellbestandteilen stehen einige Methoden zur Verfügung, die auf der Fällung des Kalziums als Oxalat, Karbonat oder Sulfat beruhen.

Mit Schwefelsäure ist die einfachste Methode des Kalziumnachweises gegeben. Man benutzt eine verdünnte Säure. Eine allgemein

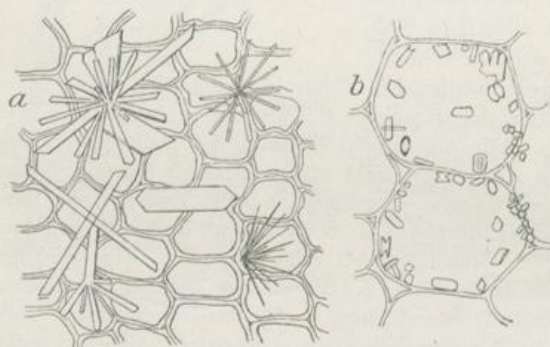


Fig. 31. Kalziumnachweis; a) *Laminaria Cl.* (Schnitt mehrere Tage gewässert, dann 2% Schwefelsäure), Kalziumsulfatkristalle; b) *Jatropha palmata*, Wurzel (kristallfreies Holzparenchym des Zentrums), Kalziumoxalatkristalle mit Ammoniumoxalat gefällt (Tunmann).

gültige Vorschrift für die Konzentration der Säure läßt sich nicht geben, da die schnellere oder langsamere Bildung des Sulfates von verschiedenen Faktoren abhängt, jedenfalls auch von der Art der Bindung des Kalziums. Doch kann es vorkommen, daß die Ausscheidung von Gipskristallen unterbleibt, trotzdem Kalziumkristalle (winzige

Oxalate) im Gewebe zugegen sind und zuvor mikroskopisch ermittelt wurden. Dies kann geschehen, wenn die Kalziummenge gering und der Zusatz an Schwefelsäure reichlich ist. Die kleinen Quantitäten von Kalziumsulfat werden von der Schwefelsäure in Lösung gehalten. Kommt es nicht auf Feststellung der Lokalisation an, dann ist es oft ratsam, das Präparat in 5% Schwefelsäure zu erhitzen und der noch heißen Lösung einige Tropfen Alkohol zuzufügen. Die Abscheidung des Gipses vollzieht sich auf diese Weise schneller und die Kristalle fallen größer aus.

Der Reaktion haftet der Mangel an, daß sie neben dem Kalzium der Zellinhalte gleichzeitig das der Membranen anzeigt. Allerdings

¹⁾ J. H. Wakker, Studien über die Inhaltskörper der Pflanzenzelle, Jahrb. f. wiss. Bot., 1888, XIX, S. 423.

läßt sich durch Digerieren der Präparate mit Wasser und durch Alkoholbehandlung das Kalzium aus den Zellinhalten zum größten Teile entfernen (mit Ausnahme von Kalziumoxalaten und -silikaten), so daß Vergleichspräparate einen annähernden Schluß gestatten, inwieweit bei der Sulfatfällung Membran- oder Zellinhaltkalzium beteiligt ist. Eine Verwechslung mit anderen durch Schwefelsäure entstehenden Kristallen ist nicht ausgeschlossen, trotzdem die Gipskristalle eine ungemein typische Form besitzen. Es sind lange Prismen oder tafelförmige Kristalle mit stumpfwinkligen Endflächen. Die Tafeln verwachsen zuweilen zu Zwillingskristallen und zwar derart, daß der Kantenwinkel 104° oder 130° beträgt (Haushofer). Bei Geweben wird man Tafeln relativ selten antreffen (Fig. 31a). Je konzentrierter die benutzte Säure

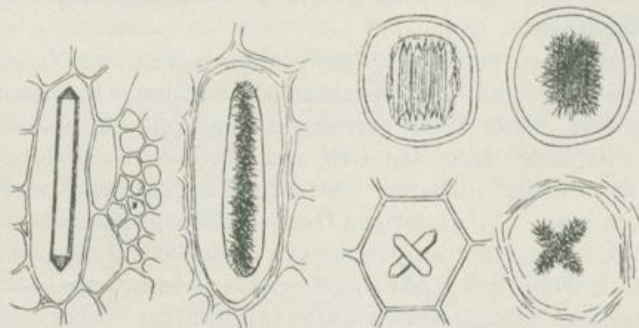


Fig. 32. Kalzium (-oxalat)-kristalle mit konz. Schwefelsäure erhitzt; Bildung von Kalziumsulfat-Anhydrid (Tunmann).

ist, um so schneller erfolgt die Ausscheidung und um so mehr überwiegen Nadeln (die sogenannten Gipsspieße), welche sich sternförmig gruppieren. Werden die Kalzium- oder die Gipskristalle in konzentrierter Schwefelsäure erhitzt, so gehen sie in Anhydrid über und bilden sofort ein wirres Geflecht kleiner feiner Nadeln, welches die Gestalt des ursprünglichen Kristalles noch im Umriss erkennen läßt (Fig. 32). Zuweilen zeigt übrigens die Lage der Gipsnadeln (auf der Membran oder im Zellinhalte) die Herkunft des Kalziums an, wenn die Präparate direkt in Schwefelsäure eingetragen werden. Die Gipskristalle müssen mikrochemisch näher geprüft werden. Sie sind unter Deckglas unlöslich oder doch schwer löslich in Wasser (Gips löst sich in 386 Teilen Wasser bei 18° , geringe Gipsmengen sind unter Deckglas sehr wohl in Lösung zu bringen, besonders bei Gegenwart von Salzsäure oder Salpetersäure) und in Alkohol (Unterscheidung von Alkaloidfällungen u. a.). Chlorbaryumlösung, vornehmlich bei Zusatz von etwas Salzsäure, überzieht die Gipskristalle mit einer Kruste von Baryumsulfat (s. Schwefelsäure).

Ferner kann man die Gipskristalle in weinsauren Kalk überführen. Man saugt die Präparate trocken und fügt einen Tropfen Seignettesalzlösung hinzu. Die Gipsspieße lösen sich und weinsaurer Kalk kristallisiert in starken Prismen aus. Die weinsauren Salze von Baryum und Strontium zeigen die gleichen Kristallformen, sie kommen aber bei Pflanzen nicht in Betracht.

