

Reduzierende Enzyme.

In Kürze sei auf den Nachweis der Reduktasen von Palladin¹⁾ hingewiesen. Weizenkeimlinge werden in kleinen Gläsern mit einigen Tropfen Chloroform versetzt, dann mit einer leicht reduzierbaren Farblösung übergossen (Methylenblau, Indigo, Hämatoxylin) und die Gläser luftdicht verschlossen. Die Lösungen sind nach 2 Tagen völlig entfärbt, nehmen aber beim Stehen an der Luft ihre Farbe wieder an. Ob diese Methoden sich auf Schnitte übertragen lassen, muß erst erprobt werden. Vor allem wäre auf einen vollständigen Abschluß der Luft zu achten, der sich schon bei makrochemischen Arbeiten schwierig gestaltet. Bei letzteren genügt (bei Milchuntersuchungen) flüssiges Paraffin nicht, am besten eignet sich ein dicht schließender Kautschukstopfen in Verbindung mit einem Wattepfropfen, der mit Pyrogallolkalium getränkt ist. Dieser Verschuß wird auch bei Keimpflanzen am besten sein.

Urtica-Enzym.

Das giftige Sekret der Brennhaare von *Urtica dioica* hält Haberlandt²⁾ für eine Substanz, „welche sich in bezug auf manche Eigenschaften den ungeformten Fermenten oder Enzymen anschließt“. Ein Alkaloid soll nicht vorliegen, da der Körper „gleich einem Enzym durch Alkohol füllbar und in Wasser neuerdings löslich ist“. Werden die Trichome 10–20 Sekunden in kochendes Wasser getaucht, dann ist der Zellsaft feinkörnig koaguliert, opak, weißlich und gibt Eiweißreaktion (Millon, Raspail). An Herbstmaterial ruft Schwefelsäure eine rote Färbung hervor. Der Saft gibt mit Kupfersulfat und Bleiazetat einen gelbbraunen Niederschlag, Salpetersäure färbt gelb, Jodtinktur gelbbraun.

III. Der Protoplast.

Protoplasma.

Das Protoplasma der Zelle besitzt die Fähigkeit der Reizbarkeit, der Kontraktilität, der Nahrungsaufnahme, des Wachstums usw., kurz, Protoplasma ist ein biologischer Begriff. Es besteht aus einer sehr zähen Emulsion (Cytoplasma, Plasma) und halbfüssigen (bis festen?) Anteilen. In der jugendlichen Zelle erfüllt das Cytoplasma völlig das Zelllumen, bald treten größere mit wässrigem Saft (Zellsaft) erfüllte Räume (Vakuolen) auf (Fig. 103). Die Vakuolen ver-

¹⁾ W. Palladin, Die Atmungspigmente der Pflanzen, Ztschr. f. phys. Chem., 1908, LV, S. 207.

²⁾ G. Haberlandt, Beiträge zur Anatomie und Physiologie der pflanzlichen Brennhaare, Sitzber. Wien. Akad., 1886, XCIII, 1. Abt., S. 223.

einigen sich meist bei endgültiger Ausbildung der Zelle zu einem großen Safttraum. Das Plasma bildet schließlich nur einen zarten Belag, der der Zellwand anliegt (Primordialschlauch). Der Plasma-schlauch ist dann schwer zu erkennen und muß durch Färbung und Plasmolyse (s. d.) oder durch Schwefelsäure (s. Zellulose) sichtbar gemacht werden. Vielfach, besonders bei mechanischen Elementen, wird das Plasma völlig oder doch nahezu vollständig verbraucht.

Dem Zellsaft kommt in der Mikrochemie eine große Bedeutung zu, da in ihm die verschiedensten anorganischen und organischen Stoffe (Pflanzensäuren, Polysaccharide, Glykoside, Alkaloide) gelöst sind. Er ist entweder farblos und durchscheinend klar oder mehr oder weniger stark gefärbt. Durch konz. Lösungen kann der Zellsaft trüb und dickflüssig werden.

Das Cytoplasma wird außen von einer hyalinen Haut abgegrenzt (Plasmahaut, Hyaloplasma); die Schicht, welche die Vakuolen umgibt, ist ebenfalls hyalin (innere Plasmahaut, Tonoplast). Man unterscheidet: Kinoplasma, das sich bei der Kern- und Zellteilung beteiligt (Hautschicht, Spindelfasern, Centrosomen, Plasmastrahlungen, Cilien, Kernwand, Zellplatte), es wird, mit Flemming fixiert und dem Dreifarben-gemisch (s. Kern) gefärbt, blauviolett; Trophoplasma (Nähr-plasma, hierher zählen auch die Vakuolenwände) führt die für das Leben so wichtigen metaplasmatischen Einschlüsse (Chondriosomen [s. d.], Mikrosomen, teils feste Gebilde, teils kleine Bläschen oder Physoden); es wird nach Fixierung mit Flemming mit dem Dreifarben-gemisch braun.

Die Struktur des Cytoplasmas hat zu verschiedenen Theorien geführt (Granula-, Fadengerüst-Theorie u. a.). Die meisten Anhänger hat die Wabentheorie (O. Bütschli), die dem Plasma einen wabigen Aufbau zuschreibt. Die Waben lassen sich aber auch künstlich erzeugen (A. Degen, Bot. Ztg., 1905, LXIII, 163). Wabenbildner sind 0.01—0.02% Laugen, 0.05 bis 0.1% Alkalikarbonate. Die Waben treten nach dem Auswaschen der Alkalien mit Wasser scharf hervor und lassen sich fixieren (Osmiums-, wässriges Sublimat, Formaldehyd). Wahrscheinlich ist das lebende Plasma eine kolloidale Lösung emulsionsartiger Natur, die unter gewissen Bedingungen „in gallertartigen Schaum mit flüssigen Wabenwänden übergehen kann“ (W. Lepeschkin, Ber. deutsch. bot. Ges., 1911, XXIX, 188). So gibt dicke Schmierseifenlösung mit Xylol geschüttelt einen beständigen Schaum gallertartiger Natur. Die Waben sind mit Xylol erfüllt, die Wabenwände bestehen aus Seifenlösung.

Ultramikroskopisch erscheint das Plasma weiß, auch blau; die blaue Farbe ist eine Folge der Beugungserscheinung (N. Gaidukov, Ber. bot. Ges. 1906, XXIV, S. 110). Das Plasma ist meist farblos (bei Thioploca schwach bläulich), mischt sich nicht mit Wasser und da es

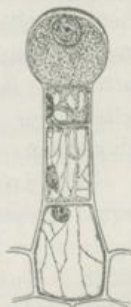


Fig. 103. *Pelargonium roseum* (jugendliche Drüse), die Sekretionszelle mit Cytoplasma angefüllt, in d. Stielzellen Vakuolenbildung (Tunmann).

stärker lichtbrechend als dieses ist, so sind im gewöhnlichen Lichte selbst feine Plasmastränge noch gut zu erkennen. Die Chemie des Plasmas ist nicht aufgeklärt. Wir wissen nur, daß es kein einheitlicher chemischer Körper ist, sondern aus einer ganzen Anzahl verschiedener Substanzen besteht und in steter Veränderung begriffen ist. Mit wenigen Ausnahmen (S. 409) sind im Plasma Eiweißkörper zugegen. Mikrochemisch wird der Nachweis von Eiweiß zur Feststellung von Plasma meist genügen. Auch der Plastinnachweis kann geführt werden. „Das Zellprotoplasma“ sagt Zacharias (Lit. S. 418, 2) „quillt in verd. Salzsäure, nicht aber in Glaubersalzlösungen. Es färbt sich in Essigkarmin verschwommen, schwach oder gar nicht. Nach der Behandlung mit verd. Salzsäure färbt es sich rot in Methylenblau-Fuchsin S. In Magensaft quillt das Zellplasma, bleibt aber im wesentlichen ungelöst. Die Verdauungsrückstände erscheinen in verd. Salzsäure blaß und glanzlos, quellen nicht in Salzsäure von höherer Konzentration, färben sich hellrosa bis rot in Methylenblau-Fuchsin S, quellen oder lösen sich in Sodalösungen verschiedener Konzentration und werden von 0,5% Kalilauge gelöst“.

Über interzelluläres Plasma ist mehrfach berichtet worden. Hierzu gaben Veranlassung die mit Jod mehr oder weniger reagierenden Massen und Bildungen, welche die Interzellularräume auskleiden. Russow¹⁾, Berthold²⁾, Schaarschmidt u. a. traten für interzelluläres Plasma ein, Frank (Pflanzenphys., S. 154) sprach von einer „inneren Cuticula“, Gardiner³⁾, Schenck⁴⁾, Buscalioni⁵⁾ brachten die Bildungen mit Produkten der Mittellamelle in Verbindung. Mattiolo und Buscalioni benutzten bei *Lycopus* künstlichen Magensaft. Die Auskleidungen entstehen durch Spaltung der Mittellamelle, die eine chemische Metamorphose erleidet; sie färben sich mit Chlorzinkjod nur schwach und sind in Schwefelsäure löslich. Abweichend scheint es sich mit den Befunden von Kny⁶⁾ zu verhalten, der interzelluläres Plasma für die Kotyledonen der Leguminosensamen (*Pisum*,

¹⁾ E. Russow, Über den Zusammenhang der Protoplasmakörper benachbarter Zellen, Sitzber. Dorpat. Naturf. Ges., 1883, VI, 562 u. 1882, V, 350.

²⁾ G. Berthold, Über das Vorkommen von Protoplasma in Interzellularräumen, Ber. deutsch. bot. Ges., 1884, II, S. 20.

³⁾ W. Gardiner, The Continuity of Protoplasm in Plant-Tissue, Nature, 1885, S. 390.

⁴⁾ H. Schenck, Über die Auskleidung d. Interzellulargänge, Ber. deutsch. bot. Ges., 1885, III, S. 217.

⁵⁾ L. Buscalioni, Malpighia, 1889, III, S. 143.

⁶⁾ L. Kny, Studien über interzelluläres Protoplasma, Ber. deutsch. bot. Ges., 1904, XXII, S. 29 u. 347.

Lupinus u. a.) angibt. Die Keimblätter sind von Interzellularen durchzogen, welche neben Gasen eine schleimige Füllmasse führen, die bei der Keimung verbraucht wird. Zur Untersuchung läßt man die Samen 24 Stunden in Wasser quellen. Die Aleuronkörner sind dann zerfallen, das Cytoplasma bildet eine körnige bräunliche Masse. In den Interzellularen sind die, die Beobachtung störenden Gase entwichen, die Füllmasse ist nun deutlich sichtbar und gleicht dem Cytoplasma; organisierte Gebilde fehlen. Zellplasma und Interzellularplasma zeigten gleiche Eiweißreaktionen (Jodreagentien, Millons Reagens, Biuretreaktion u. a.) und gleiche Färbungen (Eosin, Fuchsin, Safranin, Anilinblau, Karmin u. a.). Von Verdauungsflüssigkeiten (Pepsin-Glyzerin Salzsäure), in welche die Schnitte teils direkt, teils nach 24stündiger Alkoholbehandlung gebracht wurden, wird das Interzellularplasma weit schneller gelöst als das Zellplasma und zwar vollständig. — In den interzellularen Sekretbehältern konnte Tunmann keine plasmatischen Substanzen nachweisen (Pharm. Ztg. 1907, LII, S. 353).

Extramembranöses Plasma¹⁾ soll bei Peridineen, Diatomeen und Desmidiaceen der Außenseite der Wandporen in Gestalt kleiner Knöpfchen vorgelagert sein und sich übereinstimmend mit dem Zellplasma intensiv mit Safranin und Hämatoxylin färben, während Membran und Gallerte ungefärbt bleiben. Karsten²⁾ hält die Knöpfchen für Gallerttropfen.

Reaktion des Plasmas und des Zellsaftes.

Dem Plasma und seinen organisierten Bestandteilen kommt eine alkalische Reaktion zu, während der Zellsaft überwiegend sauer reagiert. In vielen Fällen führt der Zellsaft Anthocyane (S. 342), dann kann man aus der Farbe auf die Reaktion schließen (rot = sauer, blau = neutral oder schwach alkalisch, grüngelb = stark alkalisch). Im Laufe der Vegetation ändert sich zuweilen die Reaktion des farbigen Zellsaftes, womit ein Umschlag der Färbung verbunden ist. Daß die verschiedenen Färbungen die Reaktionen des Zellsaftes anzeigen, bewies Pfeffer (Osmot. Unt., 1877, S. 140, Pulmonaria off., Tradescantia). Der rote (saure) Zellsaft nimmt durch Spuren von Ammoniak eine blaue Färbung an, die durch äußerst verd. Salz- oder Schwefelsäure wieder in Rot zurückgeführt werden kann und zwar ohne das Leben der Zellen zu schädigen.

Ganz überwiegend ist der Zellsaft farblos und um dessen Reaktion zu ermitteln, wendet man Farbstoffe als Indikatoren an. Die Farbstoffe gelangen in möglichster Verdünnung zur Anwendung, nur die

¹⁾ F. Schütt, Jahrb. f. wiss. Bot., 1899, XXXIII, S. 594 u. 1900, XXXV, S. 470.

²⁾ G. Karsten, Ref. d. Arb. v. Schütt, Bot. Ztg., 1899, LVII₂, S. 330.

Reaktion an lebenden Zellen gestattet zuverlässige Schlüsse. Die Indikatoren dürfen die lebende Zelle nicht schädigen und müssen selbst in großer Verdünnung einen scharfen Farbenumschlag erkennen lassen. Fr. Schwarz benutzte den Farbstoff des Braunkohls (*Brassica oleracea* var. *crispa* Garcke). Die farbstoffführende Epidermis der Blattstiele wird abgezogen und mit warmem Wasser (45—55°) extrahiert, die Lösung wird abfiltriert, das Filtrat durch Aufkochen vom Eiweiß getrennt und der nochmals filtrierte Indikator durch etwas Salizylsäure haltbar gemacht. Dieser Indikator zeigt folgende Farbenreaktionen: ziegelrot (stark sauer), purpurrot (sauer), rotviolett (schwach sauer), violett (neutral)¹⁾, blau bis blaugrün (schwach alkalisch), grasgrün (stärker alkalisch), gelblich (sehr stark alkalisch). Der Farbstoff der Radieschen, der zu makrochemischen Zwecken wiederholt als Indikator empfohlen wurde (Sacher, Chem. Ztg. 1910, XXXIV, 1333), wäre in wässriger Lösung ebenfalls zu versuchen. Pfeffer²⁾ benutzte künstliche Farbstoffe in wässriger Lösung (0.01%), so Cyanin (Blaufärbung zeigt die alkalische Reaktion des Plasmas an), Tropaeolin, Corallin, Methylorange.

Die Methoden lassen sich auch zur Ermittlung der Reaktion einzelner Bestandteile des Plasmas anwenden. Mit dem Kohlfarbstoff werden am stärksten die Zellkerne gebläut (sowohl die Nukleolen und das Chromatin als auch das Gerüst), im Cytoplasma treten die Mikrosomen besonders kräftig gefärbt hervor³⁾. Chloro- und Leukoplasten besitzen ebenfalls alkalische Reaktion. Die saure Reaktion des Zellsaftes ist auf die Gegenwart der meist auftretenden Pflanzensäuren zurückzuführen.

Lebendfällung.

Fällungen in der lebenden Zelle (Lebendfällung) lassen sich, wie schon Ch. Darwin (Insektenfr. Pfl., 1876, S. 34, 58) mitteilte, durch stark verd. wässrige Lösungen von Alkaloiden und anderen basischen Substanzen hervorrufen (Alkalikarbonate, s. S. 257 ob., besonders Ammoniumkarbonat, de Vries, Bot. Ztg., 1886, XLIV, 1. Ammoniumnitrat ist ungeeignet, Czapek, Lit. S. 166, 1). Lebendfällung erfolgt auch bei der Plasmolyse (4% Rohrzucker, Salpeter, Chlorkalzium, W. Pfeffer,

¹⁾ Fr. Schwarz, Morph. u. chem. Zusammens. des Protoplasmas, Cohns Beitr., 1887, V, 20 u.: A. Meyer, Kritik der Ansichten von Frank Schwarz üb. d. alkal. Reakt. d. Protoplasmas, Bot. Ztg., 1890, XLVIII, 2, 234.

²⁾ W. Pfeffer, Über Aufnahme von Anilinfarben in lebenden Zellen, Tübinger Arbeiten, 1886, II, S. 179.

³⁾ Fr. Schwarz, Cohns Beitr. z. Biol. d. Pflanz., 1892, V, S. 12.

Lit. S. 442, 2). Bei nachträglichem Wasserzusatz verschwindet mit der Plasmolyse auch die Fällung.

Loew und Bokorny¹⁾ studierten seit 25 Jahren die Einwirkung basischer Verbindungen auf lebende Zellen und empfehlen in erster Linie Coffein (und Antipyrin) in 0.1–0.2% wässriger Lösung. Es entstehen glänzende, rundliche Tröpfchen, die ineinander fließen und sich (im Gegensatz zu der Alkalifällung) mehrere Tage unverändert halten. van Wisselingh (Lit. S. 258, 4) hat bei Algen eine 1% wässrige Antipyrinlösung benutzt und nach Czapek lassen sich noch folgende Lösungen anwenden: Pyridinlösung (1 Mol: 8–100 Liter, myelinartige Tropfenniederschläge), Chinolinlösung (einige Tropfen Chinolin mit Wasser geschüttelt, wirkt ähnlich), Phenylhydrazinlösung (in 50% Alkohol gelöst, gelbbraune, amorphe, zackige Schollen), Chinin, Codein, Morphin und ihre Salze erzeugen dichte feintropfige Niederschläge. Diese Niederschläge entstehen nur in unbeschädigten, lebenden Zellen, bei Echeverien vorzüglich in den unter der Epidermis liegenden Mesophyllzellen. Die Reaktion gestattet somit eine Unterscheidung von lebendem und totem Plasma²⁾. Die gefällten Tröpfchen wurden als **Proteosomen** bezeichnet. Ihre chemische Zusammensetzung ist trotz vieler Publikationen noch strittig.

Nach Loew und Bokorny³⁾ soll Gerbstoff nicht vorliegen, da gerbsaures Coffein, im Gegensatz zu den Proteosomen, sich sehr leicht in Ammoniak auflöst. Die Proteosomen koagulieren bei 50–56°, sowie durch verd. Säuren oder durch verd. Alkohol von 10–20% und geben Eiweißreaktionen. Doch unterscheiden sie sich von dem gewöhnlichen Eiweiß dadurch, daß sie durch 0.1% Ammoniak in feste Kugeln umgewandelt werden, die bei Druck zerbrechen. Czapeks Ansicht von der Löslichkeit der Proteosomen in Alkohol soll auf Vortäuschung

¹⁾ Th. Bokorny, Einwirk. bas. Stoffe auf d. leb. Plasma, Jahrb. f. wiss. Bot., 1888, XIX, 206; Üb. Aggregation, Jahrb. f. wiss. Bot., 1889, XX, 427. — O. Loew u. Th. Bokorny, Z. Chem. d. Proteosomen, Flora, 1892, LXXVI, 117.

²⁾ Hierzu hatten O. Loew und Th. Bokorny früher eine verd. alkalische Silberlösung benutzt, welche von lebendem, aber nicht von totem Plasma reduziert werden sollte (Lit. S. 413, 2). Dieser Nachweis wurde von verschiedenen Seiten abgelehnt (W. Pfeffer, Loew und Bokornys Silberredukt. in Pflanzenzell., Flora, 1889, LXXII, 46). Zur Unterscheidung von totem und lebendem Plasma dient Fuchsin. Totes Plasma speichert den Farbstoff begierig, lebendes nicht. Das Verfahren wird zur Unterscheidung von lebenden und toten Hefezellen benutzt; in einer 0.1% Fuchsinlösung erscheinen tote Hefezellen im mikroskopischen Bilde sofort stärker gefärbt als die Farblösung.

³⁾ O. Loew u. Th. Bokorny, Aktives Eiweiß und Tannin in Pflanzenzellen, Flora 1911, CII, S. 113 u. Lit. S. 409, 2.

eines Lösungsvorganges durch starken Alkohol beruhen. Ihre Unlöslichkeit zeigt sich, wenn man die Objekte zuerst mit 20% Alkohol 3—4 Stunden behandelt, wobei sie koagulieren; nachher bleiben sie in starkem Alkohol ungelöst und unverändert. Auch verd. Essigsäure kann zur Koagulation benutzt werden. Die Präparate werden in 0.5% Coffeinelösung gelegt (Bildung von Proteosomen) und dann das betreffende Glasröhrchen („einige Minuten“ bei Spirogyren, 10 Minuten bei Flächenschnitten von Echeveria) in, auf 60° erhitztes Wasser gebracht. Die Proteosomen koagulieren nun. Oder die Algen kommen in 0.5% Coffeinelösung, dann in 8% Essigsäure, die mit 4% Chlornatrium und 0.5% Coffein versetzt ist. Diese „Lösung wirkt sehr rasch auf die Proteosomen koagulierend“. Gerbstoffe bleiben selbst nach mehrtägiger Coffeinbehandlung löslich, die Proteosomen werden fest (ähnlich wirkt Jod). Die Proteosomen können nur aus äußerst labilen Proteinstoffen bestehen. Hingegen macht Czapek geltend, daß sich die Coffeinfällung beim Einlegen der Präparate auf kurze Zeit in Azeton, Äthylalkohol, Methylalkohol auflöst und daß Myelinformen entstehen, die auf Fette hindeuten, zumal Fettfarbstoffe (Sudan III, Alkannin in Azeton gelöst) gespeichert werden. Doch sollen nach Czapek auch konz. Tanninlösungen Myelinformen geben. Außerdem soll möglicherweise ein schleimiges, in Alkohol unlösliches Kohlehydrat in Betracht kommen. P. Klemm (Flora, 1882, LXXV, 397 u. Lit. S. 384, 1), der in Übereinstimmung mit Klercker einen Eiweißgehalt verneint, gibt bei Azolla, Rosa, Quercus, Nymphaea u. a. Gerbstoffe und Fette an und, da er bei Crassulaceen Rotfärbung mit Vanillinsalzsäure erhielt, einen phloroglucidischen Körper. Die Reaktion mit Vanillinsalzsäure kann aber auch auf Eiweißkörper (S. 415), möglicherweise auf Enzyme (S. 432) hinweisen.

Lebendfärbung.

Die Aufnahme verschiedener Anilinfarben durch die lebende Zelle, die Lebendfärbung, wurde von Pfeffer (Lit. S. 442, 2) und gleichzeitig an tierischen Objekten mit den gleichen Farbstoffen von Ehrlich¹⁾ studiert. Den Gründen, von denen die Farbstoffaufnahme abhängt, wird in neuester Zeit von den verschiedensten Seiten nachgeforscht. Da der gesamte Ein- und Austritt gelöster Substanzen in die lebende Zelle von der Plasmahaut abhängt und reguliert wird, so ist die Lebendfärbung von fundamentaler Bedeutung für die Erforschung der Plasmahaut, ihrer Permeabilität u. a.

¹⁾ P. Ehrlich, Über die Methylenreaktion der lebenden Nervensubstanz, D. med. Wehschr., 1886. Aus diesen Forschungen entwickelte sich die Farbentherapie, aus dieser in neuester Zeit die Chemotherapie, die großartige Erfolge in der Medizin zeitigte (P. Ehrlich, Aus Theorie u. Praxis d. Chemotherapie, Leipzig 1911).

Aus den ersten Versuchen ging hervor, daß nicht alle Farbstoffe zur Lebendfärbung geeignet sind. Ehrlich, der die Lebendfärbung auf chemische Ursachen zurückführte, hielt nur basische Farbstoffe für geeignet (Vitalfarben). Andererseits gelangte Overton (Lit. S. 229, 3) zu dem Ergebnis, daß sich Vitalfarben in Cholesterin und Lezithin leicht lösen (Lipoidlöslichkeit) und daß ganz allgemein ein Körper um so schneller in die Zellen eindringt, je mehr der Teilungskoeffizient „Löslichkeit in Fett durch Löslichkeit in Wasser“ zugunsten des Fettes liegt. So ergab sich die Lehre von der Lipoidnatur der Plasmahaut, die durch Czapeks Untersuchungen in neuerer Zeit gestützt wird. Doch kann „von einem geschlossenen Fetthäutchen¹⁾ als äußere Hülle des Protoplasten nicht die Rede sein“²⁾. Es kann sich „nur um eine äußerst feine Emulsion von Neutralfett handeln, deren Dispersionsmittel, das wohl als ein Eiweißsol anzusehen ist, für Wasser und wasserlösliche Stoffe gut permeabel ist“. Lepeschkin³⁾ betrachtet die Plasmamembran als eine kolloidale Lösung, die die Eigenschaften eines temporär flüssigen Niederschlages besitzt; „im Dispersionsmittel der Plasmamembran sind außer Wasser und Eiweißkörpern auch ölarartige Körper vorhanden“.

Andererseits konnte Ruhland⁴⁾ an größeren Versuchsreihen zeigen, daß die basischen Farbstoffe aufgenommen werden, die Säure-Farbstoffe, speziell die der Sulfosäure, im allgemeinen aber nicht. „Die Schnelligkeit der Aufnahme ist unabhängig vom Grade der Lipoidlöslichkeit. So werden z. B. das sehr schwer lipoidlösliche Malachitgrün und das Thionin mit großer Schnelligkeit, das sehr leicht lösliche Rhodamin ungemein langsam aufgenommen.“ Küster⁵⁾ fand, daß fettunlösliche Stoffe leicht in die Zellen eintreten. Nach Szücs⁶⁾ ist die Permeabilität der Plasmahaut nicht konstant. Die Aufnahme basischer Stoffe wird durch bestimmte Elektrolyten verzögert, so bei

¹⁾ Quincke schrieb dem Protoplasten eine periphere Ölhaut zu (Ann. d. Chem. u. Phys. 1888, XXXV, 630). Nach A. Nathansohn (mehrere Arb. in Jahrb. f. wiss. Bot., XXXII, XL u. a.) ist die Plasmahaut ein Mosaik von lebenden Plasmateilchen und Lipoiden.

²⁾ F. Czapek, Oberflächenspannung u. Lipoidgeh. d. Plasmahaut i. leb. Pflanzenz., Ber. d. bot. Ges., 1910, XXVIII, 480.

³⁾ W. Lepeschkin, Plasmamembr., Ber. d. bot. Ges., 1910, XXVIII, 393; Chem. Zusammens. d. Plasmamembr., Ber. d. bot. Ges., 1911, XXIX, 247.

⁴⁾ W. Ruhland, Permeab. d. Plasmahaut, Jahrb. wiss. Bot., 1909, XLVI, 1.

⁵⁾ E. Küster, Über die Aufnahme von Anilinfarben in lebende Pflanzenzellen, Jahrb. f. wiss. Bot., 1911, L, S. 261.

⁶⁾ J. Szücs, Protoplasmapermeabilität, Anzeiger, Wien. Ak., 1910, XVIII, S. 285.

Gegenwart saurer Farbstoffe; dabei entstehen Farbstoffsalze, für die die Zellhäute impermeabel zu sein pflegen.

Zu den basischen Farbstoffen, die aufgenommen werden, zählen (nach Ruhland): Azofarbstoffe (Anilingelb, Chrysoidin, Bismarckbraun), Triphenylmethanfarbstoffe (Malachitgrün, Rosanilin und Pararosanilin nebst Salzen, Dahlia, Methylviolett, Methylgrün), Pyroninfarbstoffe (Rhodamin B), Oxazine (Nilblau, Prune pure), Thiazine (Gentianin, Methylenblau, Methylengrün, Thioninblau, Toluidinblau), Azine (Toluylenrot, Safranin, Nigrosin). „Vollviolett S“, sagt Küster, „vermag vital in die Zellen von *Ruta graveolens* einzudringen; Chromgrün färbt die Zellen verschiedener Gewächse *intra vitam*. Mit den fluoreszierenden Pyroninfarbstoffen Eosin, Erythrosin und Echtsäurephoxin wurde an zahlreichen Pflanzen kräftige Vitalfärbung erzielt.“ Vollviolett S erscheint nach dem Eintritt an kleine Öltröpfchen gebunden. Indigkarmin färbt den Zellsaft nicht tiefblau, sondern nur zart blau oder fällt als Niederschlag aus. Bemerkenswert ist ferner, daß Säurefuchsin, Orange G, Naphthalingrün V u. a. eingetretene Farbstoffe durch Auswaschen in stehendem oder fließendem Wasser sich nicht mehr entfernen lassen.

Zur Lebendfärbung (Methode S. 257) dienen als Versuchsobjekte Algen, Epidermen von *Allium cepa*, submerse Wurzeln von, auf Wasser schwimmenden Pflanzen (*Azolla*, *Lemna*, *Tranea bogot.*). Zuerst wurden Methylenblau und Toluylenrot (Neutralrot) studiert. Pfeffer ließ Pflanzen einige Tage in einer Lösung von 1 Teil Methylenblau in 10 Millionen Teilen Wasser. Hierbei werden die Gerbstoffe gefällt. Methylenblau kann ohne Schädigung der Zellen durch 0.01% Zitronensäure wieder entfernt werden. Man kann auch (Küster) die Farblösungen in den Leitbündeln emporsteigen lassen, wodurch viele Farbstoffe, besonders saure, in das angrenzende Parenchym eintreten. Transpiration fördert die vitale Farbstoffaufnahme.

Eine eingehende Darstellung des Gegenstandes würde an dieser Stelle zu weit führen; es muß auf die angeführten Quellen verwiesen werden, in denen die Spezialliteratur angeführt ist. Erwähnt sei nur, daß die jüngsten Befunde Ruhlands¹⁾ zu folgendem Satze führten: „Für die Aufnehmbarkeit sowohl der basischen wie der Säurefarbstoffe in die lebende Pflanzenzelle bietet nicht die Lipidlöslichkeit, die Dialyse in Wasser, das Molargewicht oder die Anzahl der Benzolkkerne, sondern die Beweglichkeit der Farbstoffteilchen in konzentrierten, d. h. engporigen Gelen einen genauen Maßstab.“ Die Plasmahaut wirkt als Ultrafilter im Sinne Bechholds (Ztschr. phys. Chemie, 1907, LX, S. 257).

¹⁾ W. Ruhland, Die Plasmahaut als Ultrafilter bei der Kolloidaufnahme, Ber. deutsch. bot. Ges., 1912, XXX, S. 139.

Plasmolyse.

Unter Plasmolyse versteht man die Kontraktion des lebenden Protoplasten unter dem Einfluß wasserentziehender Reagentien. Man benutzt vorteilhaft Lösungen neutraler Substanzen in einer Konzentration, daß das Leben des Protoplastkörpers nicht leidet. (Wässrige Lösungen von Kalisalpeter [4%, ebenso wirkt Chlorkalium bei *Allium* und *Beta*, W. Wächter, *Jahrb. f. wiss. Bot.*, 1905, XLI, 165], Chlornatrium [5–10%], Rohrzucker [10–15%], Glycerin, Kaliumazetat u. a.). Versuchsobjekte sind Algenfäden, die Epidermen von Stengeln, Blättern, Zwiebelschuppen und Trichome. Der Plasmaschlauch zieht sich von der Membran allmählich zurück und erscheint als geschlossener Sack im Zelllumen. Bei farbstoffführenden Zellen tritt naturgemäß der Plasmaschlauch mit seinem farbigen Inhalt weit deutlicher hervor, da der Raum zwischen ihm und der Zellwand sich farblos abhebt. Aus diesem Grunde läßt man bei farblosen Objekten der Plasmolyse zuweilen eine Lebendfärbung (s. d.) vorangehen, oder aber man benutzt mit Eosin gefärbte plasmolysierende Flüssigkeiten; in letzterem Falle erscheint der plasmolysierte Plasmaschlauch ungefärbt und wird von einer gefärbten Zone umgeben. Für vergleichende Untersuchungen müssen Gewebestücke gewählt werden, deren Zellen gleich groß und gleichen Turgor besitzen (H. de Vries, *Jahrb. f. wiss. Bot.*, 1883, XIV, S. 443).

Beim Ersatz der Reagentien durch Wasser wird die Plasmolyse aufgehoben, das Cytoplasma dehnt sich wieder bis zur Zellwand aus. Bisweilen lösen sich während der Kontraktion Stücke vom Plasmakörper ab. Sie werden beim Auswaschen wieder von dem sich erweiternden Plasmaschlauch aufgenommen. Bei schmalen und langen Zellen zerfällt der Plasmaleib oft in mehrere Teilstücke, die sich in einigen Fällen schwer oder gar nicht nach erfolgtem Zusatz von reinem Wasser wieder vereinen. Alsdann hat sich die Oberfläche des Protoplasten verändert, wahrscheinlich durch Bildung einer Art von Haptogenmembran (Haptogen wird das Häutchen genannt, das sich an der Oberfläche der Kolloide bildet). Beim Rückgang der Plasmolyse in stark plasmolysierten Zellen (*Allium cepa*) durchbricht das Plasma zuweilen den kontrahierten Plasmaschlauch. Durch langes Liegen in plasmolysierenden Lösungen erfolgen in behäuteten Zellen (*Helodea*, *Daucus*, *Allium*) Kontraktionserscheinungen von Zellkern, Chromatophor und Körnerplasma¹⁾.

¹⁾ E. Küster, *Ber. d. bot. Ges.*, 1909, XXVII, 597, *Flora*, 1910, C, 267 u.: *Ztschr. f. Bot.*, 1910, II, 689.

Bei Bakterien und Cyanophyceen findet nur selten eine vollständige Ablösung des Protoplasmas von der Membran statt¹⁾, da dem Plasma größere Safräume fehlen und wohl auch eine festere Verbindung zwischen Plasma und Membran besteht. Bei Cyanophyceen sind Lösungen stärkerer Konzentration erforderlich (bei *Tolypothrix* 20% Salpeter). Hierbei erfolgt eine Verkürzung der Zellfäden um 25%. Eine geeignete Flüssigkeit, die Bakterien plasmolysiert und gleichzeitig fixiert, ist eine mit Jod gesättigte 10% Chlornatriumlösung (A. Fischer, Plasmolyse d. Bakt., Sächs. Ak. Sitzb., 1890, S. 52). Die Plasmolyse läßt sich verfolgen, wenn man das Eintrocknen eines hängenden Tropfens unter dem Mikroskop beobachtet. Der zur Plasmolyse nötige Salzgehalt stammt aus den Nährböden der Kulturen. — Bei *Spirogyren* wird durch Vorbehandlung mit 0.03—0.1% Sodalösung die Empfindlichkeit für Salpeter und Kochsalz stark vermindert; Vorbehandlung mit 0.1% Zitronensäurelösung verstärkt andererseits die schädigende Wirkung der Plasmolyse (Lepeschkin, Lit. S. 445,3). Im allgemeinen wird die Koagulation der Plasmamembran durch die saure Reaktion befördert und durch die alkalische gehindert. Bei einigen Meeresalgen wirken isotonische Zuckerlösungen stärker als isotonische Kochsalzlösungen (B. M. Duggar, Trans. Ak. St. Louis, 1906, XVI, 473). Bei Diatomeen hebt sich das Plasma meist an mehreren Stellen bogenförmig vom Kiele her ab (Benecke, Karsten.)

Ein spontaner Rückgang der Plasmolyse erfolgt bei längerem Liegen der Objekte in den plasmolysierenden Flüssigkeiten und kommt durch Eindringen der Lösungen in den Protoplasten zustande. Bei Keimpflanzen (*Vicia*, *Helianthus* u. a.) erfolgt der Rückgang in Rohrzucker und Salpeter (A. Wieler, Ber. bot. Ges., 1886, V, 375), bei Algen nach einigen Stunden auch in Chlornatrium (M. Janse, Bot. Centrbl., XXXII, 21), bei Bakterien nach 1—2 Stunden in 2.5 Salpeter, 1.25 Chlornatrium oder Chlorammon und in 15% Rohrzucker, in stärkeren Lösungen (5—10% Salpeter) viel schneller (A. Fischer, Jahrb. wiss. Bot., 1894, XXVII, 1). Die Verhältnisse liegen recht verschieden. H. de Vries hat bei 5stündiger Einwirkung von 7% Salpeter, Neutralsalzen u. a. (*Beta*, *Fragaria*), Klebs bei *Helodea*, Moosen, Farnprothallien in Zuckerlösung keinen Rückgang beobachtet.

Während bei der Plasmolyse der gesamte Plasmaleib in seiner Lebensfähigkeit nicht gestört wird, kann man bei der sogenannten anormalen Plasmolyse den Plasmaleib soweit abtöten, daß nur der Tonoplast (die Vakuolenwand) und die von diesem umschlossene Vakuole am Leben bleibt. De Vries²⁾ benutzte eine mit Eosin gefärbte 10%ige Kalisalpeterlösung (*Spirogyren*). Zunächst erfolgt normale Plasmolyse, so lange bleibt der gesamte Plasmaleib farblos. Nach

¹⁾ A. Fischer, Die Empfindlichk. d. Bakterienz. u. d. bakt. Serum, Ztschr. f. Hyg. u. Infekt., 1900, XXXV, 51 u: F. Brand, Üb. d. osmot. Verh. d. Cyanophyceenz., Ber. d. bot. Ges., 1903, XXI, 302.

²⁾ H. de Vries, Plasmolyt. Stud., Jahrb. f. wiss. Bot., 1886, XVI, 465.

2 Stunden fangen die äußeren Schichten des Plasmas sich zu färben an, sie sterben ab, bald ist das ganze Plasma gefärbt und nur die Zellsaftvakuolen erscheinen farblos, da der lebende Tonoplast die Lösung am Eindringen hindert. Die Vakuolen schnüren sich zuweilen ein (durch den Druck des abgestorbenen Plasmas), teils sind sie mehr oder weniger isoliert. In längeren Zellen kann die Einschnürung bis zur Teilung der Vakuolen fortschreiten; die Vakuolen können sich noch einige Tage am Leben halten. Went¹⁾ fixiert die Vakuolen mit $\frac{1}{2}$ —1% Chromsäure (1—2 Tage), dann folgt Auswaschen in strömendem Wasser und Behandlung mit Alkohol (20—95%, je 3—4 Stunden); aus dem fixierten Material werden in bekannter Weise Mikrotomschnitte hergestellt. Lidforss²⁾ erhielt bei Potamogeton anormale Plasmolyse, wenn er die Schnitte zunächst mit einer nicht plasmolysierenden Soda-lösung behandelte und dann erst 10% Salpeter zufügte.

Die Plasmolyse dient zur Ermittlung des osmotischen Druckes (Pfeffer, Tröndle, Ber. d. bot. Ges., 1909, XXVII, 71 u. a.), zur Sichtbarmachung von im Zellsaft gelösten Körpern (S. 193, 220, 249 u. a.), zum Nachweis der Lokalisation (S. 116, 1 u. ob.) gewisser Inhaltskörper, bei der Feststellung von Membranveränderungen (Höhlke, Bot. Centr., Beih., 1901 u. Lit. S. 222, 4), bei der Schleimbildung, zur Isolierung der Protoplasten (J. af Klercker, 1892) und zum Nachweis zarter Plasmabeläge (Th. Lange, Flora, 1891, S. 393) in lebenden Elementen (Plasmolyse mit 5% Salpeter, Fixierung mit Pikrinsäure, Färbung).

Als **Plasmoptyse** bezeichnet A. Fischer (Ber. bot. Ges., 1906) den Austritt des Protoplasmas aus Bakterien, wobei bei geißeltragenden Bakterien die Membran intakt bleibt, bei geißellosen gesprengt wird. Nach A. Meyer handelt es sich um kuglige Anschwellung der ganzen Bakterienzellen (Ber. bot. Ges., 1906, XXIV, 208). Nach Schuster ist die Plasmoptyse eine Absterbeerscheinung (Ber. bot. Ges., 1910, XXVIII, 496). Bei Cyanophyceen (Brand) tritt das Plasma teils durch Zellsprengungen, teils „durch die Pori der Plasmodesmen“ heraus, wenn auf die Fäden nach kurzer Einwirkung ($\frac{1}{2}$ Min.) von reinem Glyzerin schnell wieder Wasser zutritt.

Der Zellkern.

Zellkerne finden sich jedenfalls in den Zellen aller Pflanzen, nur bei den Cyanophyceen ist das Vorhandensein echter Zellkerne bis in die neueste Zeit strittig. In jugendlichen Zellen ist der Zellkern gewöhnlich rund, scheibenförmig, in älteren Zellen nimmt er langgestreckte Formen an, erscheint stab- oder spindel-

¹⁾ F. A. F. C. Went, D. Vermehr. d. normal. Vakuol. d. Teil., Jahrb. f. wiss. Bot. 1888, XIX, 295.

²⁾ B. Lidforss, Eigenartige Inhaltskörper bei Potamog. praelong., Bot. Centrbl., 1898, LXXIV, S. 305.

Tunmann, Pflanzenmikrochemie.

förmig gestreckt, im Samen zuweilen von unregelmäßiger Gestalt. Die Größe der Zellkerne schwankt bedeutend. Bei den Pilzen sind sie oft nur 1—2 μ , bei Bakterien nur 0.3 μ groß, bei den Dikotylen 5—10 μ . Ranunculaceen, Nymphaeaceen, Monokotylen führen größere Kerne (30—50 μ), die langgestreckten Kerne (Fadenkerne) in den Sekretbehältern von Aloe werden 80:40 μ groß, im Schleim von *Lycoris radiata* bis 1.5 mm lang. Im allgemeinen findet sich in jeder Zelle nur ein Kern, doch kommen in langgestreckten Elementen (Bastfasern, Milchröhren) auch mehrere bis zahlreiche Kerne vor. Bei endgültiger Ausbildung der Zellen lösen sich die Kerne meist auf. „Bei den Entwicklungs- und Gestaltungsvorgängen der Zelle“ (Haberlandt) kommt ihnen eine große Bedeutung zu. Auch als Träger der Vererbungssubstanz werden die Zellkerne angesprochen.

Bei den meisten niederen und bei allen höheren Pflanzen hat der ruhende Zellkern einen komplizierten Bau, der erst an fixierten und gefärbten Kernen deutlich hervortritt. Man sieht an gefärbten Objekten, daß der Kern aus einem zarten Gerüstwerk eines nicht färbbaren Fadens besteht, dessen Substanz als Linin bezeichnet wird. In dem Faden liegen stark färbbare Körnchen, die man als Chromatin bezeichnet. Zwischen den Windungen des Lininfadens liegen 1—3 Kernkörperchen, Nukleolen, die den am stärksten färbbaren Teil des Zellkernes bilden, sich anders als die Chromatinkörnchen färben und meist kugelige, doch auch länglich eiförmige, sichelförmige, selbst gelappte Gestalt besitzen, homogen, seltener vakuolisiert sind und an ungefärbten Kernen ohne weiteres als stark lichtbrechende Gebilde hervortreten. Nukleolen, die im Cytoplasma liegen (extranukleare Nukleolen), finden sich bei Liliaceen. Die Nukleolen bestehen wahrscheinlich aus Chromatin und Plastin; sie sind typische Reservkörper, da sie das Material zur Bildung der Chromosomen liefern und bei höheren Pflanzen ebenfalls kinoplasmatische Zellbestandteile führen. Bei der sog. Dreifachfärbung (s. v. unt.) werden die Nukleolen rot, die Chromatinkörner violettblau. Das Gerüstwerk des Kernes findet sich in der mit einer homogenen Flüssigkeit, dem Kernsaft, erfüllten Kernhöhle, die von der kinoplasmatischen (dem Cytoplasma angehörenden) Kernwand umhüllt wird.

Der Zellkern gehört zu den spezifisch schwersten Bestandteilen der Zelle (Lit. S. 18, 1). Beim Zentrifugieren werden die Nukleolen ausgeschleudert und gelangen mit den Kernen an das zentrifugale Ende der Zellen.

Die Zellkernteilung ist fast ausschließlich eine indirekte (mitotische) Teilung (Karyokinese). Zuweilen beruht die Kernteilung auf Durchschnürungsprozessen (direkte, amitotische T., Fragmentation), so bei niederen Pflanzen (Characeen, Tradescantien), in alternden Zellen u. Wundgeweben. — Eine eingehende Darstellung des Baues der Zellkerne und der bei der Karyokinese stattfindenden Vorgänge würde hier zu weit führen; es muß in dieser Hinsicht auf die botanische Spezialliteratur verwiesen werden, in der sich auch zahlreiche Abbildungen finden.

Kernfreie Zellen, deren Lebensdauer nur eine kurze ist, kann man aus in Teilung begriffenen Conjugaten erhalten. Man läßt auf *Spirogyra* oder *Zygnema* während der Teilung 15 Minuten bis mehrere Stunden Chloralhydrat (0.25—1.5 ccm konz. Lösung in 100 ccm Wasser),

Äther (0.5—2.5 ccm) oder Chloroform (1.25—7.5 ccm) einwirken und bringt die Algen dann in frisches Wasser. Unter den einzelnen Schwesterzellen finden sich Zellen mit einem großen Kern oder mit zwei Kernen normaler Größe und anderseits kernlose Zellen. Der gleiche Effekt läßt sich durch plötzliche Abkühlung erzielen¹⁾. Ähnliche Beobachtungen machten Haberlandt (*Bryonia*), Schmitz u. a.

Bei diesen Vorgängen treten Kernteilungen ein, die Amitosen und abnormalen Mitosen ähnlich sind. Dergleichen lassen sich künstlich hervorrufen nach Nathansohn (Jahrb. wiss. Bot., 1900, XXXV, 48) bei *Spirogyren* (über Nacht kühl gestandene Algen gelangen auf $\frac{3}{4}$ Stunden in 1% wässrige Ätherlösung), bei *Closterium* ($\frac{1}{4}$ % Ätherlösung), *Tradescantia virginica* (Staubfädenhaare, Blütensprosse mit Knospen 36 Stunden in 2% Ätherlösung unter Glasglocke), nach Wisselingh (Bot. Ztg., 1903, LXI, 202) bei *Spirogyra* (2—12 Tage in $\frac{1}{20}$ % Chloralhydrat in Grabenwasser), nach Wasielewski (Jahrb. wiss. Bot., 1904, XXXIX, 581) bei *Vicia faba* (Keimwurzeln, Bohnen 24 Stunden quellen, 5 Tage in 0.1—0.2% Chloralhydrat oder in 2% Ätherwasser, dann auswaschen und auf einige Tage in Sägespäne aussäen). In allen Fällen handelt es sich um echte Mitosen, die durch Äther oder Chloral in verschiedenen Stadien zum Stillstand gebracht wurden und Amitosen vortäuschen (B. Němec, Jahrb. wiss. Bot., 1904, XXXIX, 645).

Die Kernwand des ruhenden Kernes ist wenig tinktionsfähig. Sie läßt sich nach Schwarz (Lit. S. 442, 1) durch eine konz. wässrige Lösung von Kaliumdichromat oder durch 20% Kochsalz- oder Monokaliumsulfatlösungen deutlich sichtbar machen. Während der Karyokinese wird sie resorbiert. Um sie in den verschiedenen Phasen der Karyokinese verfolgen zu können, ließ van Wisselingh (Bot. Ztg., 1902, LX, 115) lebendes Material langsam sterben (*Spirogyra*) und benutzte zunächst 10% Kalisaltpeter. Die besten Resultate gaben 1 und 2% mit Eosin gefärbtes Chloralhydrat. Der Kern wird „sehr deutlich gefärbt und ist also, wenn seine Wand noch intakt ist, scharf von seiner Umgebung zu unterscheiden“.

Die Grundmasse des Zellkernes verhält sich nach Zacharias wie folgt: „Sie quillt in verd. Salzsäure und Magensaft, färbt sich nicht in Essigkarmin, Methylgrünessigsäure (nach Behandlung mit Magensaft), quillt in verd. Kalilauge und wird dann beim Erwärmen zerstört, desgleichen verschwindet sie, wenn 0.5% Kalilauge, 0.5 oder 1% Soda auf die nach der Verdauung zurückbleibenden Reste einwirken. In stärkerer Salzsäure bleiben Grundmasse und Verdauungsreste gut erhalten. Die Grundmasse färbt sich nach Vorbehandlung mit verd. Salzsäure mit Methylblau-Fuchsin S rot. Mit Methyl-

¹⁾ J. Gerassimoff, Über ein Verfahren, kernlose Zellen zu erhalten (Zur Physiologie der Zelle, Moskau, 1896).

grünessigsäure-Glaubersalz wird sie ohne zu quellen blau. Sie quillt auch nicht in 10% Chlornatrium und in Glaubersalzlösung.“

Im allgemeinen sind wir über die Mikrochemie des Zellkerns noch sehr ungenau unterrichtet und die zur Verfügung stehenden Reaktionen, die S. 409 u. folg. angeführt sind, haben bisher nur zum Teil übereinstimmende Ergebnisse gezeitigt. Die Methoden zum Nachweis des Phosphors (S. 91) und des Eisens im Zellkern sind noch unsicher, der Jodgehalt des Kernes noch ganz ungewiß. Überdies liegen derzeit noch verhältnismäßig wenige rein mikrochemische Arbeiten vor, denn bei den Zellkernstudien stehen Färbungen an erster Stelle. Die Ansichten, ob den Färbungen chemische Reaktionen zugrunde liegen, sind geteilt (S. 419). Wenn wir uns aber der Färbungen zur Identifizierung zweifelhafter Gebilde bedienen, so können wir diese Färbungen als mikrochemische Reaktionen im weiteren Sinne betrachten. Wohl ist der Zellkern in lebenden Zellen meist ohne weiteres zu erkennen, doch schwer ist seine Bestimmung zuweilen in getrockneten Pflanzen und vielfach dann, wenn stärke- oder aleuronhaltige Gewebe vorliegen oder der Kern nur klein und von ungewöhnlicher Form ist. Nicht immer führt direktes Eintragen der Schnitte in Chloralhydrat zum Ziel. Leicht werden andere Inhaltskörper als Zellkerne angesprochen. Häufig sind Verwechslungen von Zellkernen und Oxalaten. —

Es sollen zunächst jene einfachen Methoden angeführt werden, die Fixieren und Färben vereinen, auf dem Objektträger ausgeführt werden und zum Nachweis ruhender Kerne meist benutzt werden.

Gute Erfolge liefert Methylgrünessigsäure¹⁾ (1–2% Essigsäure wird mit Methylgrün bis zur blaugrünen Färbung versetzt). Das Reagens wird mit einem Tropfen verd. Glyzerins versetzt und das Objekt eingelegt. Die Methode wird auch herangezogen, um Teilungszustände auf bequeme Weise schnell beobachten zu können; man zerdrückt die jugendliche Anthere einer Monokotylenblüte auf dem Objektträger in dem Reagens. (Carnoy²⁾ verwendet eine stärkere Essigsäure [1 Teil Eisessig, 3 Teile absoluten Alkohol]). In gleicher Weise läßt sich Jodgrün oder Gentianaviolett, in 1–2% Essigsäure gelöst, benutzen.

¹⁾ Methylgrün wurde von J. Hanstein zum Färben von Chlorophyllkörnern benutzt, später von Treub zur Färbung von Zellkernen empfohlen (S. d. cell. vég. à plus. noyaux, Arch. Néerl., 1880, XV, S. 7). In Kombination mit Essigsäure führte E. Strasburger den Farbstoff ein (Zellbild. u. Zellteil., 1880).

²⁾ J. B. Carnoy, La cytodierèse de l'œuf chez quelq. Nématodes, La Cellule, 1887, III, S. 6 u. 276.

Die Färbung hält sich nur wenige Stunden. Jugendliche Membranen sollen in dem Reagens zuweilen stark aufquellen.