Zum Nachweis des Kalziums in der Pflanzenasche bedient man sich einer verdünnten Schwefelsäure (2–4%). Bei Gegenwart reichlicher Mengen Kalk wird die Säure direkt der Asche zugefügt, bei geringem Kalkgehalt zieht man die Asche mit einem Tropfen Wasser aus, zieht den Tropfen beiseite und läßt ihn mit Zusatz einer Spur Schwefelsäure eintrocknen. War der Kalk als Sulfat in der Asche zugegen, dann erfolgt seine Ausscheidung im Auszuge auch ohne Zusatz von Schwefelsäure.

Während man die Schwefelsäure überwiegend zum Nachweis von Kalziumkristallen und von Membrankalk benutzt, so benutzt man Oxalsäure in erster Linie zur Ermittlung gelöster Kalziumverbindungen. Mit ihrer Hilfe läßt sich auch die Verteilung der Kalziumsalze in der Pflanze studieren. Größere Pflanzenstücke werden nach *Acqua*¹⁾ in einer 2% wässrigen Oxalsäurelösung mazeriert, dann mit destilliertem Wasser gut ausgewaschen, schließlich in Alkohol gehärtet und nicht zu dünne Präparate angefertigt. Schimper²⁾ bediente sich einer wässrigen Lösung von Ammoniumoxalat, wobei sehr kleine doppelbrechende tetragonale Pyramiden entstehen. Wurden die Schnitte direkt in eine kochende Ammonoxalatlösung eingetragen, dann entstanden ovale Formen des monoklinen Systems. Das Reagens ist sehr empfindlich, bei Benutzung reiner Lösungen wird Kalknitrat noch in einer Verdünnung von 1:20000 nachgewiesen. Nachprüfungen zeigten, daß zu den Reaktionen vorteilhaft die Oxalsäure in 2–3%, Ammoniumoxalat in 3–5% wässriger Lösung benutzt werden. Beide Reagentien liefern die gleichen Kristallformen (Fig. 31b). Eine Verwechslung der Oxalatfällungen bei rein optischer Betrachtung mit eventuellen Ausscheidungen der Reagentien (bei Anwendung konzentrierter Lösungen) ist nicht zu befürchten. Überdies lassen sich die Reagentien durch Auswaschen mit Wasser aus den Schnitten entfernen, während die entstandenen Kalziumoxalate zurückbleiben und ein Aufhellen der Schnitte mit Chloral-

¹⁾ C. *Acqua*, Einige Beobachtungen über den Entstehungsort des Kalziumoxalates in den Pflanzen, *Malpighia*, 1889, III, S. 160. *Ztschr. f. wiss. Mikrosk.*, 1889, VI, S. 544.

²⁾ A. F. W. Schimper, Zur Frage der Assimilation der Mineralsalze, *Flora*, 1890, LXXIII, S. 211.

hydrat gestatten. Ein Nachteil der Reaktion liegt darin, daß die Kalziumoxalatfällungen aus sehr kleinen Kristallen bestehen. Im allgemeinen ist das in der Kälte gefällte tetragonale Kalziumoxalat (3 Mol. Kristallwasser) kleiner als das monokline (1 Mol. Kristallwasser), welches beim Aufkochen fällt. Ersteres ist meist so klein, daß man es bei starker Vergrößerung (600 fach) betrachten muß, und läßt sich gut mit winzigen Stärkekörnchen vergleichen. Im Mark einjähriger Pflanzen erscheinen die chlorophyllfreien, kalkhaltigen Zellen, die nicht angeschnitten wurden, fast schwarz von den zahlreichen Kalziumoxalatkriställchen. Aber auch die größeren, beim Aufkochen erhaltenen Kristalle besitzen nur einen Durchmesser von 10–15 μ . Bei mehrstündigem Liegen erzielt man etwas größere Kristalle. In amylnreichen Geweben (Wurzeln) sind naturgemäß die Fällungen kaum oder doch nur sehr schwer zu erkennen. Am besten wird die Stärke durch Aufkochen verkleistert. Doch müssen die Präparate vorher 15 Minuten im Reagens gelegen haben, so daß das Kalzium bereits kristallinisch ausgefällt wurde und aus den Zellen nicht mehr austreten kann. Schließlich ist es unbedingt erforderlich, Vergleichspräparate zu durchmustern und sich mit Schwefelsäure (1 + 3,0 Wasser) von der Natur der Fällungen zu überzeugen.

Ammoniumkarbonat ist weit weniger empfindlich, daher nur bei kalkreichen Objekten zu benutzen, es wird in 3% wässriger Lösung gebraucht. Bei Landpflanzen, deren Zellsaft sauer reagiert, fügt man dem Reagens etwas Ammoniak zu (1,0:100,0 Reagens). In der Kälte entstehen kleinkörnige, 1 μ große, oft perlschnurartig aneinander gereihte Gebilde; erhitzt man jedoch, dann entwickeln sich regelmäßige Rhomboeder (Durchmesser 4–5 μ), seltener kleine Prismen, die an ihren Enden zur Verzweigung neigen. Die Reaktion verlangt eine sehr kritische Beurteilung. Einmal habe ich die Karbonatfällungen nur sehr selten in charakteristischer Form erhalten und dann entstehen gleichzeitig andere, schwer zu identifizierende Kristalle. Ammoniumkarbonat und Ammoniak reagieren nicht nur mit Gerbstoffen und Magnesium, sondern auch mit verschiedenen Pflanzensäuren (Weinsäure u. a.); man führe die Reaktion einmal an *Daucus carota* aus. Zum Kalziumnachweis ist das Verfahren nicht empfehlenswert.

Proteinkalk wies zuerst Pfeffer¹⁾ in seiner berühmten Arbeit über die Aleuronkörner nach, in der eine eingehende mikrochemische Analyse der Globoide ausgeführt wird. Zu den isolierten Globoiden wird eine ammoniakalische Lösung von Chlorammonium und oxalsaurem Ammon zugefügt. Die sich ausscheidenden Kristalle von Kalkoxalat werden weiter identifiziert.

¹⁾ W. Pfeffer, Jahrb. f. wiss. Bot., 1872, VIII, S. 429.