Nigrosin-Pikrinsäure führte Pfitzer¹⁾ ein (eine konz. wässrige Pikrinsäurelösung wird mit wenig wässriger Nigrosinlösung bis zur tief olivgrünen Färbung versetzt). Die Objekte bleiben einige Stunden bis 1 Tag in der Farblösung, werden mit Wasser, Alkohol oder Glycerin ausgewaschen; die Färbungen sind haltbar. Nach Glycerin folgt Einschließen in Glycerin-Gelatine; bessere Resultate gibt Auswaschen mit Alkohol, dann Nelkenöl, Kanadabalsam. Die Färbung des Plasmas hängt von der Beschaffenheit desselben ab, dünne Plasmasschichten werden kaum wahrnehmbar gefärbt, Zellkern und Nukleolen aber sehr stark blau. Zellulosemembran und Stärke bleiben ungefärbt.

Hämatoxylinfärbungen (früher für die besten gehalten, Johow, Zellk. in Sekretbeh. d. Monocotyl., Diss. Bonn, 1880, S. 9) werden auch heute noch vielfach zu rein diagnostischen Zwecken herangezogen. Hämatoxylin färbt in Gegenwart einer Beize, eines Eisen-, Kupfer- oder Aluminiumsalzes, die Zellkerne oft schon nach 1stündiger Einwirkung tiefblau. Sind diese Salze im Gewebe enthalten, dann tritt mit Hämatoxylin allein eine wenn auch schwache Färbung ein. Will man größere Objekte färben (Stückfärbung), dann beläßt man sie mehrere Tage in einer mit Wasser verd. Hämatoxylinlösung. Alkoholmaterial muß zur Vermeidung von Niederschlägen zuvor auf einige Zeit in Wasser gelegt werden. Zur Differenzierung benutzt man Säurealkohol, 2% wässrige Alaunlösung, 1% Kaliumdichromat oder konz. wässrige Pikrinsäure. Diese Flüssigkeiten müssen vor dem Übertragen der Präparate in Alkohol, Kanadabalsam oder Glyzerin-gelatine sorgfältig ausgewaschen werden. Stärkereiche Schnitte entwässert man nach der Färbung (in einfachster Weise durch Austrocknen an der Luft) und fügt Nelkenöl zu, wodurch die Stärkekörner hyalin werden und die Kerne sofort auffallen.

Hämatoxylinlösungen werden meist nach Böhmer und Delafield bereitet. Böhmer: Lös. I (0.35 g krist. Hämatox. in 10 g abs. Alkohol), Lös. II (0.3 g Kalialaun in 10 g Wasser). 10 Tropfen von I werden mit II gemischt, die Mischung wird nach mehrtäg. Stehen im Licht filtriert. — Delafield: Lös. I (gesättigte Lös. von krist. Hämat. in abs. Alk.), Lös. II (gesättigte wässr. Lös. von krist. Ammoniakalaun). 4 cem von I mit 150 cem von II mischen, die Mischung nach 8tägigem Stehen im Lichte filtrieren; das Filtrat, mit 22 cem Glycerin und 25 cem Methylalkohol versetzt, bildet das Reagens. — Sofort gebrauchsfertig ist

¹⁾ E. Pfitzer, Über ein Härt. u. Färb. vereinigt. Verf. f. d. Unters. d. plasmat. Zelleibes, Ber. d. bot. Ges., 1883, I, S. 44. — Nigrosin wurde als Kernfärbemittel zuerst von L. Errera benutzt (Coloration des noyaux par la nigrosine, Soc. belg. de Micr., 1881, VII, No. 8).

die Lös. von P. Mayer (1 g Hämat., 1000 g Wasser, 0.2 g Natriumjodat, 50 g Alaun), sowie die von Hansen, die aber umständlicher in der Herstellung ist (1 g krist. Hämat. in 10 g abs. Alkohol, dann 20 g Kalialaun in 200 g Wasser. Am anderen Tage beide Lösungen mischen und 200 g des Gemisches mit 3 ccm konz. wässer. Kaliumpermanganatlös. zum Sieden erhitzen, abkühlen, filtrieren). Weitere Vorschriften (Apáthy, Ehrlich) bei Behrens-Küster, Mikr. Tab., 112.

Bei aleuronhaltigen Samen¹⁾ ist die Entfernung des Öles notwendig; man wird vorteilhaft mit einer wässrigen Lösung von Methylenblau färben. Die Aleuronkörner, die gleichfalls den Farbstoff speichern, werden entfernt (eintägige Behandlung mit 0.3% Salzsäure). Die Aleuronkörner vieler Pflanzen sind nun vollständig gelöst, die schwerlöslichen immerhin so angegriffen, daß sie die Beobachtung nicht stören. Will man aber die schwerlöslichen Aleuronkörner gänzlich entfernen, so läßt man 24 Stunden Pepsin-Pankreatin einwirken (1 Teil Pepsin, 1 Teil Pankreatin-Glyzerin, 20 Teile 0.3% Salzsäure). In schwierigen Fällen wird die Färbung durch Chloralhydrat unterstützt; Chodat²⁾ läßt auf die mit Methylgrünessigsäure gefärbten Protococcoideen Chloralhydrat (8:5) einwirken, welches Chromatophoren und Plasma löst und die Stärke verquillt, und A. Meyer³⁾ empfiehlt zur Färbung der Kerne in Pollenkörnern Chloralcarmin (0.5 g Carmin, 30 ccm Alkohol, 30 Tropfen off. Salzsäure auf dem Wasserbade $\frac{1}{2}$ Stunde kochen, nach dem Erkalten 25 g Chloralhydrat zufügen, mehrmals filtrieren; die Lösung ist haltbar).

Der von Overton (Lit. S. 254, 1) empfohlene mikrochemische Nachweis (Nitella, stärkereiche Eizelle) durch Bildung von Berlinerblau (S. 413) ist umständlich; die Lösung der Stärke erfolgt bei der stark verd. Säure zu langsam, man muß schließlich zum Chloral greifen. — In Sekretbehältern (Lit. S. 170, 3) lassen sich die Kerne mit Chromatschwefelsäure (S. 98 oder ein Gemisch von Kaliumdichromat und Schwefelsäure im Überschuß oder 1. Wasser, 4. konz. Schwefelsäure, gesättigt mit Chromsäureanhydrid) sichtbar machen.

Die bisher angeführten Färbungen dienen überwiegend nur diagnostischen Zwecken. Zu eingehenden Studien, besonders der Teilungsvorgänge, sind gut fixierte, gehärtete und gefärbte Schnitte erforderlich (S. 41). Diese Zellkernforschungen haben sich zu einem selbständigen Zweige entwickelt. Es muß auf die Spezialliteratur verwiesen werden. Immerhin scheint es angebracht, einige der zum Fixieren und Färben dienenden Methoden anzuführen, vorzüglich die Zusammensetzung der Reagentien zu erwähnen, zumal die Färbungen

¹⁾ W. Koeppen, Verh. d. Zellk. im ruhend. Sam., Diss. Jena, 1887, S. 7.

²⁾ R. Chodat, Entw. d. Eremosphaera viridis, Bot. Ztg., 1895, LIII, S. 137.

³⁾ A. Meyer, Chloralcarmin zur Färbung der Zellkerne der Pollenkörner, Ber. deutsch. bot. Ges., 1892, X, S. 363.

nicht nur zum Studium des Zellkernes sondern auch der übrigen Bestandteile des Protoplasten dienen.

Auf die, den Färbungen zugrunde liegenden Prozesse kann hier nicht näher eingegangen werden. Vielfach wird die Ansicht vertreten, daß die Anilinfarben mit den Eiweißkörpern chemische Verbindungen eingehen, daß Verbindungen der Farbsäuren entstehen, zumal Heidenhain (Ztschr. wiss. Mikr., 1902, Arch. ges. Phys., 1902 u. a.) gefunden hatte, daß Eiweiß sowohl in Lösung als auch in fester Form sich mit Farbsäuren und Farbbasen in der Farbe der betreffenden Farbsalze färbt. Von Michaelis (Pflüg. Arch., 1903) wurde aber darauf hingewiesen, daß Zellulose sich in dieser Hinsicht ebenso verhält und von anderer Seite wird die Färbung als ein rein physikalischer Vorgang betrachtet. Besonders A. Fischer (Fix., Färb. u. Bau d. Pl., 1899) hat die Färbung auf physikalische Prozesse zurückgeführt, ihm haben sich u. a. Miede (Flora, 1903, LXXXVIII, 105) und Arnoldi angeschlossen. Die physikalischen Eigenschaften eines Körpers stehen indessen mit seiner chemischen Konstitution in nahem Zusammenhang.

Daß man mit den üblichen Methoden vielfach Kunstprodukte erhält, hat A. Fischer¹⁾ gezeigt. Pepton, Hämoglobin, Casein, Conglutin u. a. wurden mit den gebräuchlichsten Fixierungsmitteln behandelt und zeigten schöne Granulabildung. Holundermark wurde mit 2 bis 10% Peptonlösung injiziert, mit 1% Osmiumsäure, Altmanns Mischung fixiert, gefärbt und geschnitten. Die Präparate ließen Zellkerne, Mikrosomen, Granula u. a. erkennen. Des weiteren lassen sich mit einer Albumoselösung je nach ihrer Konzentration und mit ein und derselben Fixierungsflüssigkeit verschieden gestaltete Fällungen erzielen, die mit Farbgemischen verschiedene Färbungen annehmen. Eine wässrige 3% Albumoselösung wird durch Platinosmiumessigsäure in großen Granulis ausgefällt, eine 1/10% Lösung als winzige Körnchen. Mischt man beide Fällungen und färbt das Gemisch mit Flemmings Safranin-Gentiana, dann werden die großen Fällungen rot, die kleinen violett gefärbt.

Die lebenden Zellkerne verhalten sich anders wie die getöteten (fixierten). Schon die Versuche von Campbell²⁾, der im Anschluß an die Lebendfärbung des Plasmas (S. 444) lebende Zellkerne (*Tradescantia virg.*) mit 0.001—0.002% wässrigen Lösungen von Methylviolet, Mauvein oder Dahlia färbte, hatten nur geringen Erfolg. Damit ist jedoch noch nicht erwiesen, daß die lebenden Zellkerne eine völlig

¹⁾ A. Fischer, Zur Kritik der Fixierungsmethoden und der Granula, Anat. Anz., 1894, IX, S. 678 u.: Cyanophyc. u. Bakt., Jena 1897.

²⁾ H. D. Campbell, The Stain. of liv. Nucl., Arb. Tübing. Inst., II, S. 569.

andere Zusammensetzung als die abgestorbenen besitzen. Wahrscheinlich findet beim Absterben nur eine Umsetzung labiler Eiweißgruppen statt.

Eine kritische Studie über den Wert der Fixierungsmittel hat von Wasielewski¹⁾ (Wurzelspitzen von *Vicia faba*) ausgeführt. Die besten Resultate geben die Gemische von Flemming, Hermann und vom Rath. Dann folgten die essigsäurehaltigen Flüssigkeiten (Zenker, Carnoy, Boveri, Flemming, Keiser). Nicht so gut wie die Gemische fixieren die Einzelflüssigkeiten mit Ausnahme von Platinchlorid. Durch besondere Eigenschaften sind ausgezeichnet: Osmiumsäure, Kaliumbichromat (erhalten die Zellmasse am vollständigsten), Platinchlorid (bestes Einzelmittel für Kernteilungen), Essigsäure, Pikrinsäure (dringen schnell ein, sind strukturerhaltend).

Im folgenden ist die Zusammensetzung der meist gebrauchten Fixierungsmittel angegeben:

Osmiumsäure, 1%, 1849 von Baruell, 1865 von Schultze²⁾ eingeführt, dient in Dampfform zum Fixieren kleiner Objekte, die im flachen Hängetrophen 20—30 Minuten auf die Osmiumflasche gebracht werden (Meeresalgen, Berthold). Größere Pflanzenstücke gelangen auf mehrere Stunden in 1% Lösung, eintretende Schwärzung des Gewebes (Fett) kann leicht beseitigt werden (S. 160). — Jod (Brom) für kleinere Objekte in Dampfform. Die beschickten Objektträger kommen in den Jod-Exsikkator (S. 14) oder als Hängepräparate auf die Öffnung der Jodgefäße. Nach Fixierung wird das Auswaschen umgangen und das Jod durch Erwärmen der Präparate auf 30° entfernt. Als Fixierlösung dient Jodjodkalium und Jod-Meerwasser (Meerwasser mit Jodalkohol 1:10 bis zur hellbraunen Färbung versetzt). Meeresalgen werden 1 Minute in der Lösung umgeschwenkt, dann in 50% Alkohol übertragen und sind tinktionsfähig. Bei quellbaren Membranen am besten „45—50% Alkohol, der statt destilliertem Wasser Seewasser enthält“ (Tobler, Lit. S. 4, 4, dann S. 36, 3 u.: G. Berthold, Beitr. z. Morph. u. Phys. d. Meeresalgen, Jahrb. f. wiss. Bot., 1882, XIII, S. 704). — Pikrinsäure (konz. wässer. od. alkohol. Lös.), Einwirkung bis 1 Tag, Auswaschen mit Alkohol. Störende Gelbfärbung wird mit Lithion-Alkohol entfernt (einige Tropfen einer konz. wässer. Lös. von Lithion carbonicum in 95% Alkohol³⁾). Lithionpikrat ist alkohollöslich. — Chromsäure (0.5—1% wässer. Lös.), Einwirkung bei kleineren Objekten mehrere Stunden, bei größeren (Zerkleinern!) 1—2 Tage, gründliches Auswaschen in fließendem Wasser, Härtung in Alkohol von steigender Konzentration. Fällt gleichzeitig Gerbstoffe. Für Färbungen Salzsäure-Alkohol zur Entfernung des Chroms. — Essigsäure (1—3%), Sublimat (konz.,

¹⁾ W. von Wasielewski, Über Fixierungsflüssigkeiten in der botanischen Mikrotechnik, Ztschr. f. wiss. Mikr., 1899, XVI, S. 303.

²⁾ M. Schultze, Zur Kenntn. d. Leuchtorgane von *Lampyrus splendidula*, Arch. mikr. Anat., 1865, I, S. 132.

³⁾ O. Jelinek, Methode z. leicht. u. schnell. Entf. d. Pikrins. aus Geweben, Ztschr. f. wiss. Mikr., 1894, XI, S. 243.

wässer. od. alkohol. Lös., Einwirkung bis 1 Tag, Auswaschen mit 1% Jodalkohol, dann Alkohol) und Platinchlorid (0.3% wässer. Lös., Einwirkung bis 1 Tag) werden meist nur in Gemischen benutzt.

Chromessigsäure (70 Vol. Chroms. 1%, 5 Vol. Eisessig, 90 Vol. Wasser), Einwirkung bis 24 Stunden, bei Süßwasseralgen nur bis 12 Stunden, weil sonst manche Algen teilweise zerfallen (Lit. S. 36, 4). Auswaschen in Wasser, Härtung in Alkohol steigender Konzentration. — Chromosmiumessigsäure (Flemmings Gemische¹⁾), vielfach anwendbar, Gewebestücke möglichst klein, Auswaschen in fließend. Wasser, dann dest. Wasser, Alkohol. Die fixierten Objekte lassen sich in Wasser-Alkohol-Glyzerin (gleiche Teile) aufbewahren, ohne ihre Tinktionsfähigkeit zu verlieren. Schwache Lös. (0.25% Chroms., 0.1 Osmiums., 0.1 Essigs. in 100 Wasser); starke Lös. (15 Vol. Chroms. 1%, 4 Vol. Osmiums. 2%, 1 Vol. Eisessig). — Als Ersatz dient in neuerer Zeit Zinkchlorid-Eisessig von Juel²⁾ (je 2% Zinkchlorid und Eisessig in 50% Alkohol). — Sublimateisessig (Keiser, 10. Sublimat, 300. Wasser, 3. Eisessig) von Strashurger u. a. viel benutzt (bei Farnen unbrauchbar, F. Rosen, Cohns Beitr., 1895, VII, S. 225), Einwirkung mehrere Stunden, dann Wasser, Alkohol, Jodalkohol, Alkohol. — Zenkersche Lösung³⁾ (5. Sublimat, 2.5 Kaliumdichromat, 1. Natriumsulfat, 100. Wasser, 1 ccm Eisessig) empfiehlt Goetz (Eiknospe b. d. Characeen, Diss., Freiburg) bei 20stündiger Einwirkung für Characeen. — Platinchlorid-Chromessigsäure (Merkels Gemisch, Böhm u. Oppel, Taschenb. d. mikr. Techn., 1900, S. 199), Einwirkung bis 24 Stunden (je 100 Vol. Chroms. 1% u. Platinchlorid 1% u. 600 Vol. Wasser). Bei Meeressalgen Aufbewahren in Seewasser-Alkohol 1+1 (Tobler). — Platinchlorid-Osmiumessigsäure (F. Hermanns Gemisch, Entstehung d. karyokin. Spindel, Arch. f. mikr. Anat., XXXVI, S. 569), Einwirkung 1—2 Tage (15 Vol. 1% Platinchlorid, 2—4 Vol. 2% Osmiums., 1 Vol. Eisessig), sehr viel gebraucht; Auswaschen in fließendem Wasser, Härtung in Alkohol steigender Konzentration. — vom Rathsche⁴⁾ Pikrinsäuregemische: Pikrinosmiumessigsäure (200 ccm gesättigte, wässer. [destill. Wasser], filtr. Pikrins., 12 ccm 2% Osmiums. und nach einigen Stunden 2 ccm Eisessig). Für Kernteilungsfiguren sehr geeignet, im Plasma aber fast stets Veränderungen. — Pikrinosmium-Platinchloridessigsäure, a) starke Lös., 200 ccm konz. wässerige Pikrins., 25 ccm 2% Osmiums., 1 g Platinchlorid in 10 ccm Wasser gelöst und 2 ccm Eisessig; b) die schwache Lös. von gleicher Zusammensetzung, aber nur 12 ccm 2% Osmiums. Die starke Lös. wurde von Oltmanns⁵⁾ mit 10—20 Teilen

¹⁾ W. Flemming, Über die Wirkung von Chromosmiumessigsäure auf Zellkerne, Arch. f. mikr. Anat., 1895, XLV, S. 162.

²⁾ H. O. Juel, Studien über die Entwicklungsgeschichte von *Saxifraga granulata*, Ztschr. f. wiss. Mikr., 1907, XXIV, S. 339.

³⁾ K. Zenker, Chromkali-Sublimat-Eisessig als Fixierungsmittel, Münch. Med. Woche, 1894, XLI, S. 532.

⁴⁾ O. vom Rath, Beitr. z. Kenntn. der Spermatogenese von *Salamandra maculosa*, Ztschr. f. wiss. Zool., 1893, LVII, S. 97 und: Zur Konservierungstechnik, Anat. Anz., 1895, XI, S. 280.

⁵⁾ Fr. Oltmanns, Entwicklgesch. d. Florideen, Bot. Ztg., 1898, LVI, S. 99.

Seewasser verd. bei Florideen benutzt. Einwirkung 1—5 Minuten, Auswaschen mit 70% Alkohol. Damit werden auch die Chromatophoren fixiert. Bei 10 Minuten langer Einwirkung dient sie bei Characeen (Goetz) mit 12stündiger Nachbehandlung zur Entfernung der Inkrustationen. — Pikrinschwefelsäure, die nach Lee und Wasielewski „auf Plasma und Kern nachteilig“ wirkt, wird vornehmlich bei niederen Pflanzen benutzt und zwar kommen auf 100 Vol. Wasser 2 Vol. konz. Schwefels., dann Pikrins. bis zur Sättigung (P. Mayer, Mitt. Neapel, 1881). Diese Lös. wird mit dem 3fachen Vol. Wasser verdünnt (sog. Kleinenbergsches Gemisch); sie läßt sich leichter als die reine Pikrinsäurelösung auswaschen. — Die Pikrinchromschwefelsäure Keisers besteht aus je 1 g Pikrins. und Chroms., 10 g Schwefels. und 1000 g destill. Wasser. — Pikrinessigsäure wurde von Boveri (Zellst., Jenaisch. Ztschr., 1887, XXI, 423) empfohlen.

Zu den Färbungen¹⁾ dienen Anilinfarben, Hämatoxylin, Carmin u. a. Von den zahlreichen Anilinfarben seien ebenfalls nur einige angeführt:

Fuchsin (nach Zimmermann, Mikrot. S. 183), konz. wäss. Lös., 15—20 Minuten Einwirkung, Nachbehandlung mit Pikrins. (konz. Lös. in 70% Alkohol), Auswaschen mit 90% Alkohol, schnelles Abspülen mit abs. Alkohol, dann Xylol, Kanadabalsam. — Karbolfuchsin (Ziehlsche Lös., 1. Fuchsin, 5. Karbolsäure, 10. Alkohol, 100. Wasser) für Bakterien; bei Wurzelpilzen²⁾ nach Fixierung mit Merkel. — Von Fuchsingemischen seien genannt: Fuchsin-Methylblau, die mit Fuchsin gefärbten Schnitte werden mit Pikrins. behandelt, dann Auswaschen in 90% Alkohol und $\frac{1}{4}$ Stunde in wäss. Methylblaulös. — Fuchsin-Methylenblau (Rosen). Nacheinander 0.001% wäss. Fuchsinlös., 0.002% wäss. Methylenblaulös., Alkohol, Xylol-Alkohol. Nach Ehrlich werden von gesättigten wäss. Lös. 5 T. Fuchsin mit 1 T. Methylenblau gemischt, die Mischung + 5 T. Wasser, nach 4 Tagen filtriert. Einwirkung 1—2 Tage, dann Pikrins. in 50% Alkohol. Überfärbung wird durch Alkohol beseitigt.

Fuchsin-Jodgrün (Strasburger [B. Pract. 1897, S. 102 u. a.] 1 T. konz. wäss. Fuchsinlös. und 9 T. 0.1% Jodgrünlös. oder beide Farbstoffe in 50% Alkohol. Die Jodgrünl. wird der Fuchsinl. bis zur Violettffärbung zugesetzt. Guignard [Rev. gén. de Bot. 1889, I, S. 11

¹⁾ Göppert u. Cohn färbten Nitella mit Carmin (Rotation d. Zellinhaltes, Bot. Ztg., 1843, I, Nr. 37), Hartig studierte die Carminspeicherung der Zellkerne und färbte mit Lackmus, Gummigutti u. a. (Funkt. d. Zellk., Bot. Ztg., 1854, XII, Nr. 33 u. a.) Auf botanischem Gebiete ist Th. Hartig, auf tierhistologischem J. Gerlach der Begründer der Färbungen (Mikr. Stud. d. menschl. Morph., Erlangen 1858). Hierzu: H. Gierke, Färberei z. mikr. Zwecken, Ztschr. f. wiss. Mikr., 1884, I, 62, Holzner, Z. Geschichte d. Tinktionen, Ztschr. f. wiss. Mikr., 1884, I, 255, J. Sachs, Gesch. d. Botanik, 1875, 523. Anilinfarben (Rosanilin, Anilinblau, Anilinviolett) gebrauchte zuerst Waldeyer (Ztschr. f. rat. Med., 1863, XX, 200).

²⁾ C. G. Björkenheim, Ztschr. f. Pflanzkr., 1904, XIV u. Fr. Zach, Sitzb. Wien. Ak., 1909, CXVIII, Abt. 1, S. 192.

und flg.] gebraucht wässrige Lösungen). Einwirkung, mikroskopisch zu kontrollieren, eine bis wenige Minuten, Zellkerne blaugrün, Plasma rot. Auswaschen mit Jodalkohol (0,1 g Jod, 1 ccm Essigsäure, 100 ccm Alkohol), Abspülen mit Xylol, Einschließen in Kanadabalsam. Fuchsin-Jodgrün läßt sich mit anderen Farbstoffen kombinieren. Die mit Sublimat, Alkohol oder Pikrins. fixierten Präparate gelangen zunächst auf einige Minuten in wässer. Safranin- oder Vesuvnlös. und darauf für eine Minute in Fuchsin-Jodgrün oder in Methylenblau-Safranin. Die Doppelfärbungen sind in Kanadabalsam haltbar.

Bismarckbraun (konz. wässer. Lös. [erhitzen, filtrieren] oder mit Alkoholzusatz) wird überwiegend allein benutzt, während Eosin zu Doppelfärbungen dient. Bei der Färbung mit Gentianaviolett (Methylviolett 5 B) kommen die mit Chromsäuregemischen fixierten Präparate auf einige Minuten in die Farblös. (1. Gentianaviolett, 3. Anilin, 15. Alkohol, 100. Wasser), dann Abspülen mit Alkohol, Nachbehandlung mit Jod bis zur Dunkelfärbung (1. J, 2. KJ, 300. Wasser), Auswaschen mit Alkohol, Nelkenöl, Kanadabalsam (Gramsches Verfahren, A. Zimmermann, Mikrot. 1892, 181). Wird dem Nelkenöl Eosin zugesetzt, dann erhält man Doppelfärbungen. Gentianaviolett-Eosin gebrauchte Oltmanns (Flora, 1895, LXXX, S. 388) bei mit 1% Chroms. fixierten Vaucherien. — Eosin-Methylenblau (Mann), 5 Minuten in 1% wässer. Eosinlös., dann 25 Minuten in 4% wässer. Methylenblaulös., Abwaschen, abs. Alkohol, Xylol, Kanadabalsam. Plasma rot, Chromatin und Nukleolen dunkelblau. — Eosin-Hämatoxylin (O. Kaiser, Bot. Ztg., 1896, LIV, S. 66) ist nicht für Dauerpräparate.

Safranin-Gentianaviolett-Orange (sog. Dreifachfärbung Flemming¹⁾). Fixiert wird mit Osmiumgemischen. Bei Benutzung von Alkoholmaterial müssen die auf dem Objektträger befestigten Schnitte zunächst mit 1% Chroms. 24 Stunden gebeizt und 2 Stunden in Wasser gelegt werden (Strasburger). Zuerst 1 bis 2 Tage alkoholische Safraninl.²⁾, dann folgt nacheinander Abwaschen mit Alkohol, Säurealkohol (mit nur 0,1% Salzs.), kurzes Abwaschen mit Wasser, Gentianaviolett³⁾ (1/4—1 Stunde, auch länger), rasches Abwaschen mit Wasser, konz. wässer. Lös. von Orange G (Grübler) auf 2—4 Minuten (Abgabe blauer Farbwolken), Auswaschen in absol., ev. einigemal zu erneuerndem Alkohol, schließlich Nelkenöl, Kanadabalsam. Bei guter

¹⁾ W. Flemming, Neue Beiträge zur Kenntnis der Zelle, Arch. f. mikr. Anat., 1891, XXXVII, 249 u. 685 Anm. Vergl. ferner: H. v. Winiwarter u. G. Sainmont, Erfahrungen über die Flemmingsche Dreifärbung, Ztschr. f. wiss. Mikr., 1908, XXV, 157. Dort wird mitgeteilt, daß die Safranine des Handels sehr ungleichwertig sind. Die besten Resultate geben (bei tierischen Geweben) Safranin Grübler 20, de Haën I, Schuchardt 0.

²⁾ Nach P. Claussen (Ber. deutsch. bot. Ges., 1908, XXVI, 144): 0,1 g Safranin, 25 ccm 95% Alkohol, 25 ccm Wasser, 5 ccm Anilinwasser (1:300).

³⁾ 0,45 g Gentianaviolett, 60 ccm Wasser, 5 ccm Anilinwasser (1:300).

Dreifärbung müssen die Chromosomen purpurrot, die Nukleolen heller rot, die Spindelfasern hell violett gefärbt sein; Linin erscheint fast farblos.

Haematoxylinlösungen werden mit Eisenzusatz benutzt und auch mit Anilinfarben zu Doppelfärbungen vereint. — Für das Studium der Kernstruktur leistet nach den langjährigen Erfahrungen Strasburgers¹⁾ gute Dienste Fixierung mit Chromosmiumessigsäure und Färbung mit Eisenhämatoxylin (Grégoire)²⁾. Die aufgeklebten Paraffinschnitte kommen auf $1\frac{1}{2}$ Stunden bei 52° in den Wärmeschrank, gelangen noch warm in Xylol, werden in Alkohol gewaschen und mit Wasser abgespült. Nun folgt einstündige Behandlung mit käuflichem Wasserstoffsuperoxyd bis zum Schwinden der Schwärzung, Auswaschen mit Wasser und einstündige Einwirkung einer 4% Lösung von schwefelsaurem Eisenoxydammon. Alsdann wird mit Wasser abgespült und eine Stunde lang mit Hämatoxylin (Grübler) gefärbt. Schließlich werden die Schnitte nach vorangegangener Abwaschen mit 4% Eisenammonlösung unter mikroskopischer Kontrolle differenziert und kommen in Wasser, Alkohol, Nelkenöl, Kanadabalsam. Bei diesem und ähnlichen Verfahren wird mehrfach ein Nachfärben empfohlen, Tischler³⁾ empfiehlt Säuregrün oder Lichtgrün, Overton⁴⁾ Gentianaviolett.

Carminlösungen werden weniger gebraucht: Alauncarmin (Grenacher, Arch. f. mikr. An., 1879, XVI, 465; 1% wässer. Carminl. mit 1–5% Kalialaun), Carmalaun (P. Mayer, Ztschr. f. wiss. Mikr., 1899, XVI, 196; $\frac{1}{2}$ % wässer. Carminl. mit 5% Alaun, haltbar gemacht durch 0.2% Salizyls., Partsch, Arch. mikr. Anat., 1877, XIV, 180), Alauncochenille (nach Csokor, Arch. mikr. Anat., 1880, XVIII, 413; 7. Alaun, 70. Cochenille, 700. Wasser, durch Erhitzen auf 400° , u. a. von R. Zander bei Milchsafthaaren benutzt, Bibl. bot., 1896), Boraxcarmin, (Grenacher; 2% wässer. Carminl., 4. Borax, 100. Alkohol 70%) u. a.

In Kürze seien einige Färbungsvorschriften für Bakterien, Hefe und Flechten angeführt:

Die Zellkerne der **Bakterien** hat A. Meyer (Zellkern d. Bakt., Flora, 1908 XCVIII, 335) aufgefunden und gefärbt (frühere Untersucher hatten Vakuolen, Volutin u. a. für Zellkerne gedeutet). Das mit Wasser abgekochte Material (Bac. Pasteurianus) kommt in schwefelsaures Eisenoxydammoniak ($\frac{1}{2}$ %, 24 Std.), dann

¹⁾ E. Strasburger, Typische und allotypische Kernteilung, Jahrb. f. wiss. Bot. 1906, XLII, S. 8.

²⁾ V. Grégoire et A. Wygaerts, Reconstr. d. noyau et formation d. chromosomes d. les cinèses somatiques, La Cellule, 1903, XXI, S. 7.

³⁾ G. Tischler, Entwickl. d. Pollens u. d. Tapetenzell. b. Ribes-Hybrid, Jahrb. f. wiss. Bot., 1906, XLI, S. 549.

⁴⁾ J. B. Overton, Reduktionsteilung i. d. Pollenmutterzell. einiger Dikotyl., Jahrb. f. wiss. Bot., 1906, XLI, S. 121.

in Hämatoxylinlös. (1 : 200, 24 Std.) und wird mit verd. Salzs. differenziert (5 Tropfen in 10 ccm Wasser). Man kann mit Flemming fixieren (1+1, 3 Std.), mit 20% Alkohol härten, mit Delafield (1+1 Vol., 24 Std.) färben und mit Salzs.-Alkohol differenzieren oder: mit Flemming fixieren, mit 20% Alkohol härten, mit Eisen-hämatoxylin färben und mit Ferriammoniumsulfat unter Deckglas differenzieren. Die Trennung des Materials von den verschiedenen Flüssigkeiten wird durch Zentrifugieren bewirkt (S. 18).

Hefezellen (in Würze kräftig gezüchtet) werden gewaschen, dann nach H. Zikes (Fix. u. Färb. d. Hefen, Centrbl. Bakt., 1911, 2, XXXI, 507) mit konz. Sublimatlös. oder Chromessigs. fixiert (24 Std.), wiederum gewaschen (24 Std.) und je 4 Stunden lang in 25-, 50-, 75- und 96% Alkohol gehärtet. Dann folgt Eisenalaun (2.5 g : 100 ccm Wasser, 4 Std.), Hämatoxylin (0.5 g : 100 ccm Wasser, 18 bis 24 Std.) und schließlich Differenzierung in 1% Schwefels. Trennung der Hefe von den Flüssigkeiten durch Zentrifugieren.

Flechten fixiert W. Nienburg (Entwickl. einig. Flechtenapothecien, Flora, 1908, XCVIII, 1) mit 1% Chromessigs. (12 Std., dann 24stünd. Auswaschung in fließend. Wasser) und färbt mit Hämatoxylin Heidenhain (mehrere Std.). „Als Gegenfärbung zur Deutlichmachung der Membranen wurde häufig Eosin benutzt“.

Es sei nochmals betont, daß im Vorstehenden nur die Vorschriften einiger Fixier- und Färbungsmittel gegeben und Literaturangaben meist fortgelassen werden mußten. Es muß auf die Spezialliteratur verwiesen werden (Lee, P. Mayer u. a.) und auf die Referate von E. Küster in der Ztschr. f. wiss. Mikr. Die Lösungen (oder die Tabletten hierzu) sind auch von Grübler, Kahlbaum u. a. zu beziehen.

Die Chromatophoren der höheren Pflanzen und ihre Farbstoffe.

Chromatophoren sind Organe des Protoplasten, welche entweder Farbstoffe führen oder Farbstoffe zu bilden befähigt sind. Es sind weiche (feste?) plasmatische Körper, die nur den Pilzen fehlen. Wir unterscheiden Leukoplasten, Chloroplasten und Chromoplasten (Schimper), die im Laufe ihrer Entwicklung ineinander übergehen können.

Leukoplasten (Fig. 104) sind farblose, meist kugelige Gebilde, aus denen die anderen Chromatophoren hervorgehen. In Reservestoffbehältern bleiben sie farblos und bilden aus gelösten Polysacchariden Stärke (Amyloplasten). Es sind zarte Gebilde; in Drogen und Herbarmaterial trifft man sie oft nicht mehr an. Zuweilen läßt sich an den Stärkekörnern die Stelle ihres Sitzes erkennen (flache Mulde, Iriswurzeln, Fig. 104). In Blattepidermen und Trichomen treten oft durch Rückbildung aus Chloroplasten entstandene Leukoplasten auf. Von den Leukoplasten (Orchis, Arum, Tradescantia, Galanthus u. a.) sagt Zacharias: „sie verquellen in verd. Salzsäure, Methylgrünessigsäure; desgleichen bis auf geringe Reste in Magensaft, 10% Kochsalzlösung und

destilliertem Wasser. Sie färben sich in Methylenblau-Fuchsin S rot nach Behandlung mit verd. Salzsäure. Sie quellen nicht und färben sich blau in Glaubersalz-methylgrünessigsäure“ (Lit. S. 418, 2).

Die Chloroplasten (Chlorophyllkörper) führen in einem farblosen Stroma einen grünen Farbstoff (Chlorophyll), der bei Algen oft durch andere Farbstoffe verdeckt ist. Die Chloroplasten der Algen sind Scheiben, Bänder, Sterne und nehmen einen großen Teil des Zelllumens ein. Bei höheren Pflanzen finden wir kleine rundliche oder linsenförmige Körner, Chlorophyllkörner (Fig. 105). — Die Chlorophyllbildung (das Ergrünen) ist von verschiedenen Faktoren abhängig (chemische Stoffe, S. 86 u. 123, günstige Temperatur, Luftsauerstoff, Lichtintensität u. a.). Die Lichtintensität kann sehr niedrig bemessen sein. Im allgemeinen geht die Fähigkeit, Chlorophyll bei Lichtabschluß zu bilden, mit der höheren Organisationsstufe der Pflanzen verloren. In den mit dem lebenden Plasma in Verbindung stehenden Chlorophyllkörnern vollzieht sich die Photosynthese (S. 66,

133 u. 181). Bei den saccharophyllen Pflanzen werden die Hexosen ständig abgeleitet, gewöhnlich erfolgt aber eine Überführung dieser in Stärke; es entstehen in den Chlorophyllkörnern kleine Stärkekörnchen (Stärkeeinschlüsse, s. d.). Dadurch werden Störungen im Assimilationsprozeß vermieden, die Konzentration des Zellsaftes nimmt ab u. a. In der Nacht wird die Assimilationsstärke abgeleitet, am frühen Morgen sind die Blätter stärkefrei.



Fig. 104. Leukoplasten an Stärkekörnern, a) *Iris germanica* (Rhizom, bei α Leukoplast zugrunde gegangen), b) *Ferula spec.* (Wurzel), c) Leukoplasten am Zellkern, *Orchis spec.* (Knospenblatt) (Tunmann).

Chromoplasten führen gelbe bis rotgelbe Farbstoffe (Xanthocarotine) und entstehen entweder aus Leukoplasten (in unterirdischen Organen, *Daucus*) oder, wie bei der Reife der Früchte, in und an sich zersetzenden Chlorophyllkörnern.

In Pflanzen wärmerer Länder treten Chromoplasten auch in vegetativen Organen auf (W. Rothert, Bull. Ac. Cracovie, 1912, 189). Bei der Ernährung spielen sie keine Rolle. Die Carotinbildung in Früchten ist ein Prozeß, der normalerweise bedingt wird durch abgeschlossenes Wachstum, Aufhören der Ernährung und Zersetzung des Chlorophylls. In *Daucus* wächst der Gehalt an Carotin umgekehrt proportional dem an Chlorophyll, proportional dem an Stärke und Zucker (F. u. G. Tobler). Bei der enzymreichen *Monilia sitophila* betrachtet Went reichliche Carotinbildung als Schutz für die Enzyme (Rec. trav. bot. Néerl., 1904, I, S. 106). Die Bildung des Carotins (Hämatochrom) bei *Trentepohlia* hängt von der Feuchtigkeit ab. Bei Trockenheit vermehrt sich der Farbstoff, füllt den ganzen Zellinhalt aus und verdeckt die Chromoplasten (K. Meyer, Lebensgesch. d. T. umbrina Mart., Bot. Ztg., 1909, LXVII, S. 25). Die Chromoplasten bedingen die grellen Lockfarben der Blüten und Früchte. Orange- bis carminrote Chromoplasten finden sich in *Caps. ann.*, *Convall. majal.*, *Lycopers. escul.*, *Asparag. off.*, *Crataeg.*, *Rosa* (*Hypanthien*), *Evonymus*, *Myristica*, *Taxus* (*Arillus*). Gelbe Chromoplasten kommen vor in vielen Blüten (*Verbascum*, *Calendula*, *Matricaria*, *Gentiana*, *Cheiranthus*, in den Blütenhaaren der Cucurbitaceen) und in Früchten (*Aurantiaecen*).

Rote und rotbraune „unregelmäßig klumpige oder lappige Gebilde“, die den Chromatophoren nahestehen sollen, hat A. Schlockow (Anat. d. braun. Blüt., Diss. Heidelberg, 1903, S. 22) in den braunen Blüten von *Oncidium sphacelatum* aufgefunden und sagt, daß sie „weder in kaltem noch in heißem Wasser löslich sind, daß sie weder von kaltem noch von heißem Alkohol, noch von kalter oder heißer Salzsäure angegriffen werden, daß sie dagegen von Natronlauge und von Ammoniak schon in der Kälte leicht gelöst werden. Hierbei verschwindet aus ihnen zuerst der rote Farbstoff und es hinterbleibt ein farbloses Bläschen.“

Anfangs nahm man an, daß die Chromatophoren durch Neubildung aus dem Zellplasma entstünden (Mikosch) und sich dann durch Teilung vermehren. Da sich aber sehr kleine Leukoplasten schon in der Eizelle und in den Vegetationspunkten vorfinden, so vertrat man (Schmitz, Schimper, A. Meyer) bis vor kurzem allgemein die Ansicht, daß sich sämtliche Chromatophoren einer Pflanze nur von den Leukoplasten der Eizelle ableiten und diese wiederum von der Mutterpflanze. Von verschiedener Seite wurde hiergegen Einspruch erhoben, Eberdt (Jahrb. wiss. Bot., 1891, XXII, 293) kam zu dem Ergebnis, „daß die Schimper'schen Stärkebildner nicht schon in den Zellen des Vegetationspunktes vorhanden sind“, und in neuester Zeit ist man der alten Auffassung wieder näher getreten.

Die Chromatophoren sollen aus den festeren Teilen des Cytoplasmas hervorgehen, aus Chondriosomen, die das Cytoplasmagerüst bilden (die Chondriosomen sollen den Mitochondrien der Tierzelle homolog sein). Diese Jugendstadien wurden schon von K. Mikosch (Sitzb. Wien. Ak., 1878) bei *Allium*, *Galanthus* u. a. beschrieben, sind identisch mit den Granulis von Zimmermann, und in neuerer Zeit eingehend studiert von Pensa, Guilliermond, Forenbacher (*Tradesc. virg.*), H. Lundegård (Wurzelspitzen, *Vicia*), Lewitsky¹⁾ (*Helodea*) u. a. Zum Fixieren wird Bendasche Flüssigkeit (15 ccm $\frac{1}{2}\%$ Chromsäure, 3–4 ccm 2% Osmiumsäure, ohne Eisessig!), zum Färben Safranin-Gentianaviolett-Orange oder Eisenhämatoxylin (Heidenhain-Mewes) benutzt. Lewitsky teilt die Fixierungsmittel in „chondriosomenerhaltende“ und „chondriosomenzerstörende“ ein. Zu ersteren zählen außer der Bendaschen Mischung noch 10% Formalin, $\frac{1}{2}\%$ Osmiumsäure, schwaches Flemmingsches Gemisch, Altmannsches Gemisch (gleiche Teile 5% Kaliumdichromat und 2% Osmiumsäure).

Es ist aber noch fraglich, ob die Chondriosomen die verschiedenen Entwicklungsstadien der Chromatophoren darstellen, wie Schmidt²⁾ meint, ja ob sie überhaupt sämtlich mit den Chromatophoren in Zusammenhang stehen. Selbst in ausgewachsenen Zellen finden wir neben

¹⁾ A. Forenbacher, D. Chondriosomen als Chromatophorenbildner, Ber. d. bot. Ges., 1911, XXIX, 648; G. Lewitsky, Vergl. Unters. üb. d. Chondriosomen in leb. u. fix. Pflanzenzell., Ber. d. bot. Ges., 1911, XXIX, 685.

²⁾ E. W. Schmidt, Pflanzliche Mitochondrien, Progress. rei bot., 1912, IV, S. 163 u.: Neuere Arb. über pfl. Mitochond., Ztschr. f. Bot., 1912, IV, S. 707.

voll entwickelten Chlorophyllkörnern auch Chondriosomen, sowohl in Körnern (Mitochondrien) als auch in Fäden (Chondriomiten) und in Stäbchen (Chondriokonten). Sie lassen sich an geeigneten Präparaten (Aristolochien, Strychnos) durch Jodjodkalium kenntlich machen, scheinen aber doch nicht im Chemismus übereinzustimmen. Bei Strychnos lösen sie sich in verd. Mineralsäuren (1—3%), aber nicht bei Asparagus und Vicia faba. Sicher ist nur die plasmatische Natur dieser Bildungen, zu denen vielleicht die Nematoplasten Zimmermanns (Bot. Centrbl., 1893, Beih.), die Karyoide Pallas (Ber. d. bot. Ges., 1894, XII, S. 153) und die Vibrioiden von Swingle und Lagerheim (Svensk. Vet.-Ak., 1896, Nr. 6) ebenfalls gehören.

Zum Studium der feineren Struktur der Chromatophoren ist die Beobachtung lebenden Materials erforderlich. Dabei müssen alle Faktoren ausgeschaltet werden, die das Leben der Protoplasten und der Chromatophoren schädigen. Man wählt zur Beobachtung stärkere Präparate (wenn geeignet Trichome oder dünne Blätter) und beobachtet sofort in Rohrzuckerlösung (2—5%). Zimmermann injiziert Pflanzenteile unter der Luftpumpe mit Zuckerlösung, um gleichzeitig die Luft aus den Interzellularen zu entfernen. Meist genügt direktes Eintragen in die auf dem Objektträger befindliche Lösung. Ein Eintragen in Wasser ist im allgemeinen zu vermeiden. Die Chlorophyllkörner sind sehr empfindliche Gebilde, die meist schon in Wasser quellen und sich mehr oder weniger vollständig zersetzen. Die Körner von *Hedera helix*, *Malpighia coccigera*, *Taxus bacc.* u. a. sind gegen Wasser widerstandsfähig. Die Widerstandsfähigkeit hängt nicht mit den Altersstadien der Körner zusammen, teils sind die Körner jüngerer Blätter resistenter (*Dammara robusta*, *Hedera helix*), teils die älterer Blätter (*Araucaria*, *Taxus bacc.*, *Abies pect.*)¹⁾.

Die Chloroplasten der allermeisten Pflanzen werden selbst bei Beachtung aller erforderlichen Vorsichtsmaßregeln nur als homogen gefärbte Gebilde erscheinen, in denen Einschlüsse (meist Stärke, dann Öltropfen, Proteinkristalloide u. a.) zugegen sind. Wir nehmen aber gegenwärtig einen schwammartigen Aufbau an. In den Maschenräumen des farblosen Stromas sind kleine grüne Körnchen „Grana“ eingelagert. Dieser Aufbau läßt sich nur an geeigneten Objekten mit einiger Sicherheit feststellen, so an den Chloroplasten der grünen Knollen von *Acanthephippium sitchense*, *Pellionia*, *Phajus*, des Stengelparenchyms von *Goodyera discolor*, der Blätter von *Mnium cuspidatum* u. a. Ob die

¹⁾ H. Bredow, Beitr. z. Kenntn. d. Chromatoph., Jahrb. f. wiss. Bot., 1891, XXII, S. 347. — V. Vouk, Laubfarbe u. Chromoplastenbild. b. immergr. Holzgew., Sitzb. Wien. Ak., 1908, CXVII, 1, S. 1337.

einzelnen Körner mit einer (farblosen) Membran umgeben sind, ist strittig. A. Meyer, Schmitz u. a. verneinen das Vorhandensein einer Membran; Fr. Schwarz, Bredow, Tschirch, Kny treten für eine Membran ein, ebenso Czapek (aus theoretischen Gründen). Küster¹⁾ hält sie für ein Kunstprodukt (Fig. 105). Für eine Membran spricht der Befund, daß die einzelnen Körner in der lebenden Zelle selbst bei dichter Lagerung nicht miteinander verschmelzen²⁾. Senn³⁾ tritt für eine Hülle (Peristromium) ein. Fortsätze des Peristromiums, „Pseudopodien“, befähigen die Chloroplasten zu aktiven Bewegungen. Ohne Reagentien sind diese Verhältnisse an *Funaria hygrometrica* sichtbar. Die Pseudopodien der einzelnen Körner stehen untereinander in Verbindung und bilden eine Netzstruktur (Fig. 105 b u. c), die freilich von anderer Seite als zum Grundplasma gehörig betrachtet wird. An Leukoplasten wurden Pseudopodien bei verschiedenen Orchideen (*Listera ovata*, Blattunterseite, *Orchis latif.*, Epidermiszellen, *O. incar.*) studiert. Sie gehören der Chromatophorenmasse selbst an, veranlassen amöboide Formveränderungen, tragen aber zur Ortsveränderung wenig bei. Die Formveränderung wird besonders bei Zusatz wasserentziehender Lösungen deutlich. Epidermispräparate werden in n-Rohrzucker, n-Kalium- oder Kalziumnitrat gelegt, die Lösungen bei Eintritt der Wirkung mit Wasser wieder ausgewaschen (Küster).

Wie zuerst Rosanoff bei *Bryopsis* fand, und Schimper bei *Anthoceros* sowie Haberlandt⁴⁾ bei *Selaginella* beobachteten, zeigen

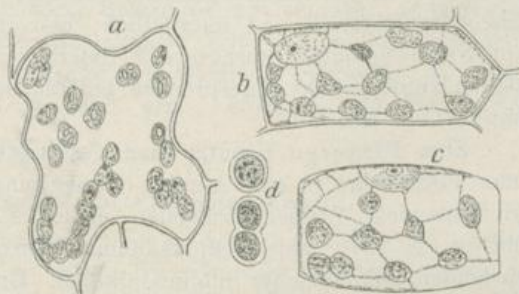


Fig. 105. Chlorophyllkörner jugendlicher Organe, a) *Adiantum capillus veneris* (Zuckerlös.), b) *Strychnos nux vom.* (Osmiumdampf, verd. Alkohol), c) *Strychnos* (Jodjodkalium, verd. Alkohol) (Tunmann); d) *Podocarpus laeta* (mit Randzone, Degenerationserscheinung, nach Vouk).

¹⁾ E. Küster, Über amöboide Formveränderungen der Chromatophoren höherer Pflanzen, Ber. deutsch. bot. Ges., 1911, XXIX, S. 362.

²⁾ Bei niedriger Temperatur beobachtete G. Haberlandt eine Fusion der Chlorophyllkörner (Über den Einfluß des Frostes auf die Chlorophyllkörner, Öst. bot. Ztschr., 1876, XXVI, S. 249).

³⁾ G. Senn, Die Gestalts- u. Lageveränderung d. Pflanzenchromatophoren, Leipzig 1908.

⁴⁾ G. Haberlandt, Flora 1888, u. Phys. Pflanzenanat., 1904, III. Aufl., S. 238.

die Chloroplasten dieser Pflanzen bei Wasserzutritt eine krummradiale Streifung; doch ist diese Erscheinung noch nicht näher aufgeklärt.

Von den Chloroplasten sagt Zacharias (Lit. S. 418, 2), sie „werden bis auf beträchtlichere Reste vom Magensaft gelöst. Die Verdauungsreste quellen nicht in 10% Kochsalzlösung“.

Beim Studium erwachsener Chromatophoren stehen Fixierung und Färbung an zweiter Stelle und werden weniger zu Strukturstudien als zur Sichtbarmachung äußerst kleiner Leukoplasten und zum Auffinden von Chloroplasten in panachierten Blättern benutzt. Derartige Fälle sind relativ selten, denn überwiegend sind sie ohne weiteres als scharf abgegrenzte Gebilde selbst in chlorotischen Geweben bei scharfer Beobachtung gut zu erkennen. Bei dem überaus weichen Stroma muß auch hier ganz besonders auf die Fixierungsmittel geachtet werden und Vergleiche mit lebendem Material sind unerlässlich; erst in jüngster Zeit wurde die von Senn betonte „Sterngestalt“ fixierter Chloroplasten von Knoll¹⁾ als ein Kunstprodukt angesprochen, entstanden durch schlechte Fixierung mit heißem Alkohol.

Zum Fixieren benutzt man gesättigte Lösungen von Sublimat oder Pikrinsäure in abs. Alkohol (Einwirkung 24 Stunden, Auswaschen in fließendem Wasser), zuweilen siedendes Wasser (Zimmermann, Mikrot., S. 197), auch Jodjodkalium. Senn fixiert Blattstücke mit siedendem Alkohol oder Sublimatalkohol. Gute Erfolge liefert Osmiumsäure mit Alkoholbehandlung nach Lidforss²⁾. Feine Freihandschnitte (*Haemanthus cocc.*, Epidermis) werden mit der Pinzette 5–15 Sekunden dicht über 2% Osmiumsäure gehalten und sofort in 10% Alkohol, dann nacheinander in Alkohol übertragen, der um 5% stärker ist, bis sie in absoluten Alkohol gelangen. In jeder Flüssigkeit bleiben sie 2–5 Minuten. Nach 12 Stunden erfolgt die Übertragung der Schnitte in immer schwächeren Alkohol, schließlich in Wasser, dann folgt Färbung nach Zimmermann, Einschließen in Glyzeringelatine oder Kanadabalsam. Die kinoplasmatischen Verbindungsfäden zwischen Kern und Chromatophoren sind nun deutlich gefärbt. Kontraktionen des Stromas sind bei keinem Verfahren völlig ausgeschlossen.