Zur Unterscheidung von Kalkphosphat und -oxalat, die beide gleichzeitig in den kugeligen Gebilden lebender Zellen einer Cyperus-Art auftreten (s. Phosphorsäure, S. 92), hat Zimmermann¹⁾ oxalsaures Ammon mit Essigsäure kombiniert, wodurch der an die Phosphorsäure gebundene Kalk gelöst wurde und zugleich in Reaktion trat, während der an Oxalsäure gebundene Kalk jener Sphärite, der den Kern bildet, ungelöst blieb. Die betreffenden Schnitte wurden in 10% Ammoniumoxalat, dem 1% Essigsäure zugesetzt war, erhitzt. Die aus phosphorsaurem Kalk bestehenden Schalen der Sphärite verwandelten sich in Klumpen winziger Kriställchen, die sich nicht in 5% Essigsäure, jedoch leicht in Salzsäure lösten. In einer Lösung von 0,5% Ammoniumoxalat und 1% Essigsäure erfolgt die gleiche Reaktion, zwar erst nach $\frac{1}{2}$ Stunde, aber ohne Erwärmen.

Der Nachweis des Kalziums in den Karbonaten kann mit Schwefelsäure geführt werden (Gipsnadeln). Die Membran führt aber auch andere Kalkverbindungen (Kalzium-pektate und -oxalate). Speziell bei den **Cystolithen**, bei denen nach Giesenhagen nur kohlenaurer Kalk teils an Zellulose gebunden ist, teils frei auftritt, wendet Zimmermann²⁾ stark verdünnte Schwefelsäure an (1%), wodurch sich die Gipsnadeln in der Umgebung der Cystolithen abscheiden. Die Schnitte können auch direkt in eine siedende Lösung eingetragen werden, die 0,5 g oxalsaures Ammon und 1,0 g Essigsäure auf 100,0 Wasser enthält. Es bilden sich stark lichtbrechende drusenartig verwachsene Kristalle von Kalziumoxalat. Bei Anwendung einer kalten konzentrierten Lösung (10% oxalsaures Ammon, 1% Essigsäure) wird aber oxalsaures Ammon in den Cystolithen niedergeschlagen, welche sich bei mikroskopischer Betrachtung nicht verändert zeigen. Wird die konzentrierte Lösung heiß angewandt, dann erhalten die Cystolithen eine körnige Oberfläche, die aus Kalkoxalat besteht, während der Kern noch unverändertes Karbonat enthält. Neben dem Karbonat findet sich in den Cystolithen übrigens Kieselsäure, die aber auf den Stiel und den Kern beschränkt ist. Die Grundmasse der Cystolithen besteht aus Zellulose; die Cystolithen werden nach dem Lösen des Kalkes mit Salzsäure durch Chlorzinkjod violett. In den Blättern der Coccinia-Arten sind im Gerüst der Cystolithen außer Zellulose noch andere Substanzen zugegen, denn man muß nach Avetta³⁾, um die Chloridzinkjodreaktion zu erhalten,

¹⁾ A. Zimmermann, Über Kalziumphosphatausscheidungen in lebenden Zellen, Beitr. z. Morph. u. Physiol. d. Pflanzenzelle, 1893, H. III, S. 311.

²⁾ A. Zimmermann, Bot. Mikrotechnik, S. 60.

³⁾ C. Avetta, Über die Cystolithen der Blätter von einigen Coccinia-Arten, Annuario d. R. Ist. Bot. di Roma, 1894, V, S. 181.

die Grundsubstanz zuvor nacheinander mit Salzsäure und Kalilauge behandeln. Übrigens hatte schon vorher Mangin¹⁾ neben Zellulose Pektinsubstanzen und namentlich Callose nachgewiesen, wie denn Callose in mit kohlensaurem Kalk inkrustierten Wänden häufig vorkommt. Kalkarme Cystolithen verholzen oder verkorken zuweilen. Auch ist zu berücksichtigen, daß es kalkarme, selbst kalkfreie Cystolithen gibt (Goldfussia, Ruellia). Die Strukturverhältnisse lassen sich nach Giesenhausen²⁾ am besten an Ficus-Blättern beobachten. Frische Blätter werden von der Epidermis befreit, ein starker Tangentialschnitt wird aus dem freigelegten Gewebe hergestellt und dieser auf Holundermark in Gummiglyzerin eingetragen. Diese Masse dringt in die geöffneten Zellen ein. Nach dem Eintrocknen der Masse sind die Cystolithen fest eingebettet und die Schnitte fallen tadellos aus.

Magnesium.

Magnesium ist für grüne Pflanzen unentbehrlich. Es spielt bei den Synthesen eine hervorragende Rolle (Photosynthese der Chlorophyllkörner, Willstätter). Ausdauernde Gewächse verfahren mit dem Magnesiumgehalt ökonomisch, beim Blattfall wandert das Magnesium des Chlorophyllgrüns in den Stamm zurück (Stahl). Im Samen sind Beziehungen zwischen dem Magnesiumgehalt und den gespeicherten Reservestoffen zu erkennen. Aleuronhaltige Samen führen im allgemeinen mehr Magnesia (Amygdalus, 17%) als stärkehaltige. Erstere besitzen bekanntlich Magnesium in den Globoiden der Aleuronkörner. Die Asche der Samenkerne ist reicher an Magnesia als an Kalk (E. Schulze), die gleichen Verhältnisse sind im Mehl, in der Kleie und im Getreide (Weizenmehl 11,22 Magnesia, 6,32 Kalk, Gerstenmehl 13,50 Magnesia und nur 2,80 Kalk, Willstätter). In der Asche des Holzes beträgt der Gehalt an Magnesia 5—10, steigt aber auch bis 20 und 25% (Larix, Quercus, Betula). Die Rindenasche führt hingegen nur 2—6% (Daphne mezereum über 12%). In den Blättern schwankt der Gehalt von Spuren (Gramineen) bis zu 25% (Beta vulgaris) und selbst 28% (Solanum tuberosum).

Von den Methoden, die zum Nachweis von Magnesium im Gewebe benutzt werden können, hat sich diejenige am meisten eingebürgert und am besten bewährt, welche bereits Pfeffer³⁾ bei seinen grundlegenden Arbeiten über die Aleuronkörner benutzte und die das Magnesium als Magnesiumammoniumphosphat zur Kristallisation bringt.

¹⁾ L. Mangin, Sur la constitution des cystolithes et des membranes in crustées de carbonate de chaux, Compt. rend., 1892, CXV, S. 260.

²⁾ C. Giesenhausen, Das Wachstum der Cystolithen von Ficus elastica, ein Beitrag zur Kenntnis des Dickenwachstums vegetabilischer Zellhäute, Flora, 1890, LXXIII, S. 1.

³⁾ W. Pfeffer, Unters. über d. Proteinkörner u. d. Bedeut. d. Asparagins beim Keimen d. Samen, Jahrb. f. wiss. Bot., 1872, VIII, S. 429.

Die Kristallformen sind in Fig. 24, S. 88 dargestellt. Pfeffer isolierte die Globoide und versetzte sie unter Deckglas mit einer ammoniakalischen Lösung von Chlorammonium und phosphorsaurem Ammoniak. Schimper (Lit. S. 76,³) benutzte später eine mit etwas Chlorammonium versetzte Lösung von Natriumphosphat. Die Präparate, die vorher nicht gewässert haben dürfen, werden direkt mit dem Reagens versetzt, worauf sich phosphorsaure Ammoniak-Magnesia in den Zellen in Form charakteristischer, sargdeckelförmiger Kristalle abscheidet. Wenn man in gleicher Weise die Asche einiger Präparate behandelt, dann bilden sich überwiegend X-förmige Kristallskelette.

Die Kristallformen sind wesentlich von der Menge des Magnesiums abhängig (vergl. Fig. 33). Bei Gegenwart größerer Quantitäten entstehen überwiegend Sterne, deren Strahlen federartig ausgebildet sind.

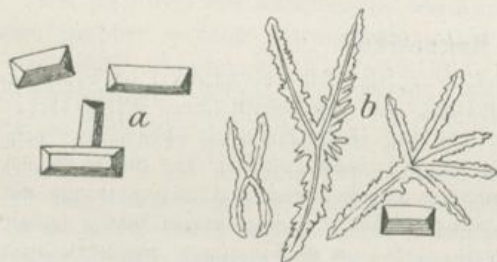


Fig. 33. Kristalle von Magnesiumammoniumphosphat, a) aus dem Milchsaft von *Lactuca virosa*, b) aus dem harzigen Sekret von *Pinus* (Tunmann).

In vielen Fällen sind übrigens die zur Kristallbildung nötigen Phosphormengen im Gewebe zugegen, so daß allein Ammoniakzusatz Bildung von Ammoniummagnesiumphosphat veranlaßt. Die Ammoniakreaktion zeigt neben Phosphaten auch Magnesium an.

Die eingehenden kritischen Nachprüfungen der gebräuchlichen Methoden durch O. Richter¹⁾ haben ergeben, daß der Nachweis als Magnesiumammoniumphosphat immer noch der beste ist, wozu sich auch Natriumammoniumphosphat bei Gegenwart von Ammoniak benutzen läßt. Diese Methode benutzte auch Czapek (Lit. s. Kalium, S. 108, ¹) zum Nachweis von Magnesia in den Ausscheidungen der Keimwurzeln. Zur Kontrolle können herangezogen werden: Ammoniumoxalat mit und ohne Essigsäure, Oxalsäure und Zinksulfat, Schwefelsäure mit und ohne Wasser, Kaliumoxalat, Ferrocyankalium und Ammoniak, Seignettesalz und Ammoniak, Kaliumpyroantimoniat, Arsenverbindungen und Ammoniak. Andere Reaktionen sind nicht zu benutzen, es haben somit auch die früher angewandten Reaktionen mit Natriumkarbonat, Natriumkarbonat und Kalzium, Oxalsäure und Essigsäure, Fluorwasserstoffsäure, Uranylazetat u. a. auszuscheiden.

¹⁾ O. Richter, Beiträge zur Kennt. d. Magnesium-Ammonium-Phosphats, Tschermaks mineral. u. petrograph. Mitteil., 1901, XX, S. 89 und: Untersuchungen über das Magnesium in s. Bezieh. z. Pfl., Sitzber. Wien. Akad., 1902, CXI, 1. Abt., S. 171.

Magnesia-Reaktionen erhält man oft in Pollenkörnern (*Althaea rosea*, *Cucurbita pepo*), im Inhalte der Siebröhren und in Milchsäften. Hohen Magnesiumgehalt gibt Schimper für die Milchsäfte von *Lactuca virosa*, *Ficus elastica*, *Euphorbium* und *Ammoniacum* an (*Opium* und *Olibanum* gibt keine Reaktion), und Molisch¹⁾ für *Euphorbia mammillaris* und *Galactodendron utile*. Wenn wir ferner das harzig-ölige Sekret der schizogenen Gänge isolieren und durch Ammoniakzusatz stark alkalisch machen, so erhält man teils sofort, teils erst bei nachfolgendem Zusatz von Natriumphosphat typische Magnesiakristalle. Von 26 untersuchten Sekreten (Coniferen, Compositen und Umbelliferen) gaben 9 schon bei Zusatz von Ammoniak, weitere 7 erst bei nachfolgendem Phosphatzusatz Magnesiareaktion. Demnach fehlen Phosphate im Sekret öfters, während Magnesium meist zugegen zu sein scheint (Fig. 33).

In Agarabkochen entstehen Magnesia-Ammoniumphosphate möglicherweise durch die Tätigkeit von Pilzen (Eschbaum²⁾) oder durch Austrocknung (Richter³⁾).

Eisen.