Zur Färbung benutzt man eine 0.2% wässer. Lösung von Säurefuchsin (5–20 Min., dann sofort mit fließendem Wasser abwaschen) oder eine konz. wässer. Lösung von Jodgrün (1–2 Min. Abspülen mit Wasser, Glyzerin). Bei Dauerpräparaten erfolgt nach der Färbung

¹⁾ Fr. Knoll, Netzartige Protoplasma diff. u. Chloroplastenbew., Sitzber. Wien. Ak., 1908, CXVII, 1227.

²⁾ B. Lidforss, Über kinoplasmatische Verbindungsfäden zwischen Kern und Chromatophoren, Lunds Univ. Arsskrift, 1908, N. F. Afd. 2, IV.

und dem Abwaschen erst Austrocknen, dann Xylol, Kanadabalsam (Zimmermann, Ztschr. wiss. Mikr., 1890, VII, 6). Senn setzt dem Säurefuchsin etwas Jodalkohol zu, überfärbt stark und differenziert mit einer gesättigten Lösung von Jod in Alkohol (30%), so daß nur Chromatophor und Zellkern gefärbt bleiben.

H. Fischer (Lit. S. 197_a) benutzt Farben, welche die Stärkesubstanz farblos lassen (Anilinblau, Kongorot, Cyanin, Nigrosin a. a.), Schimper Gentianaviolett und Haematoxylin, J. H. Salter (Jahrb. f. wiss. Bot., 1898, XXXII, 116) Methylviolett, S. Prowazek 2% Gentianaviolett (Fixierung 1% Chromessigsäure, Öst. bot. Ztg., 1900, L, 69), E. Pantanelli (Malpighia 1902, XV, 363) wäscht mit Salzsäure-Wasser aus. E. Heinricher (Cohns Beitr., 1895, VII) fixiert die sich leicht zersetzenden Leukoplasten der Schuppenwurz mit siedendem Wasser und färbt mit Methylenblau.

Werden die Plastiden durch Stärke zu sehr verdeckt, so muß man (nach Fixierung) die Stärke zum Quellen bringen; bei Euglenen wird Paramylon durch 10% Kalilauge zur Quellung gebracht. H. Zumbstein (Morph. und Phys. d. Eugl. grac., Jahrb. f. wiss. Bot., 1909, XXXIV, 149).

Die Farbstoffe der Chromatophoren.

Der Chlorophyllfarbstoff ist meist nur in den Chlorophyllkörnern lebender Zellen in rein grüner Farbe zu sehen. Bei getrocknetem Material werden die Chlorophyllkörner, die dann zuweilen zu formlosen Klumpen zusammengeballt sind, eine mehr bräunliche Färbung besitzen, da, vorzüglich bei langsamem Trocknen, die Pflanzensäuren aus dem Chlorophyllgrün Hypochlorin (s. unten) bilden. Wenn wir einen Blattquerschnitt (frisches Material) mit Alkohol (Äther, Petroläther, Schwefelkohlenstoff, fetten und ätherischen Ölen) auswaschen, dann entfärben sich die Chlorophyllkörner und grüne Streifen fließen ab. In dem abfließenden Alkoholauszug ist der Chlorophyllfarbstoff enthalten, der vereinzelt auch im Tierreich (Locustiden, Rana) vorkommt. In den Blättern kommt im allgemeinen 0,5—1,0 % der Trockensubstanz auf das Chlorophyll. Im Ultramikroskop erscheint Chlorophyll rot und grün. Die grüne Färbung ist eine Folge der Beugungserscheinung. Der Farbstoff ist eine Mischfarbe. Beim Schütteln des alkoholischen Auszuges mit Benzol u. a. findet eine Trennung in einen grünen Anteil (Chlorophyllgrün) und in einen gelben (Xanthophyll und Carotin) statt.

Chlorophyllgrün.

Die Konstitution des Chlorophyllgrüns ist noch unbekannt. Eisen fehlt, die Gegenwart von Phosphor ist strittig (S. 86), hingegen ist Magnesium, gebunden an die stickstoffhaltigen Gruppen, zugegen. Dem Magnesium werden ähnliche katalytische Wirkungen zugeschrieben wie dem Eisen im Blute, jedoch mit dem fundamentalen Unterschiede, daß die komplexen organischen Magnesiumverbindungen des Chlorophylls Substanzen aufbauen, während die Eisenverbindungen

des Blutes die Körper zerlegen. Die Chemie ist in der chemischen Literatur zu ersehen, die neueren Arbeiten Willstätters erscheinen in Liebigs Annalen, die neue Lit. s. bei Czapek, Ztschr. f. Bot., 1911, III, S. 43.

Zum mikrochemischen Nachweis des Chlorophyllgrüns dienen nachstehende Methoden: Die Hypochlorin- oder Chlorophyllan-



Fig. 106. Hypochlorinkristalle (*Adiantum capillus veneris*, Epidermis), mit Eisessig erhalten (Tunmann).

reaktion¹⁾ kann man mit Salzsäure (1 + 4 Wasser) oder mit Eisessig ausführen. Zu Präparaten lebenden Materials wird unter Deckglas Eisessig gebracht. Innerhalb weniger Minuten treten aus den Chlorophyllkörnern große Tropfen aus, die eine gelbgrüne Flüssigkeit bilden, aus welcher größere und kleinere braune Hypochlorinkristalle anschießen (Fig. 106). Gleichzeitig entfärbt sich die Flüssigkeit. Die Reagentien dürfen nicht im Überschuß zugesetzt werden. Durch Erhitzen bis nahe zum Sieden lassen sich die aus Eisessig erhaltenen Kristalle umkristallisieren und es entstehen dann meist Drusen gerader Nadeln (Fig. 107). Die Kristalle lösen sich in Rizinusöl (beim Erhitzen), Chloroform, Äther, Petroläther (langsam), wässrigem Chloralhydrat (bis auf ein in Alkohol lösliches Tröpfchen), Alkohol (langsam), Eisessig (in der Kälte kaum, heiß leicht). Osmiumsäure härtet sie innerhalb 24 Stunden derart, daß sie in Chloral, Äther, Alkohol unlöslich werden. Kalilauge löst sie nicht (A. Meyer, Lit. S. 33, 1). Schöne Hypochlorinkristalle erhält man, wenn man die mit Petroläther befeuchteten Präparate unter Deckglas einige Tage in einem mit Petrolätherdämpfen gesättigten Raume liegen läßt.



Fig. 107. Hypochlorinkristalle mit heißer Essigsäure in *Mentha piperita*, Blattquerschnitt (Tunmann).

Die Reaktion läßt sich auch mit Wasserstoff-superoxyd, Ferrocyankalium (M. Tswett, Arch. sc. phys. nat., 1896, CI, 336) und mit einer gesättigten Kalilauge ausführen (Lit. S. 173, 4). Die Kalilauge führt die grüne Farbe des Chlorophylls sofort in Braun über. Nach 2–30 Min. (beim Erhitzen sofort) geht die braune Färbung in Grün zurück. Das gleiche Resultat bewirkt Zusatz von Wasser, weniger schnell wirkt Äther, Alkohol, Glycerin. Die Präparate dürfen zuvor nicht mit Wasser benetzt werden. Bei Cyano-phyceen und Florideen erfolgt diese Hypochlorinreaktion nur undeut-

¹⁾ N. Pringsheim, Lichtwirk. u. Chlorophyllfunkt., Jahrb. f. wiss. Bot., 1879, XII, 288.

lich, bei Diatomeen und Phaeophyceen erst nach Vorbehandlung mit siedendem Wasser.

Bei der Chloroglobulin-Reaktion¹⁾ dient eine konz. Lösung von Resorcin (10 + 10); diese löst das Cytoplasma, während die Chloroplasten unter Abscheidung grüner Tröpfchen zu halbflüssigen Massen zusammenfließen. Benutzt man eine durch Ammoniak alkalisch gemachte Resorcinlösung, dann werden auch die Chloroplasten gelöst und der Farbstoff aller Chloroplasten einer Zelle fließt in großen Tropfen zusammen (Chloroglobin). Wird Chloroglobin mit Wasser oder Glycerin ausgewaschen, so ballt es sich zu Klumpen zusammen, die durch Eau de Javelle entfärbt werden und dann Methylenblau, Cyanin, Jodgrün, Fuchsin und Chrysoidin speichern, aber keine Eiweißreaktionen geben.

Xanthocarotine.

Unter Xanthocarotine (Tschirch) fassen wir die gelben (Xanthophylle) und roten (Carotine) Farbstoffe zusammen (die Beziehungen zu den Plastiden haben), zumal auf mikrochemischem Wege eine Trennung der Carotine von den Xanthophyllen nicht mit Sicherheit gelingt. Die Xanthocarotine bilden mit den Lipochromen (S. 407) die biologische Gruppe der Carotinoide von Tswett. Wheldale (R. Soc. Proc., 1909, LXXXI, S. 44) unterscheidet zwischen Carotin und Xanthin (nur an Chromatophoren gebunden) und Xanthein (im Zellsaft gelöst).

Die Carotine²⁾ sind Kohlenwasserstoffe ($C_{40}H_{56}$). Das Carotin von *Daucus* ist dem Lycopin von *Lycopersicum* isomer. Die Xanthophylle sind wahrscheinlich Oxydationsprodukte der Carotine ($C_{40}H_{56}O$). Mikroskopische Angaben über reine Präparate dieser Körper liegen von R. Willstätter und H. Escher vor (Farbst. d. Tomate, Ztschr. phys. Chem., 1910, LXIV, 47). Carotin und Xanthophyll bilden metallisch glitzernde Kristalle mit großer Fläche, Lycopin bildet braunrote Flocken dünner Kristalle (Prismen und haarfeine Nadeln). Carotin ist orangerot bis rot, Xanthophyll gelb, nur wenn sich mehrere Kristalle überdecken, rot. Lycopinkristalle sind bräunlich-rosa bis karminrot, an den Überdeckungsstellen bläulich rot. Mit Schwefelsäure geben Carotin und Lycopin tief indigoblaue Lösungen, in Schwefelkohlenstoff löst sich Carotin gelbstichig rot, Lycopin bläustichig rot. Letzteres ist in Alkohol und Äther weit schwerer löslich als Carotin und Xanthophyll.

Die Xanthocarotine treten in den Chromoplasten teils amorph, teils in kristallinischer Form auf. Überwiegend sind sie entweder nur amorph oder nur kristallinisch. Selten kommen Grana (amorph) neben

¹⁾ M. Tswett, Das Chloroglobin, Bot. Centralbl., 1900, LXXXI, S. 81.

²⁾ Im Perikarp von *Momordica balsamina* sind drei verschiedene Carotine zugegen; vergl. die Arbeiten von F. und G. Tobler in den Ber. d. bot. Ges., 1910, XXVIII — 1912, XXX, sowie C. van Wisselingh, Over het aantoonen van carotinoiden in de plant, Ak. Wet. Amsterd., 1912, S. 370.

Kristallen in den gleichen Chromoplasten vor (*Lycopersicum*, *Sol. dulcamara*). Die Farbstoffkristalle zeichnen sich durch starken Pleochroismus aus, sind tafel-, stäbchen-, spindel-, sichel-, nadelförmig und beeinflussen mehr oder weniger die Gestalt der Chromoplasten. Sie sind teils zu mehreren, teils einzeln dem Stroma eingelagert. Letztere können so stark heranwachsen, daß sie das Stroma bis auf geringe Reste verdrängen. Doch führen sie immer eine protoplasmatische Grundlage und sind von einem plasmatischen Häutchen umschlossen (Fig. 108). Bei der Auswanderung der nutzbaren Stoffe aus den Blättern im Herbst, beim Vergilben des Laubes, zersetzen sich die Chlorophyllkörner. Das Chlorophyllgrün wandert in den Stamm zurück (S. 121). Die Xanthocarotine verbleiben im Blatte,



Fig. 108. Chromatophoren aus: a) *Daucus carota*, b) *Sorbus aucuparia*, c) *Crataegus coccinea*, d) *Capsicum annum*, e) *Citrus vulgaris*; f) Xanthocarotinkristalle, aus Chloroplasten vergilbender Herbstblätter von *Conium maculatum* entstehend (Tunmann).

überwiegend in Gestalt kleiner Tröpfchen; zuweilen kommt es aber zur Kristallbildung (Fig. 108f), sehr oft in *Conium* (O. Tunmann, Pharm. Ztg., 1905, L, S. 1055). Die in der Zelle auftretenden Kristalle sind direkt mit Reagentien nachweisbar.

In den Chloroplasten sind die Xanthocarotine im Chlorophyllfarbstoff durch das Chlorophyllgrün verdeckt und müssen zunächst durch eine der nachstehenden Methoden zur Abscheidung gebracht werden.

1. Die Kalimethode (Lit. S. 173, 4): Man legt frische grüne Blätter (besser Blattstücke) in alkoholische Kalilauge (20.0 Kaliumhydroxyd, 80.0 Alkohol, 40%) und beläßt sie in vor Licht geschützten und gut verschlossenen Gefäßen (um die Kohlensäure der Luft auszuschalten) mehrere Tage bis alles Chlorophyll ausgezogen ist. Xanthocarotin ist im Gewebe verblieben. Die Pflanzenstücke werden nun mit destill. Wasser gut ausgewaschen (etwa 12 Std.) und gelangen auf 1–2 Tage in Glycerin. Die Präparate zeigen in den ursprünglich chlorophyllhaltigen Zellen das Carotin in Kristallform. Es sind orangegelbe bis braunrote, perlmutterglänzende Kristalle (einzelne Nadeln, stern- und büschelförmige Gruppen, Tafeln, Schuppen, (Fig. 109), die dem rhombischen und monoklinen, vielleicht auch dem triklinen System angehören (Becke). Die verschiedenen Kristallformen weisen bereits darauf hin, daß neben Carotin auch Xanthophylle zur Kristallisation gelangt sind. In einzelnen Fällen hat Molisch nur gelbe Tröpfchen

erhalten. Diese Ausnahmen erklärt Rywosch (Lit. S. 170, ¹) mit der größeren und kleineren Menge des im Blatte vorhandenen Öles. Ist wenig Öl vorhanden, dann kristallisieren die Farbstoffe aus. Bei Gegenwart größerer Mengen Öles werden die Farbstoffe vom Öle aufgenommen. Nach Rywosch steigt der Gehalt des „Öles“ mit dem Alter des Blattes und so erhielt er bei jungen Blättern Kristalle, bei alten Blättern der gleichen Pflanze meist Tröpfchen, erstere orange-farben, letztere immer gelb. Sollte das „Öl“ von der Kalilauge nicht angegriffen werden?

Die Kalimethode kann auch bei Algen zur Anwendung kommen, doch scheiden sich die Xanthocarotine auf der Oberfläche der Zellen ab (F. G. Kohl, Lit. S. 173, ²). Bei Florideen wurde die Methode von H. Kylin erprobt (Ztschr. phys. Chem., 1911, LXXIV, 105), der Carotin auch makrochemisch aus Ceramium rubr. darstellte.

2. Die Säuremethode von Frank-Tschirch. Grüne Blattstücke zeigen nach längerem Verweilen in verd. wässer. Säurelösungen und nachfolgendem Auswaschen mit Wasser rotviolette oder rötliche Kristalle (Carotin) und gelbrote öltartige



Fig. 109. Xanthocarotinkristalle, mit alkohol. Kalilauge aus Blättern erhalten (Tunmann).

Massen (Xanthophylle?). Mit diesem Verfahren hat Tammes¹) die Verbreitung des Carotins im Pflanzenreiche verfolgt und 1–10% wässer. Lösungen von Weinsäure, Oxalsäure, Salzsäure, ferner 1% Chromsäure, 1–2% Fluorwasserstoffsäure u. a. benutzt. Oft genügt bereits eine mehrstündige Einwirkung der Säuren, stets sind die Kristalle nach 2tägiger Säurebehandlung der Blätter gebildet. Nach Tswett²) ist Aufhellen der Blattstücke mit konz. wässer. Resorcinlösung zu empfehlen. Neben den Kristallen treten noch dunkelbraune Massen hervor. Folgt auf die Säurebehandlung eine mehrtägige Kalibehandlung, so werden die braunen Massen gelöst und es verbleiben in den Zellen nur rote Kristalle und gelbe Tröpfchen.

3. Bei der Resorcin-Methode von Tswett (Lit. S. 469, ¹) gelangen die Stücke in eine konz. wässer. Resorcinlösung (10 + 10), wodurch

¹) A. Tschirch, Unters. üb. d. Chlorophyll, 1884, S. 92 u.: Tine Tammes, Vorkommen d. Carotins i. Pflanzenr., Flora, 1900, LXXXVII, S. 205.

²) M. Tswett, Üb. d. makro- und mikrochemischen Nachweis des Carotins, Ber. deutsch. bot. Ges., 1911, XXIX, S. 630.

Lipoide und plasmatische Proteinsubstanzen gelöst werden. Bei Zusatz von 1% zweibaschem Kaliumphosphat entstehen Chloroglobinkugeln, in neutraler Lösung bilden sich nach wenigen Minuten, in alkalischer Lösung nach längerer Zeit, gelbe Kristallbüschel und rote Kristalle.

Bei am gleichen Material (*Adiantum*, *Strychnos*, *Hedera* u. a.) ausgeführten Vergleichsversuchen erwies sich die Kalimethode am sichersten (Fig. 109). Die kristallinische Natur der Ausscheidungen tritt zuweilen erst nach gründlichem Auswaschen mit Wasser klar hervor (polarisiertes Licht, in dem die Kristalle gelb bis braunrötlich aufleuchten, ist zu empfehlen).

Bei den nativ auftretenden und bei den nach den genannten Methoden abgeschiedenen Xanthocarotinkristallen dienen zur Charakteristik folgende Reaktionen: Zur Erzielung scharfer Reaktionen müssen die Präparate zuvor mit Fließpapier gut abgetrocknet oder völlig ausgetrocknet (Exsikkator) werden. Konz. (nicht wasserhaltige!) Schwefelsäure¹⁾ färbt violett, dann indigoblau; aus der Lösung fallen bei Wasserzusatz grünliche Flocken. In Jodehloral (5 + 2 Wasser, Jod im Überschuß) werden die Kristalle schmutzig-grün. Phenol- und Thymolsalzsäure (konz. Säure mit etwas Phenol) färben tiefblau. Brom- oder Chlorwasser (Bromdämpfe), konz. Salpetersäure färben vorübergehend blau. Die Kristalle sind leicht löslich in Benzol, Äther, Chloroform, Schwefelkohlenstoff, fetten und ätherischen Ölen, unlöslich in Wasser, verd. Säuren, Alkalien und Glyzerin, fast unlöslich in Alkohol, sowie unlöslich in Eisessig und Chloralhydrat. Sie lösen sich aber in den drei letztgenannten Reagentien beim Erwärmen. Die Schwefelkohlenstofflösung ist blutrot, die übrigen Lösungen erscheinen gelb bis orange. Verwechslungen mit Phytosterinkristallen sind leicht zu erkennen. Phytosterin wird mit Schwefelsäure blutrot. „Entfärbt man die Kristalle, indem man kleine kristallführende Gewebestücke für 1—3 Minuten in Bromwasser einlegt, wäscht man dann aus und behandelt die nunmehr farblosen Kristalle mit konz. Schwefelsäure, so tritt keine Färbung ein“ (Molisch; bei Carotinen), während Phytosterinkristalle selbst nach mehrtägigem Liegen in Bromwasser bei Zusatz von Schwefelsäure blutrot werden. So sollen die im Innern des Pollens von *Verbascum thapsiforme* sich nach mehrtägiger Glyzerinbehandlung ausscheidenden orangefarbenen Kristalle Phytosterin oder Fett sein²⁾.

¹⁾ Das Verhalten der Kristalle in Schwefelsäure verschiedener Konzentration wurde von Borodin studiert (*Mélang. biol.*, Bull. Ac. St. Pétersb., 1883, XI, 485), die allgemeinen Reaktionen besonders von A. Arnaud (*Compt. rend.*, 1886, CII, 1119 u. 1889, CIX, 911), A. Meyer, Kohl u. a.

²⁾ G. Poirault et G. Bertrand, *Mat. col. d. poll.*, *Compt. r.*, 1892, CXV, 828.

Zuweilen findet man in Chlorophyllkörnern neben Chlorophyll rötliche Carotintröpfchen (fertile Sprosse von *Equisetum arvens.* u. *limos.*, Selaginellen und in Tropenpflanzen, W. Rothert, Lit. S. 462). Durch starke Belichtung kann bei Aloe Carotinbildung erzeugt werden. Bei Verdunkelung der rotbraunen Blätter erfolgt Rückbildung in Chlorophyll. Die Rotfärbung der Aloeblüten führt Schimper¹⁾ auf Carotine, Crouchet auf noch unbekannte Farbstoffe zurück. Ob in den Wurzeln von *Dracaena*, *Sansevieria* und anderen Liliaceen Carotin auftritt, wie Schmied²⁾ aus dem Vorkommen rubinroter Tröpfchen folgert, muß noch ermittelt werden. Bei der Kalimethode entstehen körnige Ausscheidungen, mit Salzsäure-Phenol tritt keine Blaufärbung ein.

Die Sekretzellen von *Rehmannia*, die den Blättern mattrote Punkte verleihen und die Sekretzellhaare des Kelches sind dicht mit roten Kugeln erfüllt, welche bei Wasserzutritt zu einer rotbraunen Masse zusammenfließen. Diese wird mit Jodjodkalium schwarzbraun, bei nachfolgendem Kalizusatz aber wieder rot. In Alkohol wird ein Teil des Farbstoffes zu einer gelben Flüssigkeit gelöst. Schwefelsäure färbt violett, wahrscheinlich liegt ein Xanthocarotin vor (H. Solereder, Gatt. *Rehmannia*, Ber. bot. Ges., 1909, XXVII, S. 390).

Viele der in Algen und Pilzen auftretenden gelbroten Farbstoffe, die früher als Lipochrome bezeichnet wurden, sind als Carotine erkannt. Auch das Haematochrom ist ein Carotin. Eine Zusammenstellung dieser Fälle findet sich bei Czapek, Biochemie I, S. 177.

Den Chromoplasten nahe steht der **Augenfleck** (Stigma), der bei beweglichen Algen und Schwärmsporen gewöhnlich am vorderen Ende in der Einzahl auftritt und aus einem plasmatischen Stroma besteht, in dem ein ölartiger bräunlicher bis roter Körper eingelagert ist. Der Farbstoff zählt zu den Carotinen (Haematochrom, G. Klebs, Flagellatenstud. II, Ztschr. wiss. Zool., 1892, LV, 401), wenigstens wird der rote Augenfleck grüner Algen mit Schwefelsäure blau. Mit dem Augenfleck nicht zu verwechseln sind die bisweilen, aber nicht immer in den Kolonien (*Syncrypta Volvox*) auftretenden karminroten Pigmenttröpfchen, die in keiner Beziehung zum Chromatophor stehen und sich in der Nähe der Zelloberfläche und der Geißelbasis im farblosen Zellende befinden (A. Scherffel, Augenpunkt. v. *Synura* und *Syncrypta*, Ber. bot. Ges., 1904, XXII, 443).

Anthophaein.

Anthophaein, ein brauner im Zellsaft gelöster Farbstoff (Umwandlungsprodukt des Chlorophylls?)³⁾, bedingt die schwarzen Flecken an den Flügeln der Blume

¹⁾ A. F. W. Schimper, Unters. üb. d. Chlorophyllkörn. u. die ihnen homol. Gebilde, Jahrb. f. wiss. Bot., 1885, XVI, 108. — H. Molisch, Vorübergeh. Rotfärb. d. Chlorophyllk. in Laubblätt., Ber. d. bot. Ges., 1902, XX, 442. — L. Courchet, Rech. s. l. chromoleucites, Ann. scienc. nat., 1888, VII, 350.

²⁾ H. Schmied, Carotin in den Wurzeln von *Dracaena* und Liliaceen, Öster. bot. Ztg., 1903, LIII, 313.

³⁾ M. Moebius, Das Anthophaein, der braune Blütenfarbstoff, Ber. deutsch. bot. Ges., 1900, XVIII, S. 341 u.: Beitr. z. Blütenbiol. u. z. Kenntn. d. Blüten-

von *Vicia faba*, die Braunfärbung der Blumenblätter von Delphinium-Arten (Lit. S. 344, 5). Im allgemeinen tritt der Farbstoff nur in vereinzelten Fällen auf, besonders in Orchideen (Coelogyne-Arten, Maxillaria (Fruchtknoten), Pholidota artic., Platyclinis glum.).

Anthophaein ist nach Moebius in Alkohol, Äther, Chloroform, Schwefelkohlenstoff unlöslich, löst sich aber leicht in Wasser und wird aus der wässer. Lösung durch verd. Säuren und Alkalien gefällt. Der Farbstoff nimmt durch Essigsäure eine intensive Färbung an, durch Alkalien erfolgt kein Farbumschlag (Unterschied von Anthocyan). Nach Schlockow (Lit. 364 ob.) bleibt Anthophaein unverändert, wenn die Blüten einige Tage in Alkohol gelegen haben, was aus der Unlöslichkeit des Farbstoffes in Alkohol hervorgeht.

Phaeophyll.

Braunes Chlorophyll, Phaeophyll, führen die Chromatophoren der Orchidee *Neottia nidus avis*. Lebende Pflanzen werden beim Absterben grün. Auch beim Behandeln lebenden Materials oder von Präparaten solchen Materials mit Alkohol, Äther¹⁾, heißem Wasser, Wasserdämpfen²⁾, Benzol, Schwefelkohlenstoff³⁾, wässer. Lösungen von Aldehyden und aldehydartigen Körpern, Kaliumnitrit und Ferrosulfat geht die braune Farbe in Grün über. Durch die angeführten Reagentien wird Chlorophyll, das in der lebenden Pflanze nicht auftritt, aus dem Phaeophyll gebildet, wie Schimper (Lit. S. 473, 1) meint, der auch in der Fruchtwand in den Chromatophoren den braunen Farbstoff in nadelförmigen Kristallen antraf.

Die Proteinfarbstoffe der Algen.

Phykoerythrin.

Die Chromatophoren der Florideen führen neben Chlorophyll einen roten, mit Wasser ausziehbaren Farbstoff, das Phykoerythrin Kützings (*Phycologica generalis*, Leipzig 1843), das auch vielfach in Cyanophyceen vorkommt. Der Farbstoff wird dargestellt, indem man die, bei Lichtabschluß und bei 35° gewonnenen wässerigen Auszüge (*Nitrophyllum punct. u. a.*) langsam verdunsten

farbstoffe, Ber. deutsch. bot. Ges., 1912, XXX, S. 365. — Clamor Marquardt (Lit. S. 342) u. F. Hildebrand (Lit. S. 344, 5).

¹⁾ J. Wiesner, Unters. üb. d. Farbstoffe einig. für chlorophyllfrei gehalt. Phanerogam., Jahrb. f. wiss. Bot., 1872, VIII, S. 575.

²⁾ H. Molisch, Üb. d. braun. Farbstoff d. Phaeophyceen u. Diatomeen, Bot. Ztg., 1905, LXIII, S. 131.

³⁾ O. Lindt, Umbildung d. braun. Farbstoffkörp. in *Neottia nidus avis* zu Chlorophyll, Bot. Ztg., 1885, XLIII, S. 825.

läßt. Es scheiden sich rote wasserlösliche Kristalle ab. Der Farbstoff liegt in Form einer Eiweißverbindung vor (A. Hansen) und wird daher aus wässriger Lösung durch Neutralsalze ausgesalzt. Beim Einlegen lebender Algen in Öl oder Äther wird Chlorophyll ausgezogen, während Phykoerythrin in den Chromatophoren verbleibt¹⁾.

Cramer fand beim Einlegen lebender Algen in konz. Kochsalzlös., später auch in Alkoholmaterial, Cohn auch in verschlossenen Deckglaspräparaten (Seewasserglyzerin) rote Kristalle, die nach längerer Zeit farblos wurden, dann Eiweißreaktion gaben und Rhodospermin genannt wurden²⁾. Rhodospermin ist der proteinartige Anteil des Phykoerythrins. Um Phykoerythrinkristalloide, die sich übrigens auch bei, im Meerwasser abgestorbenen Algen vorfinden, innerhalb der Zelle zur Ausscheidung zu bringen, bringt man lebende Algen (*Nitrophyllum*, *Ceramium*, *Porphyra*, *Gelidium* u. a.) auf mehrere Tage in eine 10% Kochsalzlösung, der einige Tropfen Schwefelkohlenstoff zugesetzt sind. Der Schwefelkohlenstoff tötet die Algen rasch, fördert den Austritt des Farbstoffes aus den Chromatophoren in den Zellsaft und hindert das Faulen der toten Algen. Man kann die Kristallbildung unter dem Mikroskop verfolgen beim Einlegen von kleinen Thallusstücken auf den Objektträger in 10% Chlornatrium, Magnesiumsulfat oder Ammoniumsulfat. Nach einigen Stunden beginnt die Kristallisation; es entstehen entweder zahlreiche kleine oder einige größere Kristalle. *Polysiphonia*-Arten und *Antithamnion* geben keine Kristalloide. Bruns (Lit. S. 4, 2) gelang die Kristallisation mit konz. Kochsalzlösung in Meerwasser und mit 1% Formaldehydlösung bei *Wrangelia*, *Nemastoma cervic.* und *Vidalia*. Kylin³⁾ benutzt eine 5% Lösung von Kochsalz oder Ammoniumsulfat mit Toluolzusatz.

Die Phykoerythrinkristalloide haben die Form hexagonaler Prismen; zuweilen sind sie nadelförmig und schollenartig. Sie werden bis 50 μ lang (die makrochemisch dargestellten sogar bis 480 μ lang und bis 12 μ breit), sind unlöslich in Alkohol, Äther, Chloroform, Schwefelkohlenstoff, Olivenöl und Terpentinöl. Die frisch gefällten Kristalloide sind

¹⁾ J. Klein, Krist. einig. Florideen, Flora, 1871, LIV, 161 u.: Krist. d. Meeresalg., Jahrb. wiss. Bot., 1882, XIII, 23. — F. Schütt, Phykoerythr., Ber. bot. Ges., 1888, VII, 36 und 305. — A. Hansen, Stoffb. b. Meeresalg., Mitt. zool. Stat. Neapel, 1893, XI, 255. — H. Molisch, D. Phykoerythr., s. Kristallisierung, u. chem. Nat., Bot. Ztg., 1894, LII, 177.

²⁾ C. Cramer, Rhodospermin, ein krist., quellb. Körper im Zellinh. versch. Florid., Natf. Ges. Zürich, 1861, VII, 350. — F. Cohn, Beitr. z. Phys. d. Phyko-chrom. u. Florid., M. Schultze's Arch., 1867, III, S. 1.

³⁾ H. Kylin, Über die roten und blauen Farbstoffe der Algen, Ztschr. f. phys. Chem., 1912, LXXVI, S. 396.

in Wasser löslich, mit dem Alter nimmt ihre Löslichkeit in Wasser ab. In Glyzerin lösen sie sich langsam, jedoch nicht mehr nach vorausgegangener Behandlung mit Alkohol. Sie verquellen unter Entfärbung bis zum Verschwinden in verd. Kalilauge, Natronlauge, Ammoniak, Barytwasser. „Von starker Natronlauge werden sie erst violett, dann blau, blaugrün, grün und zuweilen (Porphyra) braungelb gefärbt“ (Gaidukov)¹⁾, von konz. Kalilauge blau, blaugrün, malachitgrün. In konz. Säuren zerfließen sie, in verd. Säuren (1 + 6 Wasser) werden sie violett bis ziegelrot. Entfärbte Kristalloide (das Entfärben gelingt leicht, indem man die Präparate mehrere Tage dem direkten Sonnenlichte aussetzt, Bromdampf greift die Kristalloide zu sehr an) geben Eiweißreaktionen. Durch Erhitzen auf 100° und längere Alkoholbehandlung werden sie unlöslich.

Phykocyan.

Die Chromatophoren der Cyanophyceen führen einen blaugrünen Farbstoff (Cohns Phykochrom), der aus Chlorophyll und einem blauen wasserlöslichen Farbstoff, dem Phykocyan Kützings besteht. Man nimmt mehrere Phykocyane an, die sich durch die Farbe ihrer wässrigen Lösungen, ihr spektroskopisches Verhalten und ihre Kristallisationsfähigkeit unterscheiden (H. C. Sorby nahm schon 3 Phykocyane an [blue, purple, pink], s. auch H. Molisch [Sitzb. Wien. Ak., 1906, CXV, 795] u. H. Kylin, Lit. S. 475,3). Seit Hansen (Lit. S. 475,1) werden die Phykocyane als (meist kristallisierbare) Farbstoffe eiweißartiger Natur betrachtet (auch H. Molisch, Bot. Ztg., 1895, LIII, 131). Makrochemisch erhält man sie aus dem bei Lichtabschluß erhaltenen wässrigen Auszuge (*Oscillaria leptotricha*), den man mit Ammonsulfat aussalzt und verdunsten läßt (5—42 μ lange Kristalle des monoklinen Systems, Kombination von Prisma u. Klinodoma, Becke).

Die frisch gefällten Phykocyankristalle sind von weicher Konsistenz, indigoblau, löslich in Wasser, Glyzerin, verd. Alkalien, unlöslich in verd. Säuren, Alkohol, Äther, Benzol u. a. Salpetersäure färbt karminrot, dann gelb, Schwefelsäure löst, Salzsäure und Eisessig bildet schaumige Tropfen. Durch Alkoholbehandlung werden sie unlöslich in Wasser. Entfärbte Kristalle (Bromwasser, direktes Sonnenlicht, 2 Min.) geben Eiweißreaktionen (Jod, Eosin). Die Lokalisation des Farbstoffes kann unter Deckglas mit konz. Essigsäure festgestellt werden. Die dem Wasser entnommenen Algen werden mit Filtrierpapier schnell abgetupft und in Essigsäure gebracht. Das Chlorophyllgrün bildet am Deckglasrande Chlorophyllankristalle, zwischen den Algenfäden erscheinen orangefarbene Carotinkristalle, das Phykocyan bleibt in der Zelle und ist mikroskopisch gut zu sehen, besonders bei übereinandergelagerten Fäden.

¹⁾ N. Gaidukov, Zur Farbenanalyse der Algen, Ber. deutsch. bot. Ges., 1904, XXII, S. 27.

Phaeophyceenfarbstoffe.

Die Chromatophoren der Phaeophyceen führen einen gelbbraunen Farbstoff (Cohns Phaeophyll), der aus Chlorophyll (Sachs, A. Hansen, Würzb. Arb., 1885, III, 293) und Phykophaein, dem eigentlichen Phaeophyceenbraun, besteht. Die braune Farbe geht in Grün über nach kurzem Behandeln mit heißem Wasser, Äther-, Chloroform- und Wasserdämpfen (J. Reinke, Jahrb. wiss. Bot., 1876, X, 410), Azetondämpfen (Molisch, Lit. S. 474, 2) und mit nicht zu verd. Lösungen von Benz- oder Propylaldehyd. Diese Reaktionen lassen sich mikroskopisch verfolgen. Andererseits bleibt der Farbstoff durch Abtöten der Algen in Glyzerin, Petroläther und dest. Wasser erhalten (Tswett). Die Natur des braunen Anteiles ist noch nicht völlig geklärt (näheres bei Th. W. Engelmann, Bot. Ztg., 1882, XL, 663, M. Tswett, Bot. Ztg., 1905, LXIII, 274, Fr. Czapek, Lotos, 1911, LIX, 250, Kylin u. a.)

Diatomeenfarbstoffe.

Die braungelben Farbstoffe der Diatomeen (Diatomin) sind noch nicht genügend erforscht; sie stimmen vielleicht mit den Farbstoffen der Peridineen (Pyrrophyll, Schütt) überein, nach Molisch auch mit dem Phaeophyceenfarbstoff. Fügt man zu einer unter Deckglas liegenden Diatomeenmasse absoluten Alkohol zu, so scheiden sich beim Verdunsten des Alkohols gelbliche Tropfen und nahe dem Deckglasrande grüne Tropfen aus. Die gelben Tropfen werden nach dem Eintrocknen durch Salzsäuredampf blau gefärbt. Durch nicht zu verd. wässrige Lösungen von Propyl- oder Benzaldehyd werden lebende Algen nach einiger Zeit grün.

Eiweißkristalloide.

Eiweißkristalloide kommen vor: 1. als Einschlüsse des Zellkerns¹⁾, 2. als Einschlüsse der Chromatophoren (A. Meyer, Lit. S. 33, 1, Schimper, Lit. S. 473, 1) (und Pyrenoide) und 3. im Cytoplasma und im Zellsaft (in Vakuolen und Aleuronkörnern). Bei Polypodium ireoides u. a. kommen sie gleichzeitig im Zellkern und im Cytoplasma oder im Zellsaft vor²⁾. Sie sind erythrophil. Die Kristalloide können wieder in den Stoffwechsel einbezogen werden. Eiweißkristalloide führende Pflanzen zeigen bei Kultur in kalkfreier Nährlösung eine vermehrte Bildung und Ansammlung von Kristalloiden; so führt Rivina humilis normal nur Zellkernkristalloide, bei kalkfreier Kultur aber auch im Zellsaft und bei Veronica chamaedrys, die normal ebenfalls nur im

¹⁾ Zuerst aufgefunden und beschrieben von Radlkofer, Über Kristalle proteinartiger Körper pflanzlichen und tierischen Ursprungs, Leipzig, 1859.

²⁾ A. Zimmermann, Über die Proteinkristalloide, Beitr. z. Morph. u. Phys. d. Pflanzenzelle, 1890, Heft I, S. 54, Heft II, S. 112.

Zellkern Kristalloide hat, sind sie dann auch in den Chromatophoren¹⁾. Die physikalisch-kristallographischen Eigenschaften der Kristalloide wurden von Naegeli und Schimper studiert (s. Aleuron).

Eiweißkristalloide im Zellkern.

In den Zellkernen sind Eiweißkristalloide nicht selten. Radlkofer (Lit. S. 477, 1) beschreibt sie bei *Lathraea*, Vogl (Lit. S. 150, 1)²⁾, der sie mit Cochenille färbt, bei *Campanula trachelium* (Fig. 110 a). Sie kommen vor in den Zellkernen von *Pinguicula*, *Galtonia*, *Urticularia*³⁾, *Stylidium*, *Pirola*⁴⁾, *Hyacinthus*, *Convolvulus*; *Campanula*-Arten, *Mimulus* (Samenknospe), *Candollea adnata* (Palisaden), *Alectorolophus major* (Fruchtwand, Fig. 110 b), *Melampyrum arvense* (Schwammparenchym, Fig. 110 c), *Lophospermum scandens* (Epidermis), *Polypodium ireoides* u. a. (Lit. S. 477, 2), *Ornithogalum caudatum* (Fruchtknotenwand)⁵⁾, *Clandestina* (Tracheidenkopf)⁶⁾. Sie

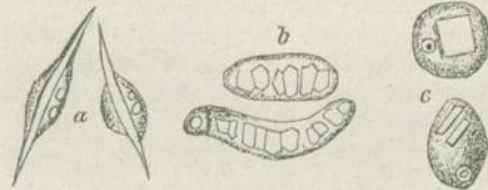


Fig. 110. Kristalloide in Zellkernen: a) *Campanula trachelium* (Wurzel), b) *Alectorolophus adnata* (Fruchtwand), c) *Melampyrum arvense* (Blatt).
(b nach Zimmermann.)

kommen schon in nächster Nähe der Vegetationspunkte und in jugendlichen Keimpflanzen vor.

Die Kristalloide treten in der Ein- und Mehrzahl in den Kernen auf, sind rundlich, tafelförmig, stäbchen- und nadelförmig. Letztere sind zuweilen verbogen.

Sie sind sehr empfindliche Gebilde und schon Vogl 1867 und dann Leitgeb⁷⁾ wiesen darauf hin, daß sie durch den Säuregehalt des Zellsaftes rasch zerstört werden und sich meist in sehr verd. Essigsäure auflösen. An stärkeren Stellen der Präparate (in unverletzten Zellen) sind sie bei lebendem Material in den meisten Fällen ohne weiteres

¹⁾ Stock, Z. Kenntn. d. Proteinkristalle, Tübinger Diss., Breslau 1892.

²⁾ Vogl hebt die Löslichkeit in Wasser bei nachfolgendem Alkoholzusatz hervor und sagt: „Bei Zusatz von Äther und Alkohol entstehen später sehr kleine, spießige Kristalle.“ Der Befund sollte nachgeprüft werden.

³⁾ J. Klein, Die Zellkernkristalloide von *Pinguicula* und *Urticularia*, Jahrb. f. wiss. Bot., 1882, XIII, S. 60.

⁴⁾ Raunkjær, Bot. Centralbl., 1887, XXX, S. 236.

⁵⁾ E. Straßburger, Bot. Prakt., 1897, Pens. IV.

⁶⁾ E. Heinricher, Lit. S. 94, 1 u.: Vorkommen von Eiweißkristallen bei *Lathraea*, Jahrb. f. wiss. Bot., 1900, XXXV, S. 28.

⁷⁾ H. Leitgeb, Proteinkr. i. Zellk., Graz. Mitt., 1886, I, 115.

gut sichtbar und heben sich auch von den Nukleolen durch ihre Größe und Gestalt genügend scharf ab. Nur wenn sie sehr klein sind und rundliche Form besitzen, so daß sie mit Nukleolen verwechselt werden können, oder zu Dauerpräparaten wird man zur Fixierung und Färbung greifen. Als Fixierungsmittel hat sich konz. alkoholische Sublimatlösung bewährt (Kutikula einschneiden!) sowie Merck's Flüssigkeit. Gefärbt wird nach Zimmermann¹⁾ mit 0,2% wässer. Lösung von Fuchsin. Diese Lösung, die bis in die neueste Zeit überwiegend benutzt²⁾ wird und durch Zusatz von etwas Kampfer haltbar gemacht werden kann, färbt in 12–24 Stunden. Die Präparate werden sofort in fließendem Wasser ausgewaschen, die Färbung, die sich nur auf die Kristalloide beschränkt, hält sich in Kanadabalsam. Man kann auch Mikrotomschnitte mit konz. Säurefuchsinlösung erwärmen und zum Auswaschen warme konz. wässer. Kaliumdichromatlösung benutzen. Gute Färbungen geben ferner Fuchsin-Jodgrün, Fuchsin-Pikrinsäure, Haematoxylin u. a. Huie³⁾ gebraucht zum Fixieren die Mannsche Lösung (Ztschr. f. wiss. Mikr., 1894, XI, S. 479: 12 g Sublimat, 0,75 Chlor-natrium in 100 g Wasser, 1 g Pikrinsäure, 1 g Tannin) und färbte 24 Stunden mit einem Gemisch von 35 ccm 1% wässer. Methylenblau und 45 ccm 1% wässer. Eosin. Dann folgt Umschwenken in Wasser, Entwässern mit Alkohol und Übertragung bis zur Rotbraunfärbung in ein Gemisch von 30 ccm Alkohol und 4 Tropfen 1% alkoholischer Natronlauge; ferner Entfernen der Natronlauge mit Alkohol, 1 Minute in Wasser, 2 Minuten in mit Essigsäure angesäuertem Wasser, Entwässern, Xylol, Kanadabalsam. Heinricher fixiert die sehr hinfalligen Kristalloide in Clandestina mit siedendem Alkohol und färbt mit Böhmers Haematoxylin (schwarzviolett), Gentianaviolett (blau) oder Fuchsin (rot). Doppelfärbungen führte Zimmermann mit Säurefuchsin und Delafield'schem Haematoxylin aus (Kristalloide rot, Kerngerüst blau). Die gleiche Färbung bewährte sich nach Sperlich⁴⁾ bei Alectorolophus.

Eiweißkristalloide in Chromatophoren.

Die Eiweißkristalloide sind meist langgestreckte Prismen, fein ausgezogene Nadeln, würfel- und oktaederförmig. Ecken und Kanten sind oft undeutlich aus-

¹⁾ A. Zimmermann, Üb. d. tinktionelle Verhalten der Zellkernkristalloide, Ztschr. f. wiss. Mikr., 1893, X, S. 211.

²⁾ A. Mrazek, Über geformte eiweißartige Inhaltskörper bei den Leguminosen, Öster. bot. Ztschr., 1910, LX, S. 198.

³⁾ L. Huie, On some protein crystalloids and their probable relation to the nutrition of the pollentube, La Cellule, 1895, XI, S. 1.

⁴⁾ A. Sperlich, Die Zellkernkristalloide von Alectorolophus, Bot. Centralbl., Beih., 1906, XXI, S. 1.

gebildet. Größere Kristalloide treten, das Stroma stark zurückdrängend, in der Einzahl, kleinere zu mehreren auf.

In lebendem Material werden die meisten Kristalloide in Wasserpräparaten ziemlich schnell zerstört. Zuweilen sind sie in Wasser unlöslich (Canna). Sie heben sich oft nur wenig vom gefärbten Chromatophor ab. Man beobachtet in 4% Rohrzuckerlösung oder fixiert und färbt mit alkoholischer Sublimatlösung und Säurefuchsin-Kaliumdichromat (Zimmermann, s. auch S. 479); das Stroma bleibt farblos,



Fig. 111. Kristalloide in Chromatophoren: a) *Exogonium purga* (Kelch), b) *Heder helix* (Blattstiel), c) *Psychotria emetica* (Wurzel). (c nach Hartwich.)

die Kristalloide treten rot gefärbt hervor. In Alkoholmaterial sind sie gehärtet und leichter auffindbar (der Farbstoff ist entfernt), in Drogen findet man sie selten. In den Chromatophoren der Blätter und Stengel sind sie oft anzutreffen (*Pellionia*, *Convolvulus tric.*, *Heder spec.*, *Vanilla*, *Canna*, *Drimys u. a.*, Fig. 111), hier und da in Knollen (*Phajus grandif.*), selten in Wurzeln. In der Wurzel von *Psychotria emetica*¹⁾

(Kork, äußeres Rindenparenchym) sind lang ausgezogene nadelförmige Kristalloide (Fig. 111 c). Vielleicht zählen die spindelförmigen Gebilde von Eiweißcharakter im Rindenparenchym von *Nepenthes melamp.*²⁾ und der Balsaminen ebenfalls hierher.

Leukosomen nennt Zimmermann (Mikrot. S. 200) sehr kleine kuglige Einschlüsse der Leukoplasten (in der Einzahl oder zu mehreren auftretend), die sehr empfindlich sind, von Wasser gelöst, von Kaliumdichromat zerstört werden, mit 0.2% Säurefuchsin bei mit konz. alkoholischem Sublimat fixiertem Material (*Tradescantia*, Tangentialschnitte der Blätter) färbbar sind und ihren Reaktionen nach (Jodwasser, Xanthoproteinreaktion, Millons Reagens) den Eiweißstoffen nahe stehen.

Eiweißkristalloide im Cytoplasma.

Die im Cytoplasma und im Zellsaft vorkommenden Eiweißkristalloide sind von verschiedener Form: würfelförmig (Kartoffel)³⁾, oktaederartig (*Polypodium ireoides*, untere Blattepidermis), wetzsteinförmig (*Vanda furva*, *Passiflora*-Arten), spindel- bis gedreht nadelförmig

¹⁾ C. Hartwich, Boliv. Drog., Schw. Wechschr. Ch. Ph., 1909, XLVII, Nr. 10.

²⁾ E. Heinricher, Biol. v. *Nepenth.*, Ann. Buitenz., 1906, V, 227.

³⁾ Von F. Cohn (37. Jahrb. schles. Ges. vaterl. Kult., Breslau, 1860) aufgefunden, der die Quellfähigkeit der Kristalloide betonte und darauf hinwies, daß ihre Löslichkeit von der Lokalisation abhängt. Die nahe dem Kork gelagerten Kristalloide sind am schwersten löslich.

(*Gratiola* off., Fruchtknotenwand, *Scilla*, Griffel [hier werden sie vom wachsenden Pollenschlauch aufgebraucht, Huie, Lit. S. 479, 3]), ringförmig (*Epiphyllum*, Zweige)¹⁾. Kristalloide finden sich in *Oncidium* micr. (Blatt)²⁾, Leguminosen (Blüten)³⁾, *Euphorbia* splend. (Parenchym)⁴⁾, *Abies* (Rinde)⁵⁾, *Capsicum* (Frucht- und Scheidewand, Lit. S. 164, 1). In großer Menge kommen sie im Stamm wurzelfauler Kartoffelpflanzen vor⁶⁾.

Im Milchsaft von *Musa* finden sich in den Vakuolen Kristalloide, die in Wasser, Äther, Alkohol, Chloroform unlöslich sind, in 1% Mineralsäuren und in 1% Essigsäure etwas aufquellen, sich aber leicht in konz. Säuren und in verd. Kalilauge und Ammoniak lösen (Lit. S. 170, 1). Sie färben sich bei gewöhnlicher Temperatur mit wässer. Gentianaviolett-Methylenblau, mit Böhmers Haematoxylin, beim Erwärmen mit Methylgrün-Essigsäure und mit Säurefuchsin. Sie geben die Xanthoprotein-Reaktion und enthalten Gerbstoff (mit Eisensulfat, Blaufärbung). Wasserzutritt zu frischem Milchsaft macht die Vakuolen sichtbar und durch Quellung auch die kleinen Proteinkörner im Milchsaft zahlreicher anderer Pflanzen (Lit. S. 123, 1).

Ungemein kleine Plasma-Eiweißkristalle hat Heinricher in *Lathraea* aufgefunden (quadratische und rhombische Plättchen von 1 μ Seitenlänge. Diese lassen sich mit Sicherheit nur dann identifizieren, wenn gleichzeitig Zellkernkristalloide im Präparate zugegen sind und übereinstimmende Reaktionen erhalten werden. Doch kommen bei *Lathraea* auch große Kristalle im Plasma vor (Blumenkrone). In den Blättern von *Phytolacca abyssinica* fand Kruch⁷⁾ im subepidermalen Gewebe Kristalloide, die sich in 10–20% Chlornatrium- und Kaliumnitratlösung, Glycerin, verd. Kalilauge, verd. Essig- und Salzsäure lösen, aber unlöslich in Wasser und in 5% Zuckerlösung sind und im übrigen Eiweißreaktionen geben.

An dieser Stelle seien die spindel- und nadelförmigen Körper angeführt, die in den Epidermiszellen von *Drosera dichotoma* und *Dionaea* meist in Einzahl auftreten, nach Reizung der Blätter sich abrunden und in mehrere Teile zerfallen, nach starker Reizung kleiner werden, von Gardiner als Reservestoffe angesprochen und Plastoiden (Rhab-

¹⁾ H. Molisch, Merkw. Proteink. in Zweig. v. *Epiphyll.*, Ber. bot. Ges., 1885, III, 195 u.: Chmielewsky, Bemerk. hierzu, Bot. Centralbl., 1887.

²⁾ K. Mikosch, Vork. geformt. Eiweißes, Ber. bot. Ges., 1890, VIII, 33.

³⁾ Baccarini, Bot. Centralbl., 1896, LXV, 391.

⁴⁾ Frey, Ann. of. Bot., 1891, V, 413.

⁵⁾ F. v. Höhnelt, Sitzb. Wien. Ak., 1881, LXXXIV, 589.