Eisen ist nicht nur für grüne Pflanzen, sondern auch für Pilze unentbehrlich. Wir wissen aber wenig über die Form, in der es in den Zellen auftritt, ob es in organischer Bindung allgemein verbreitet ist (nukleinsaures Eisen). Ebenso wenig geklärt sind die Aufgaben dieses Elementes. Es ist bekannt, daß bei Eisenmangel die grünen Pflanzen bleichsüchtig, chlorotisch, werden und daß Zufuhr von Eisen die Chlorose zu heilen vermag. Doch fehlt Eisen dem Chlorophyllfarbstoff. Bei den Eisenbakterien und vielen Algen (Euglenen, Oscillarien, Oedogonien u. a.) sind die Membranen und Gallertscheiden mit Eisenoxydhydrat imprägniert, wodurch die Pflanzen eine gelbe, oft fast schwarze Farbe erhalten, und die rostbraune Färbung des Thallus mancher Flechten rührt von Eisenoxydulverbindungen her, die zuweilen in Form kleiner Körnchen den Hyphenmembranen an der Außenseite aufgelagert sind; bei einigen Algen sind Eisenausscheidungen auch im Zellinhalte. Im allgemeinen ist der Gehalt an Eisen, den Aschenanalysen zufolge, ein geringer. Wasserpflanzen zeichnen sich durch hohen Gehalt an organischen und anorganischen Eisenverbindungen aus. Abnorm hoher Eisengehalt findet sich in den Fruchtschalen von *Trapa natans*. Durch geeignete Düngung mit Eisenkarbonat, -Phosphat u. a. kann der Gehalt sehr gesteigert werden, so daß man sogar auf diese Weise gewonnene stark eisenhaltige Drogen (*Spinacia*, *Rumex*) als Arzneimittel empfahl. Eisendüngung ist von Einfluß auf die Farbe der Blüten

¹⁾ H. Molisch, Studien über den Milch- und Schleimsaft der Pflanzen, Jena 1910.

²⁾ F. Eschbaum, Kristall. Ausscheidungen in Nährböden, Ber. deutsch. pharm. Ges., 1902, XII, S. 177.

³⁾ O. Richter, Zeitschr. f. wiss. Mikr., 1905, XXII, S. 209.

(die Rosafärbung der Hortensien geht bei Zusatz von Eisenchlorid in Blau über). Im Samen und im Holze ist der Eisengehalt gering (selten über 1%), ebenso in der Rinde; in den Blättern finden sich häufig größere Mengen. In ausgewachsenen Blättern und in älteren Rinden sind meist höhere Werte ermittelt.

Zum Nachweis des Eisens im Gewebe sind nach den kritischen Untersuchungen von Molisch¹⁾ Tannin, Salizylsäure, Schwefelammon, Rhodankalium²⁾ wenig geeignet. Am besten gelingt der Nachweis mit den Blutlaugensalzen. Bei der Herstellung der Präparate müssen eiserne Instrumente nach Möglichkeit vermieden werden. Zum Schneiden benutzt man vorteilhaft Messer mit Klingen aus Silber oder aus harter Aluminiumbronze, doch sollen auch bei Verwendung von sehr sauberen Stahlmessern keine Versuchsfehler unterlaufen. An Stelle der Stahlnadeln lassen sich fein ausgezogene Glasstäbe verwenden. Die nicht zu zarten Präparate werden zunächst auf Eisenoxydverbindungen geprüft und gelangen zu diesem Zwecke auf 1 bis 24 Stunden in eine 2% wässrige Lösung von gelbem Blutlaugensalz. (Die Dauer der Einwirkung des Ferrocyankaliums richtet sich nach der Dicke der Schnitte.) Darauf werden sie auf dem Objektträger mit 10% Salzsäure (frei von Eisen!) versetzt. Es tritt bei Gegenwart von Eisenoxyd sofort Bildung von Berlinerblau ein. Die Salzsäure ist, sobald sie das Präparat durchdrungen hat, auszuwaschen, denn bei längerer Einwirkung der Säure kann das aus dem Blutlaugensalz stammende Eisen Bildung von Berlinerblau veranlassen. Ist Eisenoxyd nicht zugegen, so muß noch auf Eisenoxydul geprüft werden, und zwar in gleicher Weise mit 2% Lösung von rotem Blutlaugensalz (Ferricyanalkalium). Schließlich ist die Asche zu untersuchen.

Die Annahme, daß sich mit obiger Reaktion auch „maskiertes Eisen“ nachweisen lasse, hat sich nicht bestätigt. Molisch³⁾ nahm nämlich in jenen Präparaten maskiertes Eisen an, die erst nach Vorbehandlung mit reiner Kalilauge eine Eisenreaktion gaben. A. Meyer⁴⁾ meinte, daß in jenen Fällen das Eisen aus der benutzten Kalilauge herrühre, doch konnte C. Müller⁵⁾ zeigen, daß Kaliumhydroxyd (in Stangen) stets eisenfrei ist, daß die hergestellten Laugen jedoch aus dem Glase der Aufbewahrungsgefäße Eisen aufnehmen.

¹⁾ H. Molisch, Die Pflanze in ihren Beziehungen zum Eisen, Jena 1892.

²⁾ Rhodankalium benutzen Weiß und J. Wiesner (Üb. d. direkt. Nachw. d. Eisens in d. Zell. d. Pfl., Sitzber. Wien. Ak., 1860, XI, I. Abt., S. 276).

³⁾ H. Molisch, Bemerkungen über den Nachweis von maskiertem Eisen, Ber. deutsch. bot. Ges., 1893, XI, S. 73.

⁴⁾ A. Meyer, Ref. über Molisch: Die Pflanze in ihrer Beziehung zum Eisen, Flora 1892, LXXVI, Ergzbd., S. 292.

⁵⁾ C. Müller, Kritische Unters. über d. Nachweis maskierten Eisens in der Pflanze und den angeblichen Eisengehalt des Kaliumhydroxyds, Ber. deutsch. bot. Ges., 1893, XI, S. 252.

Macallum¹⁾ bediente sich beim Nachweis von Eisen im Zentralkörper von *Oscillaria Froelichii*, *Tolypothrix tenuis*, *Cylindrospermum majus*, sowie zum Eisennachweis der Nukleoproteide (s. d.) der gleichen Methode. Das mit Alkohol fixierte Material kommt auf 2—5 Minuten in angesäuerten Alkohol (5% bei 35° C), wird mit 95% Alkohol ausgewaschen und gelangt auf 5 Minuten in eine 1,5% Lösung von Ferrocyankalium, die mit 0,5% Salzsäure versetzt ist. Andererseits benutzte er eine Mischung von Glycerin und Ammoniumsulfid.