⁶⁾ E. Heinricher, Ber. deutsch. bot. Ges., 1891, IX, 287.

⁷⁾ O. Kruch, Ztschr. f. wiss. Mikr., 1896, XIII, S. 390.

doiden) genannt wurden¹⁾. Sie lassen sich durch Alkohol, 1% Chromsäure und Pikrinsäure fixieren, nehmen durch Jodjodkalium sphäritische Gestalt an und verquellen in verd. Alkohol bis zum Verschwinden.

Eigenartige durchsichtige Eiweißkristalloide wurden von Noll²⁾ in den Siphoneen *Derbesia* und *Bryopsis* aufgefunden. Es sind Sphärokristalle und faserige, aus kleinen Nadeln bestehende Gebilde, die sich vorgebildet im Zellsaft finden, in der lebenden Zelle aber wenig deutlich hervortreten. Ihr schwaches Lichtbrechungsvermögen deutet auf einen hohen Wassergehalt hin. Sie werden aber sichtbar, wenn man das Deckglas gelinde drückt. Beim Zerreißen des Thallus werden sie herausgeschleudert, verkleben hierbei zum Teil untereinander und unterstützen derart den Wundverschluß³⁾. Sie sind am reichlichsten bei gut ernährten Algen vorhanden (Reservestoffe). Sie färben sich mit Jodjodkalium, werden, nach vorausgegangener Beizung mit wässriger Tanninlösung und Auswaschen, mit 1% Osmiumsäure braun⁴⁾ und speichern Cochenille (rotbraun), Methylenblau, Safranin, Neutralrot, Kongorot, Eosin, Nigrosin, Thionin. Die Färbung ist verschieden, die strahlig radialen Kugeln werden mit Eosin gelbrot, die Fasergebilde dunkelrot (Noll⁵⁾). Sie sind widerstandsfähig gegen Süßwasser, Glyzerin, Salzsäure, Kalilauge, zerfallen beim Kochen in Glyzerin bei 290°, lösen sich in heißer Schwefelsäure, werden durch Alkohol trübe und undurchsichtig.

Pyrenoide.

Pyrenoide (Fr. Schmitz, *Jahrb. wiss. Bot.*, 1884, XV, 1), Stärkeherde, stark lichtbrechende Einschlüsse der Chromatophoren vieler Algen, bei *Anthoceros* und im *Protonema* einiger Laubmoose, bestehen aus einem proteinhaltigen Kern, der von einer hyalinen Zone, der Stärkehülle (bei *Euglena* von Paramylon) umgeben ist. Sie treten in lebenden Zellen nicht immer gut hervor, besser in fixiertem Material (oft genügt Eintauchen in kochendes Wasser). Der Eiweißkern ist teils nicht kristallinisch, teils kristallinisch (*Cladophora*, *Bryopsis*, Schimper [Lit. S. 473, 1], *Prasiola*, Lagerheim [Ber. bot. Ges., 1892, X, 366], *Haematococcus*, Wollenweber [Festschr. bot. Ges., 1908, XXV, 238]). Die Pyrenoide entstehen durch Teilung (Zimmermann [Lit. S. 105, 1], Klebahn [Jahrb. wiss. Bot., XXII, 415]), wahrscheinlich sind sie schon in den Leukoplasten angelegt (Zumstein, Lit. S. 467). Bei *Volvox* u. *Gonium* gibt Overton (*Bot. Centralbl.*, 1889, XXXIX, 148) Neu-

¹⁾ W. Gardiner, On the Phenomena accompanying Stimulation of the Gland-Cells in the Tentacles of *Drosera dichotoma*. *Proc. roy. Soc. London*, V, XXXIX, S. 229. — Rhabdoiden nannte Wakker fadenförmige Kristalloide im Knollen von *Tecophilea cyanoc.*, die mit Millon und Salpetersäure nicht reagieren (Ein neuer Inhaltsk. d. Pflanzenzelle, *Jahrb. wiss. Bot.*, 1891, XXIII, 1).

²⁾ F. Noll, *Exper. Unters. üb. d. Wachstum d. Zellmembr.*, Habilitationsschr. u. Abh. Senckenb. Ges., 1887, XV, 101.

³⁾ E. Küster, *Derbesia* u. *Bryopsis*, *Ber. bot. Ges.*, 1899, XVII, 77.

⁴⁾ A. Ernst, *Zellinh. v. Derbesia*, *Flora*, 1904, XCIII, 514.

⁵⁾ F. Noll, *Geformte Prot. v. Derbesia*, *Ber. bot. Ges.*, 1899, XVII, 302.

bildung an. Timberlake (Ann. of. Bot., 1909, XV, 619) weist auf Beziehungen zur Stärkebildung hin (Hydrodictyon) und nach v. Derschau (Ber. bot. Ges., 1909, XXVII, 99) wird die Kernsubstanz „zum Zwecke der Stärkebildung den Chromatophoren zugeführt“.

Von der Stärkehülle hebt sich die Pyrenoidmembran in doppelter Kontur scharf ab. Die Membran ist widerstandsfähig gegen Millon, während die Chromatophoren mehr oder weniger zerstört werden. Millons Reagens benutzt man somit zur Sichtbarmachung der Pyrenoide¹⁾ (auch die sog. Pyrenoidbänder [Spirogyra, Mougeotia] sind gegen Millon widerstandsfähig). Meist wird jedoch fixiert und gefärbt: Fixierung mit konz. Sublimatalkohol, Auswaschen, 24stündige Färbung in 2% Säurefuchsin, Auswaschen in Wasser (10–20 Min.), Entwässern, Kanadabalsam (Pyrenoide rot). Chmielewski (Strasburgers Prakt.) fixiert mit 10% rotem Blutlaugensalz + Essigsäure und färbt mit Hofmanns Violett.

Zimmermann (Mikrot., S. 202) benutzt Pikrinsäure-Säurefuchsin. Auf ein Uhrgläschen mit konz. Lösung von Pikrinsäure in 50% Alkohol kommen 5 Tropfen konz. Säurefuchsinlösung (Einwirkung einige Stunden, Auswaschen mit Alkohol 10–20 Min., Einschließen in Kanadabalsam). Mit Nigrosin-Pikrinsäure bleibt die Haut farblos, die Kristalloide werden blau. Boubier färbt mit 2–5% Kongorot und 0.5% Chrysoidin und bringt die Präparate auf einen Augenblick in Millons Reagens; Chromatophoren, Kristalloide nebst Pyrenoidmembran werden blau. — Außerdem behandelt er Algenmaterial nacheinander mit Jodwasser, Wasser, Sublimatalkohol, Alkohol und Chloralhydrat und färbt mit einer Lösung von Säurefuchsin in Chloralhydrat; hierbei hebt sich die Membran ab und färbt sich nur schwach, während Zellkerne und Kristalloide rot werden.

Diatomeenpyrenoide, die nach Mereschkowsky²⁾ farblos sein dürften, lassen sich mit Rubin-Orange-Methylgrüngemisch färben (Mitrophanow³⁾), Euglenenpyrenoide mit Rubin S und Coccinin (Dangeard⁴⁾). Bei letzteren erhält man gute Bilder bei Behandlung der Präparate auf dem Objektträger mit Säurefuchsin, verd. Pikrinsäure und verd. Glycerin. Verd. wässer. Gentianaviolett benutzte Schmitz.

¹⁾ A. M. Boubier, Contr. à l'ét. du pyrenoide, Bull. de l'Herb. Boissier, 1899, VII, S. 451.

²⁾ C. Mereschkowsky, Über farblose Pyrenoide und gefärbte Eläoplasten der Diatomeen, Flora, 1903, XCII, S. 77.

³⁾ P. Mitrophanow, Beob. üb. Diatom., Flora, 1898, LXXXV, 293.

⁴⁾ P. A. Dangeard, Rech. s. Eugl., Le Bot., 1902, VIII, 97.

Nach Hieronymus¹⁾ soll bei *Dicranochaete reniformis* das Kristalloid von einer proteinhaltigen Hülle umschlossen und die Stärkesubstanz an anderen Stellen der Chromatophoren eingebettet sein. Das Kristalloid soll sich nicht nur in verd. u. konz. Kalilauge, Essigsäure, Salzsäure und Kochsalzlösung, sondern auch in kochendem Wasser lösen. Durch Alkohol wird die Löslichkeit verringert, zur Färbung Safranin empfohlen. Die Proteinhülle soll sich lösen in konz. u. verd. Kalilauge und Salzsäure und sich mit Hämatoxylin und Kongorot färben. Bei Kombination von Safranin und Hämatoxylin wird die Hüllmasse violett, das Kristalloid rot. Während das Kristalloid durch Pepsinsalzsäure (1 Vol. Pepsinglyzerin und 3 Vol. 0.2% Salzsäure) in einigen Tagen angegriffen wird, bleibt die Hülle vollständig unverändert.

Zur Färbung der kinoplasmatischen Verbindungsfäden von Pyrenoid und Zellkern leistet bei Chlorophyceen eine sehr verd. Lösung von Jodwasser-Eosin gute Dienste (v. Derschau, Lit. S. 488 ob., Stärke blau, Zellkerne, Pyrenoide und Verbindungsfäden rosenrot). Auch Eisenhämatoxylin läßt sich benutzen.

Characeenkörper.

Characeenkörper, Stachelkugeln, Wimperkörper, sind kleine Gebilde, die vornehmlich an fixiertem Material (*Nitella*) neben den Zellkernen scharf hervortreten; sie sollen (Overton)²⁾ aus kristallinen Eiweißsubstanzen bestehen und oft auch Gerbstoff führen (Jodjodkalium braun, 10% Rohrzucker + Schwefelsäure rot, Molybdänschwefelsäure bläulich). Sie färben sich nach Fixieren mit Sublimatalkohol mit Boraxcarmin und Fuchsin. Die kristallinische Struktur tritt am besten an mit Boraxcarmin gefärbten und in Tolubalsam eingebetteten Objekten hervor. Für ihren Gerbstoffgehalt sprechen die Reaktionen mit Osmiumsäure (hellbraun), Eisenchlorid (schwärzlich), 10% Kaliumdichromat (braunrot) und Lebendfärbung mit Methylenblau. In Eisessig, Salzsäure, Salpetersäure, konz. Schwefelsäure bleiben sie fast unverändert und nehmen beim Kochen mit Natronlauge unter Lösung ihrer Stachelhülle eine schwammige Struktur an. — Die sog. nackten Stachelkugeln sind wasserhelle Blasen. Sie kommen bei einigen Characeen (*Ch. fragilis*, *hispida*) ausschließlich vor, während bei anderen Übergänge zwischen stacheligen und nackten Formen auftreten. In ihren Reaktionen stimmen sie mit den Stachelkugeln überein.

¹⁾ G. Hieronymus, Über *Dicranochaete reniformis*, eine neue Protococcacee des Süßwassers, Cohns Beitr. z. Biol. d. Pflanz., 1890, V, S. 351.

²⁾ E. Overton, Beiträge zur Histologie und Physiologie der Characeen, Bot. Centralbl., 1890, XLIV, S. 1.

Aleuronkörner.

Die Aleuronkörner wurden von Th. Hartig (Bot. Ztg., 1855, XIII, 881) entdeckt. v. Holle, der die Kristalloide 1858 mit Ammoniak auszog und die zurückbleibenden Globoide in verd. Essigsäure löste, sowie Maschke (Bot. Ztg., 1859, XVII, 409), der aus Bertholletia eine kristallinische Substanz gewann, arbeiteten überwiegend makrochemisch. Trécul (Ann. scienc. nat., 1858, X, 20) und Sachs (Bot. Ztg., 1862, X, 242) schrieben noch den Aleuronkörnern einen Fettgehalt zu. Unsere Kenntnis wurde am meisten gefördert durch die klassische Arbeit Pfeffers (Lit. S. 121, 3). Tschirch (Lit. S. 33, 3 u. S. 249, 2) zog die Körner zur Diagnose heran und klärte die morphologischen Verhältnisse auf. Mit der chemischen Erforschung der in den Körnern enthaltenen Eiweißstoffe beschäftigten sich Vines, Osborne u. a.

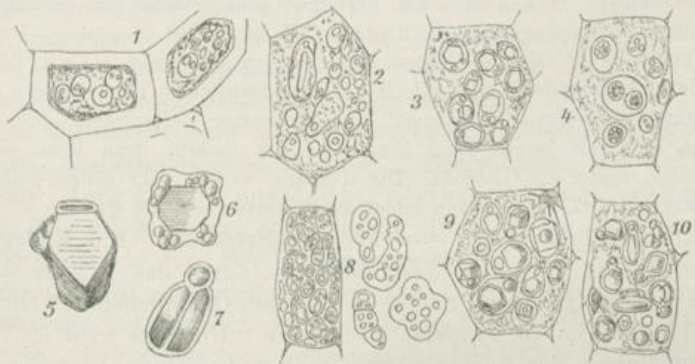


Fig. 112. Aleuronkörner von: *Strychnos nux vomica* 1, *Prunus amygdalus* var. amar. 2, *Ricinus com.* 3, *Ferula narthex* 4, *Myristica surinamensis* 5, *Bertholletia excelsa* 6, *Linum usitatissimum* 7, *Helianthus annuus* 8, *Hyoscyamus niger* 9, *Daphne mezereum* 10. Präparate in Sublimat-Alkohol, 8 in Osmiumsäure (Tunmann).

An einem Aleuronkorn unterscheidet man 1. die Gesamthaut, 2. die Grundmasse und 3. die Einschlüsse. Die Einschlüsse sind entweder a) Kristalloide, b) Globoide, c) Kristalle. Diese Einschlüsse vertreten sich meist gegenseitig und können sogar ganz fehlen (Papilionaceen, Lupinus, Pisum, Phaseolus). Andererseits kann die Grundmasse fast rudimentär werden (*Myristica*). Die Körner ein- und derselben Pflanze können verschiedene Einschlüsse besitzen, so daß einige Körner nur Kristalloide führen, andere nur Globoide (*Theobroma*) oder einige Körner nur Globoide, andere nur Kristalle (*Pimpinella*). Sehr häufig sind in einem Korne Globoide und Kristalloide (*Papaver*, *Datura*, *Linum*, *Cannabis*, *Rizinus* u. a.). Alle Einschlüsse können in der Ein- oder Mehrzahl zugegen sein. Die Größe der Körner schwankt von 1 bis 55–60 μ und wechselt je nach den Geweben und Gewebepartien. Die Körner der Randschichten des Endosperms sind oft kleiner als im inneren Endosperm (*Hyoscyamus*, *Strychnos*), im Embryo kleiner als im Endosperm (*Datura*). Die Mannigfaltigkeit im Aufbau der Aleuronkörner ist eine recht große (Fig. 112).

Die Aleuronkörner kommen ausschließlich im Samen vor (Endosperm, Perisperm, Embryo, für Pulveruntersuchungen diagnostisch wichtig!) und zwar vorzugsweise in ölreichen Samen, während sie im allgemeinen in stärkehaltigen Samen stark zurücktreten und auf gewisse Schichten beschränkt sind. Sie sind rundlich, eiförmig, polyedrisch, langgestreckt, gebogen, gelappt oder kristalloidartig. Das Cytoplasma bildet eine feine Ölemulsion (Ölplasma, Tschirch). Zuweilen scheint Öl zu fehlen, Schellenberg¹⁾ konnte im Samen der Plantagoarten kein Öl ermitteln bei gleichzeitiger Anwesenheit von Eiweißkristallen und Globoiden. Beim Zentrifugieren angequollener oder angekeimter Samen sammeln sich die Aleuronkörner am zentrifugalen Ende der Zellen an, das Öl findet sich in den zentripetalen Zellenden (Andrews, Lit. S. 18, 1). Die Körner sind meist farblos bis hellgelb, selten grün (*Zea mays*, *Acer*, *Evonymus*, *Pistacia*), blau und braunrot.

Bildung und Auflösung der Körner verfolgte zuerst eingehender Gris²⁾. Sie entstehen im letzten Stadium der Reife des Samens aus eiweißreichen Vakuolen, wie (im Gegensatz zu Lüdtké) Wakker (Lit. S. 116, 1), Belzung und Werminski³⁾ zeigten. Zuerst scheiden sich die Kristalle aus, dann die Globoide und Kristalloide und zuletzt die Grundsubstanz. Beim Keimen erfolgt die Lösung (proteolytische Enzyme) in umgekehrter Reihenfolge. Die Grundsubstanz löst sich bereits beim Einquellen der Samen, dann lösen sich die Kristalloide, später die Globoide. Die Kristalle werden sehr selten gelöst (bei Kalkmangel S. 137, 1). Aleuron bildet das Reserveeiweiß der Samen.

Zum Studium wählt man dünnere Präparate. Ein Einlegen in Wasser ist am besten zu vermeiden, da durch das Wasser das Ölplasma zersetzt wird und die frei werdenden Öltröpfchen und Ölmassen einen Einblick in das Präparat erschweren. Überdies wird im Wasser die Grundmasse der Körner gelöst, so daß die Körner zerfallen. Für den Anfänger ist auch die Gefahr nicht ausgeschlossen, kleinere, Schleimbläschen enthaltende Öltröpfchen mit Aleuronkörnern zu verwechseln. Zur Feststellung der Gestalt und Größe der Aleuronkörner, der Lage der einzelnen Körner in der Zelle und zueinander und ihrer Anzahl trägt man seit Hartig die Schnitte (die Samen dürfen zuvor nicht längere Zeit gewässert haben) direkt in Öl oder in Glyzerin ein. Ferner kommen als Einbettungsmittel Terpentin⁴⁾ und Anilin⁵⁾ in Betracht, sowie absoluter Alkohol. Letzterer bietet den Übelstand,

¹⁾ H. C. Schellenberg, Die Reservezellulose der Plantagineen, Ber. deutsch. bot. Ges., 1904, XXII, S. 9.

²⁾ Gris, Recherch. sur la germinat., Ann. d. scienc. nat., 1864, 5. sér. II, S. 98.

³⁾ Fr. Lüdtké, Beitr. z. Kenntn. d. Aleuronkörner, Jahrb. wiss. Bot., 1889, XXI, 62. — E. Belzung, Développement des grains d'aleurone et structure protoplasmique en général chez quelques Papilionacées, Journ. de Bot., 1891, V, 85. — F. Werminski, Üb. d. Nat. d. Aleuronkörner, Ber. deutsch. bot. Ges., 1888, VI, 199.

⁴⁾ A. L. Winton, Anat. d. Hanfs., Ztschr. Nahr.- u. Genußm., 1904, VII, 385.

⁵⁾ O. Tunmann, Anw. v. Jodzuckerlös., Apoth. Ztg., 1912, XXVII, 261.

daß er schnell verdunstet und bald erneuert werden muß. Die Körner sind gut sichtbar, die Globoide erscheinen in den öligen Flüssigkeiten als kleine kuglige, hohl aussehende Gebilde, die Kristalloide sind nicht oder doch nur schwer sichtbar. Recht brauchbar ist eine konz. Rohrzuckerlösung. Die Präparate werden aufgehellt, selbst in stärkeren Schnitten sind die Körner sehr gut zu erkennen, ein störender Einfluß des Öles tritt nicht ein, das Deckglas haftet fest an, so daß die Präparate für einige Zeit als Dauerpräparate (S. 63) aufbewahrt werden können. Die Globoide erscheinen als Hohlkugeln, die aus den angeschnittenen Zellen herausgefallenen Körner lassen nach einiger Zeit auch die Kristalloide scharf hervortreten. Hinsichtlich der Erhaltungsdauer in Zuckerlösung lassen sich die Körner in 2 Gruppen gliedern. Bei der einen (*Amygdalus*, *Linum*) sind sie in unangeschnittenen Zellen ungefähr 2 Monate lang gut erhalten, nach längerer Zeit erfolgt allmähliche Zersetzung. Bei der anderen Gruppe (*Rizinus*) bleiben sie noch nach 6 Monaten völlig intakt.

Um die Körner noch schärfer hervortreten zu lassen, vereint man geeignete Einbettungsmittel mit Jod. Eingebürgert hat sich Jodglyzerin, Jodparaffin und Jodzuckerlösung (Jod 0.1—0.2 g, Jodkalium 0.3—0.5 g, konz. Zuckerlösung 10 g). Das Präparieren in letzterer ist selbst dem üblichen Beobachten nicht entfetteter Schnitte in Jod-Alkohol vorzuziehen. Bei dem Präparieren in Jod-Alkohol legt man die Präparate in Alkohol und fügt vorsichtig Jodjodkaliumlösung zu. Bei Zusatz von Jodjodkalium bläht sich die Gesamthaut auf, erscheint sackartig aufgedunsen, die sich gelb färbende Grundmasse löst, resp. zersetzt sich unter Quellung (infolge des Wassergehaltes der Reagens), die Kristalloide färben sich langsam gelb und treten gut hervor, während die Globoide ungefärbt bleiben. Am besten ist dieses Verfahren beim *Rizinussamen* angebracht. Je schwerer sich aber das im Plasma enthaltene Öl des betreffenden Samens in Alkohol löst, um so unklarer wird das Präparat, um so schwieriger die Beobachtung.

Sehen wir in den Öl- und Siruppräparaten die Gestalt der Körner und der Globoide, so benutzen wir zur besseren Sichtbarmachung der Kristalloide 1% Osmiumsäure. Die Ölmassen werden meist langsam braun, oft nach längerer Zeit schwarz, die Aleuronkörner bleiben, da sie kein Öl führen, zunächst farblos. Sehr scharf treten hierbei die Kristalloide hervor. Zerdrückt man ein zartes Präparat durch leichten Druck auf das Deckglas, so gelangen zahlreiche Aleuronkörner in den Untersuchungstropfen und man sieht unschwer, daß mehr oder weniger eine Trennung in der Weise eintritt, daß sich die leichteren Fetttropfen und Ölmassen in den oberen Schichten ansammeln, während die

spezifisch schweren Aleuronkörner in die tieferen Schichten des Untersuchungstropfen sinken. Bei oberer Einstellung der Mikrometerschraube bemerkt man vorzugsweise Öltropfen, bei tieferer Einstellung überwiegend die Aleuronkörner. Durch leichten Druck auf das Deckglas kommen die Aleuronkörner ins Rollen und können nun gut von allen Seiten beobachtet werden. Doch reagieren nicht alle Fette mit Osmiumsäure (S. 161), anderseits werden nach einiger Zeit auch die Aleuronkörner braun (Gerbstoffgehalt). Schneller wie Osmiumsäure wirkt Chromosmiumessigsäure. Auch andere Zellkern-, Fixierungs- und Färbungsmittel hat man als Beobachtungsmedien gebraucht; bewährt soll sich alkoholische Boraxcarminlösung haben (Rotfärbung).

Zu einer eingehenden mikrochemischen Untersuchung, vorzüglich zu vergleichenden Studien über die nähere Natur der Einzelbestandteile der Aleuronkörner sind entfettete Schnitte unbedingt erforderlich. Das Entfetten richtet sich nach der chemischen Natur des Öles. Zuweilen genügt bereits eine kurze Mazeration (20–30 Minuten) in möglichst absolutem Alkohol (Rizinus), meist eine 1–2 tägige Mazeration der Präparate in einem Fläschchen mit absolutem Alkohol unter Umschütteln. Sollte das Öl sich schwer in Alkohol lösen, dann folgt der Alkoholmazeration eine mehrstündige Nachbehandlung mit Alkohol-Äther. Dadurch wird die Grundsubstanz etwas gehärtet und erweist sich schwerer löslich in Reagentien. Stärkere Mittel (Sublimatalkohol) sind nicht zu benutzen, da sie zu stark in den Chemismus der Körner eingreifen. Zur Konservierung benutzte Gram¹⁾ Formalin, wodurch die Kristalloide resistent gegen Kalilauge werden.

Die Gesamthaut, die Pfeffer zum Cytoplasma zählt, besitzt Eiweißcharakter. Sie schmiegt sich der Skulptur des Kornes dicht an, erscheint daher zuweilen grubig punktiert, worauf schon Hartig und Raffinesque²⁾ hinwiesen; bei Wasserezutritt dehnt sie sich aus. In Alkohol-, Öl-, Glyzerin-, Anilinpräparaten ist sie nicht sichtbar. Um die Haut sichtbar zu machen, muß man an entfetteten Schnitten in geeigneter Weise die Grundmasse zuerst in Lösung bringen (Einlegen der Schnitte in Wasser). Fast stets ist die Gesamthaut unlöslich in Wasser (bei Amygdalus ist sie wasserlöslich, Kritzler). Gegen stark verd. Alkalien zeigt sie ein verschiedenes Verhalten.

Die Grundmasse ist farblos, bisweilen schwach gelblich, amorph, trübe, homogen oder schwach körnig und enthält neben Globulinen

¹⁾ B. Gram, Über die Proteinkörner im Samen der Ölgewächse, Landw. Versuchsst., 1902, LVII, S. 257.

²⁾ M. G. Raffinesque, De l'enveloppe des grains d'Aleurone, Bull. Soc. Linnéenne de Paris, 1874.

nach Kritzler¹⁾ kleine Mengen von Albumosen. Hiermit stimmt überein, daß sie sich mit Vanillinsalzsäure rotviolett färbt. Diese Reaktion läßt sich bereits an nicht entfetteten Schnitten gut vornehmen, wenn man die Präparate direkt in die Lösung einträgt. Im allgemeinen ist die Grundsubstanz leicht löslich in Wasser. Bei *Elaeis* und *Lupinus* wird sie von Wasser nach Vines²⁾ nicht gelöst. Verdünnte Alkalien lösen.