Die mit 70% Alkohol fixierten Präparate werden auf dem Objektträger in frisch bereitetes Schwefelammon gebracht. Nach Quincke soll aber ein älteres Schwefelammon wirksamer sein (Über direkte Eisenreaktionen in tierischen Geweben, Arch. exp. Pathol. u. Pharm., 1896, XXXVII, S. 185). Zur Verhütung des Eintrocknens der Präparate wird etwas Glycerin zugefügt, dann wird mit dem Deckglas bedeckt. Eisenhaltige Zellbestandteile werden grünlich. Nun wird mit Glycerinwasser ausgewaschen und ein Gemisch von Salzsäure und Kaliumferricyanid zugesetzt (s. oben). Die grünlich gefärbten Teile werden dadurch blau. Auf diese Weise läßt sich nur das in lockerer Bindung anwesende Eisen nachweisen, nicht aber Hämoglobineisen (E. Meyer) u. a. „Eine eisenreiche Verbindung, welche mit Schwefelammon und Ammoniak keine Eisenreaktion gab, erhielt Abderhalden aus Spinat“ (E. Zacharias, Progressus rei bot., 1909, III, S. 127). Nach Marfori (Annal. d. Farmacot., 1898, S. 433) soll die Konzentration des Schwefelammons und auch die Temperatur von Einfluß auf das Gelingen der Reaktion sein. — Zur Unterscheidung von „maskiertem“ und „nicht maskiertem“ Eisen gebrauchte Macallum eine 5% Lösung von Hämatoxylin in destilliertem Wasser. „Nicht maskiertes“ Eisen bedingt eine blauschwarze Farbenreaktion. Maskiertes Eisen verändert die bräunlich-gelbe Hämatoxinlösung nicht. Eine Kritik der Methoden von Macallum würde hier zu weit führen, es muß auf Zacharias (a. a. O.) verwiesen werden. Bei Nachprüfungen, die mit großer Sorgfalt ausgeführt wurden, erhielt ich nur unklare Präparate (*Vicia faba*, *Allium*), bei *Adiantum* war die stärkste Reaktion mit Schwefelammon stets in den Chlorophyllkörnern. — Auch die Versuche in Anlehnung an A. Mouneyrat (Bull. commerc. 1906, Nr. 5), das Schwefeleisen mit Ammoniak und Schwefelwasserstoff zu fällen, waren nicht immer befriedigend. Nach Mouneyrat soll sich derart noch 1 µg Eisen nachweisen lassen. Bei dieser Reaktion werden die Schnitte mit Ammoniakwasser (1:100, eisenfrei) alkalisch gemacht und danach

¹⁾ A. B. Macallum, On the cytology of non-nucleated organisms, Trans. Canadian Inst., 1899, VI, S. 439 und: Zeitschr. f. wiss. Mikr., 1892, IX, S. 337.

$\frac{1}{2}$ Stunde lang den Dämpfen von Schwefelwasserstoff ausgesetzt. Bei grünen Pflanzenteilen sind die Färbungen nicht immer genügend klar, die Schnitte werden rasch gelb (infolge von Schwefelausscheidungen).

In der Mineralogie werden noch weitere Reaktionen herangezogen, die das Eisen als Kieselfluoreisen, als Eisen-oxyduloxalat oder -sulfid fällen, die aber sämtlich im Gewebe versagen und nicht eindeutige Ergebnisse liefern. Man muß gegenwärtig die Reaktion mit Blutlaugensalz als die einzige brauchbare und einfachste ansehen. Die Methode ist dann wiederholt erprobt worden, so von Saget¹⁾ und Mitlacher²⁾ bei Rumex-Arten. Im Rhizom von Rumex alpinus traf letzterer Eisen im Inhalt der Gefäße und im Phloem an.

Mangan.

Trotzdem Mangan zu den entbehrlichen Stoffen gehört, ist es doch in vielen Pflanzen verbreitet, wie die Befunde der Aschenanalysen zeigen. Im allgemeinen hält sich der Mangangehalt in niederen Grenzen, in Früchten, Samen, Hölzern, Rinden finden sich meist bis 1% der Asche. Doch kommen höhere Werte vor (Buchen- und Birkenholz 5–15%). Am meisten Mangan führen die Wasserpflanzen und die Blätter der Landpflanzen (Thea, Strychnos, Sarothamnus scoparius), besonders der Hopfen ist manganbedürftig. Doch schwanken auch hier die Verhältnisse selbst bei sehr nahe verwandten Pflanzen; Digitalis purpurea führt 9,02% Mangan in der Asche, D. lutea und ambigua sind manganfrei. Manganliebende Pflanzen sind kalksüchtig. Werden Eisenbakterien mit Mangan gefüttert, dann schwellen ihre Scheiden stark an. Über die physiologische Bedeutung des Mangans, das häufig Enzyme begleitet und in anorganischer und organischer Bindung auftritt, sind wir nur mangelhaft unterrichtet³⁾. Bertrand bezeichnet es als ein katalytisches Düngemittel⁴⁾.

In der reinen Mikrochemie stehen zum Mangannachweis verschiedene Reaktionen in Anwendung. Schon Haushofer⁵⁾ fällte aus Lösungen von Manganoxydulsalzen mit Oxalsäure Manganoxalate, die sich beim Eintrocknen der Flüssigkeiten in Form von sternartig grup-

¹⁾ P. Saget, Étude de botan. et chim. de Rumex crispus, Thèse, Montpellier 1903.

²⁾ W. Mitlacher, Über eine Verfälschung von Radix Gentianae mit dem Wurzelstock von Rumex alpinus L., Zeitschr. d. öst. Apoth. Ver. 1909, LIII, Nr. 42.

³⁾ Vergl. jedoch: G. Gola, Studi sulla funzione respiratoria nelle piante acquatiche, Ann. di Bot., 1907, V, S. 441 und J. Stoklasa, Die phys. Bedeutung des Mangans und Aluminiums in der pflanzlichen Zelle, Compt. rend., 1910, CLII, S. 1340.

⁴⁾ Spuren von Mangan im Boden fördern das Gedeihen der Pflanzen (G. Bertrand, Vortr. Congr. Angew. Chem., New York 1912).

⁵⁾ K. Haushofer, Mikroskopische Reaktionen, Braunschweig 1885, S. 96.

pierten, farblosen Prismen abscheiden. Sind nur Spuren vorhanden, dann kann man mit Schoorl¹⁾ die Probe zur Trockne bringen, ein Körnchen Kaliumoxalat zusetzen und durch Anhauchen verflüssigen, wobei man ähnliche Kristallfällungen erhält. Bei dieser Reaktion dürfen aber keine starken anorganischen Säuren zugegen sein, eine schwache Azidität ist förderlich, die Gegenwart von Zink wirkt störend. Ein Zusatz von Kaliumchromat hat sich als zweckmäßig erwiesen. Es scheint ein Doppelsalz von Kaliumchromat mit Mangan zu entstehen (dunkelbraune, doppelbrechende Kristallrosetten). Die Empfindlichkeitsgrenze liegt bei 5 μg (Wagenaar²⁾). Nun hat aber Gössl³⁾ gezeigt, daß diese Reaktionen zum Mangannachweis im Pflanzengewebe nicht genügend scharf sind, und empfiehlt Fällung mit Natrium-Ammoniumphosphat bei Gegenwart von Ammoniakdämpfen. Hierbei entstehen nun nicht nur die Tripelphosphate des Mangans, sondern auch die von Eisen, Kobalt, Nickel und Magnesium. Gössl fand aber, daß sich die letzteren sämtlich vom Manganphosphat durch $\frac{1}{10}$ Kaliumpermanganat unterscheiden lassen. Nur die Manganfällungen färben sich hierbei braun. Zudem ist diese Reaktion am empfindlichsten. Noch 0,018 μg Mangan können nachgewiesen werden. Zur Reaktion wird eine verdünnte (0,5%) Lösung von Natrium-Ammoniumphosphat benutzt. Liegt das Mangan im Gewebe in schwer löslicher Verbindung vor, so werden die Schnitte zunächst in 0,1% Salzsäure gelegt, dann wird Natrium-Ammoniumphosphat zugesetzt und das Präparat über Nacht in Ammoniakdampf belassen.

Zur Manganuntersuchung von Pflanzenaschen benutzt man allgemein die Soda-Salpeterschmelze am Platindraht, die auch bei Gegenwart von Zink eintritt und noch 0,5 μg Mangan anzeigt. Die Oxydationsschmelze zeigt grüne Färbung, die bei Säurezusatz dunkelrot wird (Permanganat). Grüne bis blaugrüne Pflanzenaschen sind manganhaltig, das Manganat wird unter Mitwirkung der Alkalien der Aschen gebildet. Gewöhnlich liegt Mangan in der Asche als Phosphat vor. Wird die Asche mit Wasser und mit phosphorsäurehaltiger Salpetersäure ausgezogen, dann zeigt ein violetter Rückstand Mangan an.

¹⁾ N. Schoorl, Beiträge zur mikroskopischen Analyse; vergl. Emich, Lehrbuch der Mikrochemie, S. 102.

²⁾ A. Wagenaar, Mikrochemische Reaktion auf Mangan, Pharm. Weekbl., 1912, XLIX, Nr. 1.

³⁾ J. Gössl, Über das Vorkommen des Mangans in der Pflanze und über seinen Einfluß auf Schimmelpilze, Beih. bot. Centralbl., 1904, XVIII 1, S. 119.

Aluminium.

Aluminium ist für die Pflanzen entbehrlich. Da es sich überall im Boden findet, so treffen wir es in vielen Pflanzen an. Die aufgenommenen Quantitäten sind nicht groß, da die Aluminiumverbindungen des Bodens im allgemeinen schwer löslich sind. Das aufgenommene Aluminium wird überwiegend in der Wurzel zurückgehalten (Rothert). Zu „Aluminiumpflanzen“ zählen die meisten Lycopodien (27–52 ‰), einige Baumfarne, Flechten (*Cetraria islandica*, 4 ‰), Pilze und Moose. Aluminiumbedürftig ist *Humulus* (Stoklasa). Im allgemeinen sind 0.3–0.5 ‰ der Reinasche bereits hohe Werte. Eine Ausnahme bildet *Orites excelsa* R. Br. (36 bis fast 80 ‰ Tonerde in der Asche); hier soll im Holz basisch bernsteinsaures Aluminium abgelagert sein (Smith). Über den Einfluß der Aluminiumverbindungen wissen wir wenig¹⁾. Bei Bakterien hemmen sie das Wachstum (Aufrecht). Düngung mit Kalialaun oder Aluminiumsulfat fördert die Bildung blauer Blüten (durch vermehrte Bildung blauer Anthocyane aus roten, Molisch).

In Symplocosarten hat Radlkofer²⁾ Tonerdekörper aufgefunden, so in den Palisaden und im Rindenparenchym von *Symplocos lanceolata* (Mart.) A. DC., dem Alaunbaum von Rumphius, ferner in *S. ferruginea* Roxb., *S. racemosa* Roxb., *S. fasciculata* Zoll. Sie lösen sich beim Glühen mit Schwefelsäure, auch in frisch bereiteter Javellescher Lauge und färben sich intensiv rot mit Alizarin und Brasilin (in 70 ‰ Alkohol), selbst nach Vorbehandlung der Präparate mit 0,5 ‰ Ammoniaklösung. Über ihre Natur gibt aber erst die Aschenanalyse Aufschluß. Die Blattasche enthält fast 50 ‰ Tonerde. Eingehende mikrochemische Arbeiten über den Aluminiumnachweis in den Zellen selbst liegen nicht vor und man muß Rothert³⁾ beipflichten, daß die Frage der Verbreitung dieses Elementes in der Pflanze noch nicht geklärt ist.

Zum Nachweis kleiner Mengen von Alaun in Mehl und Brot benutzte Blyth⁴⁾ Campechuextrakt. Er ließ in den kalt bereiteten wässerigen Auszügen dieser Genußmittel einen Gelatinestreifen quellen und färbte diesen mit Campecheholz, Blaufärbung zeigt Alaun an.

¹⁾ M. Fluri, Der Einfl. von Aluminium a. d. Protoplasma, Flora, 1909, XCIX, S. 81.

²⁾ L. Radlkofer, Über Tonerdekörper in den Pflanzenzellen, Ber. Deutsch. Bot. Ges., 1904, XXII, S. 216.

³⁾ W. Rothert, D. Verhalten d. Pflanz. gegenüber d. Aluminium, Bot. Ztg., 1906, LXII, S. 43.

⁴⁾ W. Blyth, The Analyst, 1880, VII, S. 16.

Lenz¹⁾ gebrauchte in neuerer Zeit ebenfalls diese Methode, indem er Hämatoxylinlösung (1% Lösung in Alkohol von 50 Gewichtsprozenten) anwandte. Zusatz von Hämatoxylin zu einer alauhaltigen Flüssigkeit färbt diese intensiv blau, „während von Tonerde freie Flüssigkeiten nur eine nach Violett spielende Rotfärbung zeigen“. Diese Reaktion, die zum Nachweis von Aluminium in der Asche brauchbar ist, wird sich wahrscheinlich auch für Gewebe benutzen lassen; sie ist empfindlicher als die Reaktion von Streng mit Kaliumbisulfat. Mit Kaliumbisulfat scheiden sich flache Oktaeder von Kaliumalaun ab, die ziemlich leicht löslich und oft anisotrop sind. H. Behrens hat 1881 Caesiumchlorid als Reagens eingeführt. Zur Alaunlösung, die etwas freie Schwefelsäure enthalten soll, wird ein Körnchen Caesiumchlorid gebracht. Es gelangen farblose, tafelförmige Oktaeder von schwer löslichem Caesiumalaun zur Abscheidung. Nach Schoorl²⁾ eignet sich am besten Cäsiumchlorid, welches durch Spuren von Cäsiumalaun (als Impfsubstanz, verunreinigt ist (1,0 Caesiumalaun in 1000000,0 Caesiumchlorid). Die Anwendung im Gewebe müßte erst erprobt werden³⁾.

Kupfer.

Da Kupferverbindungen im Boden häufig vorkommen, so sind die zahlreichen Befunde über die Anwesenheit von Kupfer in den Pflanzen erklärlich (Capsicum, Taraxacum, Vicia faba, Zea mays, Quercus, Odyndea gabunensis, Strychnos nux vomica u. a., s. auch Czapek, Biochemie, II, S. 856). Kupfer tritt besonders in Samen und Wurzeln, aber auch in den Blättern, im Stengel und Stamm auf. In Pflanzen, die auf stark kupferhaltigem Boden wachsen, soll sich Kupfer in metallischer Form in den Gefäßen und Holzelementen vorfinden (Mac Dougal). Das bisher Ermittelte über Lokalisation fußt auf makrochemischen Arbeiten. Über die Art der Bindung des Kupfers in der Zelle sind wir nicht unterrichtet (Lehmann hat Kupfereiweißverbindungen angenommen).

Über den Nachweis in Geweben oder mit Schnitten liegen keine Angaben vor. Zum Studium wird es sich empfehlen, Pflanzen auf stark kupferhaltigen Böden zu ziehen. Über die Gegenwart von Kupfer wird man sich zuvor durch einige makrochemische Prüfungen unterrichten (Flammenreaktion, Lötrohrversuche, Alolinreaktion⁴⁾ u. a.). Endo-

¹⁾ W. Lenz, Nachweis von Alaun in Mehl und Brot, Apoth. Ztg., 1911, XXVI, S. 687.

²⁾ N. Schoorl, Chem. Weekbl., 1911, VIII, S. 268; Ztschr. f. analyt. Chem., 1911, S. 266.

³⁾ Das gegenwärtig im Handel befindliche Caesiumchlorid ist frei von Tonerde, das Reagens muß erst geimpft werden (W. Lenz, Briefl. Mitt.).

⁴⁾ Empfindlichkeitsgrenze 1:100000 (A. Beitter, Ber. deutsch. pharm. Ges., 1900, X, S. 411).

spermschnitte von *Strychnos nux vomica* (frisches Material aus dem botanischen Garten in Saigon) gaben mit Ammoniak Blaufärbung. Mehrere große Schnitte kamen in einen ausgehöhlten Objektträger in einen großen Tropfen Ammoniak, das Deckglas wurde luftdicht verschlossen. Zunächst entstanden die Alkaloidfällungen und nach 5 bis 8 Stunden ließ sich beim Halten der Objektträger über eine weiße Unterlage eine Blaufärbung feststellen. An Handelsmaterial gelang die Reaktion nicht und bei den geprüften 9 frischen Samen trat nur 4 mal eine kräftige Färbung ein. Für sich allein ist die Reaktion nicht beweisend, auch wenn sie, wie im vorliegenden Falle, mit Ammoniumkarbonat ebenfalls eintritt. Ob der Nachweis von Kupfer nach Bradley¹⁾ mittels Blauholzhamatoxylin (Blaufärbung), der noch bei 1:1000000000 gelingen soll, auch bei Geweben erbracht werden kann, muß erst erprobt werden, würde aber gleichfalls die nötige Kritik erfordern (Aluminium, S. 128). Besser wäre, weil kristallinische Produkte gebend, Cesiumchlorid²⁾. Dieses gibt mit Kupferverbindungen in salzsaurer Lösung gelbe oder rote, nadelförmige oder prismatische Kristalle. Die Reaktion gelingt noch mit 0,1 µg. (Weitere Reaktionen bei Behrens, Anleit. S. 75—78).

II. Organischer Teil.

1. Methanderivate.

Dulcit, Mannit, Sorbit.

Die sechswertigen Alkohole Mannit, Dulcit, Sorbit finden sich häufig in Pflanzen. Mannit läßt sich leicht aus der Handelsmanna herstellen. Er scheidet sich aus der mit siedendem Alkohol bereiteten Mannalösung beim Erkalten kristallinisch aus. Aus Alkohol fällt er in feinen seidenglänzenden Nadeln, aus Wasser in farblosen Prismen. Mannit löst sich leicht in heißem Wasser und Alkohol, schwer in kaltem Wasser; unter Deckglas kann er mit kaltem Alkohol umkristallisiert werden (Fig. 34). Fehlingsche Lösung wird bei kurzem Kochen nicht reduziert. Mannit kommt zu 30—60% in der Handelsmanna vor (hier ist die abnorme Menge eine Folge der Verwundung von *Fraxinus ornus*), ferner in *Laminaria flexicaulis*, *L. digitata*, *L. saccharina* (5—12%), in Pilzen (Mutterkorn,

¹⁾ H. C. Bradley, Eine empfindliche Kupferreaktion und eine mikrochemische Probe auf Zink, Amer. Journ. of Sci., Ref. Chem. Centralbl., 1906, II, S. 1873.

²⁾ P. A. Meerburg u. H. Filippo, Chem. Weekbl., 1905, II, S. 461, Südd. Ap. Ztg., 1905, XLV, S. 835.