Die Globoide haben ihren Eiweißcharakter am meisten verloren und bestehen aus dem Kalzium- und Magnesiumsalz einer gepaarten Phosphorsäure mit organischem Paarling. Denn werden die Globoide im Schnitte mit konz. Kalilauge behandelt, so bleibt (Pfeffer) ein Rest zurück, der sich mit „Jod oder Anilin“ färbt, „also die Anwesenheit eines stickstoffhaltigen, vermutlich proteinhaltigen Stoffes zu erkennen“ gibt. Sie kommen von den Einschlüssen am häufigsten vor, sind zwar nicht in allen Körnern anzutreffen, wohl aber in den meisten Samen (nach Pfeffer in allen Samen). Die Globoide sind kugelig, eiförmig, biskuitförmig, seltener unregelmäßig gelappt oder traubenförmig und isotrop. In fetten Ölen, Anilin, Kanadabalsam, konz. Rohrzuckerlösung erscheinen sie als Hohlkugeln, da sie das Licht schwächer als jene Flüssigkeiten brechen. Die Betrachtung eines Wasserpräparates zeigt aber schon, daß die Globoide körperliche Bildungen sind. Über den Volutinnachweis S. 428. An Beziehungen des Volutins zu den Globoiden dachte Guillermond³⁾.

Die Kristalloide sind eiweißartiger Natur, heben sich in Öl-, Alkohol-, Glycerin-, Anilinpräparaten nicht von der Grundmasse ab, da Grundmasse und Kristalloide das Licht annähernd gleich stark brechen. Schon Radlkofer (S. 477, 1) wies auf die Ähnlichkeit der Kristalloide (*Rizinus*, *Bertholletia*, *Sparganium*) mit dem „Haematokristallin und den Dotterplättchen“ hin. Ihre physikalischen Eigenschaften wurden sehr ausführlich von Naegeli⁴⁾ studiert, der die Bezeichnung Kristalloid einführte, die Quellungsfähigkeit betonte und zeigte, daß sie mit einer Membran umgeben sind (übrigens sind die Globoide ebenfalls mit einem

¹⁾ H. Kritzler, Mikr. Unters. ü. d. Aleuronkörn., Diss. Bern, 1900, S. 74.

²⁾ S. H. Vines, On the chemical composition of aleuron grains, Proc. Roy. Soc. London, 1879, XXVIII, S. 218.

³⁾ Guillermond, Rech. cytolog. s. l. germination d. graines d. quelq. graminées et contribut. à l'étude des graines d'aleurone, Arch. d'anat. micr., 1908, X; Chifflet et Kimpflin (A propos des globoides des graines d'aleurone, Ass. fr. p. l'avanc. d. sc., Congr. d. Reims, 1907) verneinen derartige Beziehungen.

⁴⁾ C. Naegeli, Über die aus Proteinsubstanzen bestehenden Kristalloide in der Paranaß, Sitzb. Münch. Akad., 1862, II, 120, Bot. Mitt., 1862, I, 217.

zarten Häutchen umgeben). Schimper¹⁾ brachte uns aber den Beweis, daß ein solch tiefgreifender Unterschied zwischen Kristall und Kristalloid, wie ihn Naegeli annahm, nicht besteht. In kristallographischer Hinsicht sind bei den Kristalloiden nur „die Winkel etwas schwankend; die optischen Eigenschaften stimmen mit denjenigen echter Kristalle überein“ (l. c. S. 65). Die Kristalle gehören dem regulären und hexagonalen System an. Regulär und tetraedrisch-hemiedrisch sind sie bei Rizinus, Euphorbia, Linum, Viola, Passiflora, Ruta, Menispermum canadense, hexagonal-rhomboedrisch-hemiedrisch bei Bertholletia, Myristica, Elaeis, Cocos, Taxus, Pinus, Sparganium, Solanaceen, Papaveraceen, Campanulaceen u. a. Die Kleinheit der Kristalloide und die Unbeständigkeit in der Ausbildung erschwert die genaue Kristallbestimmung sehr. Jedenfalls sind sie isotrop oder schwach doppelbrechend. Die beste Doppelbrechung zeigen die Kristalloide des hexagonalen Systems. Nach vorausgegangener Fixierung können sie gefärbt werden (siehe weiter unten). Nach mikrochemischen Untersuchungen bestehen sie aus mindestens zwei Globulinen von verschiedener Löslichkeit in 1–10% Normalsalzlösungen.

Die Löslichkeitsverhältnisse weisen Abweichungen auf. Nach Kritzler soll die Keimfähigkeit der Samen von der Löslichkeit der Kristalloide und letztere wiederum von dem Alter der Samen abhängig sein. Auf diese Weise soll sich die Keimfähigkeit der Samen ermitteln lassen. Nach Tunmann (Lit. S. 415, 3) vermag wohl hohes Alter der Samen die Löslichkeit der Kristalloide (und der Grundmasse) zu vermindern (Rizinus), doch lassen sich keine Schlüsse auf die Keimfähigkeit ziehen; die Keimung findet nur langsamer statt. Lakon²⁾ fand bei Fraxinus Beziehungen zwischen Keimfähigkeit und dem in den Aleuronkörnern enthaltenen Mucin.

Die Kristalle gehören dem regulären oder dem hexagonalen System an und bestehen aus Kalziumoxalat. Oft kommen Drusen vor, die einen proteinhaltigen Kern führen, dann Tafeln, seltener Hendyoeder. Ihr Nachweis ist leicht zu führen (S. 115). Die Oxalatkristalle sind teils in der Grundmasse eingebettet, teils wie bei vielen Umbelliferen in den Globoiden. Nach Wittlin³⁾ sind die Kristalle von keiner besonderen Haut umgeben. Löst man bei Myristica surinamensis (entfettete Schnitte) die Grundsubstanz mit Wasser, die Kristalloide mit verd. Kali, die

¹⁾ A. F. W. Schimper, Unters. üb. d. Proteinkristall. d. Pflanz., Diss. Straßburg, 1878 u.: Üb. d. Kristallis. d. eiweißart. Substanz., Ztschr. f. Krist. u. Min., 1881, V, 131.

²⁾ G. Lakon, Anat. u. Keimungsphys. d. Eschensamen, Ztschr. Forst- u. Landw., 1911, IX, 285.

³⁾ J. Wittlin, Üb. d. Bild. d. Oxalattaschen mit bes. Berücksicht. off. Pfl., Berner Diss., 1896, S. 24, Bot. Centralbl., 1896, LXVII.

zurückbleibenden Globoide mit stark verd. Essigsäure, dann bleiben die Oxalattafeln zurück, die sich in sehr verd. Salzsäure restlos auflösen. Vorher hatte aber Lüdtké (l. c. S. 20) eine Kristallmembran angegeben, die nach Herauslösen der Grundsubstanz mit verd. Kalilauge bei Einwirkung einer gesättigten Lösung von Natriumphosphat hervortreten sollte. Der Nachweis gelingt an entfetteten und mit Pikrinsäure fixierten Schnitten, die direkt in 0.5% Salzsäure eingelegt werden. Auf diese Weise wird eine Strömung vermieden. Zur Beobachtung ist polarisiertes Licht und möglichst starke Vergrößerung unbedingt erforderlich (Tunmann).

Das reaktionelle Verhalten der einzelnen Bestandteile der Aleuronkörner und die benutzten Reagentien sind in umstehender Tabelle zusammengestellt. Es empfiehlt sich den entfetteten Schnitt zunächst auf dem Objektträger eintrocknen zu lassen und das Reagens erst dem trockenen Präparate zuzufügen. Es kommt hier auf die Konzentration der Reagentien an und der Gehalt derselben wird bei Einwirkung auf in Wasser liegende Präparate verändert. Die Wirkung des Reagens verfolge man unter dem Mikroskop. Das Verdunsten des Reagens wird durch einen Wachsrand verhindert. Zur Kontrolle werden die Präparate gleichzeitig in größeren Quantitäten des gleichen Reagens mazeriert. Doch ist nicht zu vergessen, daß die Körner und ihre einzelnen Einschlüsse durch den zur Entfettung benutzten Alkohol oder Äther ziemlich weitgehende Änderungen in ihrem reaktionellen Verhalten erleiden (Vines¹), 1880). Es ist somit vorteilhaft, die Schnitte nicht zu lange in dem Entfettungsmedium zu belassen und die Entfettung dadurch zu beschleunigen, daß man die Schnitte in einem Fläschchen mit Alkohol oder Äther schüttelt. Es sei nochmals betont, daß sowohl Gesamthaut und Grundmasse als auch Globoide und Kristalloide bei den Körnern verschiedener Pflanzen eine verschiedene Zusammensetzung besitzen. Überdies hat Rendle²) gezeigt, daß die jugendlichen Aleuronkörner (*Lupinus digitatus*) sich anders zu Kochsalz, Salzsäure (1—10%) und phosphorsaurem Kali (10%) verhalten als die Körner der reifen Samen. Demnach werden die Reaktionen auch durch das Entwicklungsstadium der Samen beeinflusst. Daß die Dauer der Aufbewahrung (das Alter) von Einfluß ist, war S. 490 erwähnt.

Die mikrochemischen Reaktionen verlangen somit eine kritische Beurteilung nach jeder Hinsicht. Sie müssen nicht nur die Entfettungs-

¹) S. H. Vines, On the chemical composition of the aleuron grains, Proc. of the Royal Soc. of London, 1880, XXX, S. 387.

²) A. B. Rendle, On the development of the aleuronegrains in the Lupin, Ann. of Bot., 1888, II, S. 161.

Tabelle der mikrochemischen Reaktionen auf Aleuronkörner.

Gesamthaut	Grundmasse	Löslich in	Globoide	Kristalloide	Kristalle
Kalkwasser (s. schwer) verd. Kalilauge ¹⁾ (schwer) verd. (1%) Säuren ¹⁾ " 1% Chlorammon ²⁾ " 1% Magnesiumsulfat konz. "	Wasser, meist leicht oder doch unter Quellung sich zersetzend ³⁾ verd. Ammoniak " Kalilauge (1%) " Essigs. (1%) " Salzs. (bis 3%) " u. konz. Kochsalz " " Magnesiumsulf. konz. Natriumphosphat ⁴⁾ " Dinatriumphosph. Kalkwasser	organ. Säuren (Essigsäure, Weinsäure u. a.) verd. u. konz. Salzsäure konz. u. verd. Kochsalz " " Chlorammon " Ammonsulfat " Kaliummonophos- phat konz. Natriumphosphat ⁴⁾ " Dinatriumphos- phat (nach längerer Zeit) 20% Borax-Weinstein konz., mit Essigsäure anges. Kochsalz	verd. Kalilauge Kalkwasser (langsam) konz. Natriumphosphat " u. verd. Chlorammon " Kochsalz " Essigs. (sehr schwer) 20% Magnesiumsulf. (meist.) 3% Salzsäure 1% Essigsäure	Salzs. ohne Gas- entwicklung konz. Kalilauge (sehr schwer)	
Wasser (nur quellend) konz. Dinatriumphos- phat konz. Ammoniumphos- phat	20% Borax-Weinstein (zum größten Teil) konz. Ammonsulfat " , mit Essigsäure anges. Kochsalz	Unlöslich in kalt. u. kochend. Wasser Kalkwasser verd. Kalilauge (meist.)	kalt. Wasser quillt, kochend. Wasser koaguliert konz. Dinatriumphosph. " Kaliummonophosph. " Ammonsulfat konz., u. Essigs. anges. Kochs.	Wasser verd. u. konz. Essigsäure verd. Kalilauge	
Jodjodkal. schwach gelbl.	Jodjodkalium gelblich Vanillinsalzsäure rotviolett	Jodjodkalium farblos Isol. Globoide a. Magnes. u. Phosph. gepr. (S. 81, 121)	Jodjodkalium gelbbraun Vanillinsalzsäure violett	konz. Schwefels. Gipsnadeln	

¹⁾ Nach Pfeffer unlöslich. — ²⁾ Es sind stets wässrige Lösungen gemeint. — ³⁾ Durch mehrtägige Mazeration mit Alkohol oder Äther (zur Entfettung), ebenso durch alkoholische Sublimatlösung (2%) und durch Pikrinsäure wird die Grundmasse gehärtet und körnig gefällt und ist dann schwerer löslich, besonders in Wasser, Magnesiumsulfat und Chlornatrium. — ⁴⁾ Diese Angabe von Lüdtke konnte Gram nicht bestätigen.

methoden, sondern auch das Entwicklungsstadium und das Alter der Samen berücksichtigen. Jedenfalls sind verschiedene Literaturdifferenzen auf nicht genügende Berücksichtigung dieser Verhältnisse zurückzuführen. Zum Teil liegen aber Beobachtungsfehler vor. Bei den kleinen Gebilden ist die Entscheidung keineswegs leicht, ob sich die Grundmasse oder das Globoid gelöst hat oder nicht. Hier wird man entweder zu gefärbten Lösungen greifen oder größeres Gewicht auf die Feststellung des, durch die Lösung veränderten Brechungsexponenten legen müssen. Auf absolute Reinheit der Reagentien ist großes Gewicht zu legen.

Färbungen dienen bei den Aleuronkörnern nur zu Demonstrationspräparaten. Zuerst wurde Tannin benutzt (Overton, Lit. S. 484, 2). Dünne Schnitte werden mit absolutem Alkohol entfettet, auf 10 Minuten in eine verd. Tanninlösung gebracht, mit Wasser gut ausgewaschen und mit 1% Osmiumsäure behandelt; sie lassen sich nach dem Auswaschen in Glycerin einschließen (Eiweißkristalle gelbbraun). Poulsen¹⁾ entfettet mit absolutem Alkohol, legt in eine 25% Tanninlösung (1 Stunde) und wäscht mit Wasser aus. Nun gelangen die Schnitte entweder in wässriges Kaliumdichromat bis zur Braunfärbung und werden in Glycerin eingebettet oder sie werden auf $\frac{1}{2}$ bis 1 Stunde in 10–20% Eisensulfat bis zur tiefblauen Färbung gebracht, mit Alkohol entwässert, dann folgt Nelkenöl, Kanadabalsam.

Nach Krasser²⁾ gelangen die Schnitte auf einige Stunden in eine alkoholische Pikrinsäure, die mit Eosin im Überschuß versetzt ist, werden mit Alkohol differenziert, mit Nelkenöl aufgehellt, in Kanadabalsam eingeschlossen (Grundsubstanz dunkelrot, Kristalloide gelb, Globoide farblos bis rötlich). Statt Eosin kann Nigrosin benutzt werden (Grundsubstanz blau, Kristalloide gelbgrün, Globoide farblos). — Gute Dauerpräparate gibt Säure-Fuchsin und die Methode von Strasburger-Chmielewsky (Prakt., 1897, S. 99), welche die Reaktion von Axenfeld³⁾ benutzt (mit der noch Eiweiß 1:2000000 nachgewiesen werden kann). Die entfetteten Schnitte gelangen auf mehrere Stunden vor Licht geschützt in eine alkohol. Goldchloridl. (1 Tropfen 10% Goldchloridlösung auf 20 Tropfen absol. Alkohol) und verweilen dann ebenso lange bei Belichtung in Ameisensäure (5–10 Teile Ameisen-

¹⁾ V. A. Poulsen, Note sur la préparation des grains d'aleuron, Rev. gén. d. Bot., 1890, S. 547.

²⁾ Fr. Krasser, Über neue Methoden zur dauerhaften Präparation des Aleuron und seiner Einschlüsse, Sitzb. zool.-bot. Ges. Wien, 1891, XLI, S. 42.

³⁾ Axenfeld, S. une nouv. réact. de l'albumine, Journ. Pharm. d'Anvers, 1886, S. 317.

säure in 100 Teilen 50% Alkohol). Die Eiweißkristalle sind rosenrot bis violett. Die Schnitte kommen in verd., dann allmählich in konz. Glycerin und werden in Glyzeringelatine eingeschlossen. — Andrews (Lit. 18,¹) fixiert Samenstücke mit Chromosmiumessigsäure; ausgewaschen wird mit Wasser, entwässert mit Alkohol; dann folgt Chloroform, Paraffin, Herstellung von Mikrotomschnitten, Färbung dieser mit Safranin-Gentianaviolett-Orange und Einschließen in Balsam.

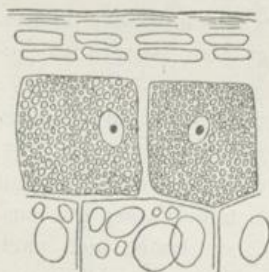


Fig. 113. *Triticum* (Querschnitt der Randschicht des Samens), einschlußfreie Aleuronkörner (a) in der Kleberschicht (Tunmann).

Die in den Kleberschichten enthaltenen kleinen ($1-3\ \mu$) Proteinkörner von *Triticum* sollen nach O'Brien¹⁾ aus einer, aus koagulierten Proteinstoffen bestehenden Membran und aus einem homogenen Kern bestehen, der die Natur der Globoide und der Grundmasse vereint (Fig. 113). Wasser, $1-10\%$ Chlornatrium, 50% Alkohol, Gerbsäure, Osmiumsäure, Pikrinsäure lösen den Kern, aber nicht die Membran. Ammoniumchlorid, Dinatriumphosphat, Natrium- und Ammoniumkarbonat, Kalkwasser, Essigsäure,

Mineralsäuren lösen Kern und Membran. 1% Kalilauge löst den Kern, die Membran bleibt selbst nach 5 tägiger Einwirkung ungelöst. Durch längere Behandlung mit absolutem Alkohol (2 Monate) wird der Kern unlöslich in Wasser und Chlornatrium. Bei *Secale* führen die Körner $1-4$ Globoide, die in Essigsäure löslich sind (Haberlandt, Lit. S. 425,²).

Stärke.

Die Stärke ist das erste sichtbare Produkt der Kohlensäureassimilation, sie zählt zu den wichtigsten Bau- und Reservestoffen. In den Assimilationsorganen finden wir in den Chlorophyllkörnern (S. 462) kleine Stärkeeinschlüsse, Assimilationsstärke. Die Assimilationsstärke wandert als Glykose nach den Bildungsstätten und den Reservestoffbehältern. In der Nähe der Baustätten und auf dem Wege dorthin scheidet sie sich bei eintretendem Nichtverbrauch in Gestalt kleiner Körnchen, die oft korrodiert sind, wieder aus (transitorische Stärke). In größerer Menge wird sie in den Reservestoffbehältern gespeichert, Reservestärke.

Die Stärkekörner entstehen nur in und an Chromatophoren und zwar so lange das Stroma funktionsfähig ist (Boehm, A. Meyer, H. Winkler u. a.). Sie bleiben meist von der (zuweilen allerdings sehr feinen) Masse der Chromatophoren eingeschlossen. Die Stärkekörner zeigen einen Kern (Bildungszentrum),

¹⁾ M. O'Brien, The proteids of wheat, Ann. of. Bot., 1895, IX, S. 172.

den die Stärkesubstanz in Schichten umgibt. Die Schichten sind Zuwachszonen, die sich durch verschiedene Dichte auszeichnen; substanzreiche und wasserarme Schichten wechseln mit substanzärmeren und wasserreichen ab. Liegt der Kern im Zentrum des Chromatophors, dann wachsen die Schichten gleichmäßig (zentrisch geschichtetes Korn), liegt der Kern mehr an der Seite des Chromatophors, so wird das Wachstum einseitig gefördert (exzentrisch geschichtetes Korn). Der Kern ist stets wasserreich, kann bei weiterem Wachstum resorbiert werden. Beim Eintrocknen zerreißt zuweilen die Stärkesubstanz und an Stelle des Kernes entsteht ein Hohlraum oder ein Spalt.

Wir unterscheiden einfache Körner (in einem Chromatophor entsteht nur ein Korn), zusammengesetzte Körner (an verschiedenen Stellen eines Chromatophors entstehen Körner, die sich bei weiterem Wachstum gegenseitig berühren); halbzusammengesetzte Körner sind zusammengesetzte Körner, die von gemeinsamen, die Teilkörner umgebenden Stärkeschichten umschlossen werden. Form und Größe der fast stets farblosen Körner sind diagnostisch wichtig und lassen sich mit Sicherheit oft nur an isoliert liegenden Körnern ermitteln. Die Größe (1–150 μ , selten größer) wird mit dem Mikrometer bestimmt (S. 55). Zur Bestimmung der Gestalt werden die Körner isoliert, dann klopft man mit der Nadel auf das Deckglas eines Wasserpräparates, wodurch die Körner ins Rollen kommen, oder man läßt zu einem Wasserpräparat etwas Alkohol zutreten, wodurch Strömungen erzeugt werden. Überwiegend sind die Körner rundlich, oft durch gegenseitigen Druck abgeplattet, seltener flach scheibenförmig oder knochen- oder hantelförmig (Euphorbiaceen, Nerium Oleander und Allamanda Schottii). Das absolute Gewicht der einzelnen Stärkekörner ist bei den verschiedenen Stärkearten naturgemäß recht verschieden. Ein typisches Stärkekorn wiegt bei *Oryza sativa* 0.(X)¹18, *Zea* 0.(IX)82, *Maranta arundinacea* 0.(VIII)73, *Triticum vulgare* 0.(X)69, *Solanum tuberosum* 0.(VIII)75, *Canna edulis* 0.(VII)36 g. Diese Werte ermittelten Hartwich und Wichmann (Lit. S. 55) mit der Zählkammer (S. 55 ob.); die spezifischen Gewichte schwankten von 1.4696 (*Triticum sativum*) bis 1.5255 (*Canna edulis*).

Die Stärkekörner sind Sphärokristalle, die durch Apposition wachsen (F. Mirbel 1815, J. Fritzsche 1834, A. Meyer 1895, u. a.) und sich aus zahlreichen, sehr dünnen langgestreckten, nadelförmigen, radial angeordneten Kristallen, Trichiten, aufbauen. Sie kontrahieren sich bei Wasserentzug, quellen bei Wasserzufuhr, lagern Glyzerin ein und nehmen in ihren feinen Poren Farbstofflösungen auf, verhalten sich also wie die Sphärokristalle des Inulins, von denen sie sich aber durch ihre auf dem Amylosegehalt beruhende Lösungsquellung unterscheiden. Für den kristallinen Aufbau der Stärkekörner spricht übrigens ihre Doppelbrechung im polarisierten Lichte. Bei gekreuzten Nicols zeigt jedes Stärkekorn, auch jedes Teilkorn eines zusammengesetzten Stärkekornes, ein schwarzes Kreuz. Da die Arme des Kreuzes

¹) Die eingeklammerten römischen Zahlen zeigen die Anzahl der Nullen hinter dem Komma an.

sich im Kern schneiden, so dient das polarisierte Licht in Zweifelfällen zur Ermittlung des Kernes.

Nach H. Fischer (Lit. S. 196₂) sind die aufbauenden Substanzen kolloidaler Natur. In den wasserreicheren Schichten werden radial gestellte wasserführende Spalten angenommen, die beim Austrocknen verschwinden. Kraemer¹⁾ nimmt kolloidale und kristalloide Substanzen in verschiedenen voneinander getrennt gelagerten Lamellen an. Die äußerste Schicht wird aus einer von der übrigen Stärkesubstanz abweichenden Membran (Hüllhaut) gebildet. C. Naegeli (Stärkekörner, Zürich 1858) nahm an, daß die kleinsten Teilchen der Stärkekörner mit einer Wasserhülle umgebene Atomkomplexe (Micellen) wären. Diese sollten auseinanderweichen und zwischen ihnen neue Micellen entstehen. Das Wachstum sollte auf Intussuszeption beruhen. Bei ultramikroskopischer Betrachtung bestehen die Stärkekörner (Weizen, Kartoffel) aus konzentrischen oder exzentrischen Reihen von Micellen, zwischen denen sich optisch leere Reihen befinden. Der Kern scheint optisch leer zu sein. Die Micellarreihen sind am besten an der Peripherie der Körner zu sehen. Diese Beobachtungen von Gaidukov (Lit. S. 439) bestätigen zum Teil Naegelis theoretische Folgerungen. Bütschli²⁾ schreibt den Stärkekörnern einen wabigen Aufbau zu.

Die Stärke besteht aus Stärkesubstanz, Wasser und geringen mineralischen Beimengungen. Sie ist ein organisiertes Kohlehydrat und, da sie bei der Hydrolyse (Enzymwirkung) in einfache Zucker zerfällt (Maltose und Dextrose), ein Polysaccharid. Nach W. Naegeli³⁾ besteht die Stärkesubstanz überwiegend aus Granulose, welche mit Jod reagiert, und aus Stärkezellulose, die als zartes Skelett bei der Einwirkung von Speichel oder verd. Säuren zurückbleibt. A. Meyer⁴⁾ bezeichnet die eigentliche Stärkesubstanz als Amylose, der geringe Mengen Amylodextrin beigemengt sind. Die Amylose besteht hauptsächlich aus β -Amylose (Granulose Naegelis), die mit Jod reagiert und bei 100° mit Wasser flüssig wird und der geringe Quantitäten α -Amylose beigemengt sind, die nicht mit Jod blau wird und sich auch nicht mit Wasser bei 100° verflüssigen läßt. Nach Maquenne⁵⁾ besteht die Stärke aus 80—85% Amylose und aus 15—20% verschiedenen kondensierten Amylopektinen. Beim Behandeln der Stärke mit kochendem Wasser löst sich die Amylose, während die Amylopektine nur aufquellen; sie sind es, die die Stärke schleimig und teilweise unlöslich in Alkali machen. Die Hülle der Körner der Kartoffelstärke besteht nach Gruzewska (Compt. rend., 1911, CLII, 785) aus Mineralsubstanz und Amylopektin, der Kern enthält Amylose. Die Stärke hat ein sehr hohes Molekulargewicht, Formel $(C_6H_{10}O_5)_n$ oder $(C_6H_{12}O_6)_n - (n-1)H_2O$.

¹⁾ H. Kraemer, Amer. Journ. Pharm., 1907, S. 217.

²⁾ O. Bütschli, Über d. feineren Bau der Stärkekörner, Verh. nat. med. Ver. Heidelberg, 1893, N. F. V., Heft 1.

³⁾ W. Naegeli, Beitr. z. näheren Kenntn. d. Stärkegruppe, 1874.

⁴⁾ A. Meyer, Untersuchungen über die Stärkekörner. Wesen und Lebensgeschichte der Stärkekörner der höheren Pflanzen, Jena 1895.

⁵⁾ L. Maquenne, Über die Stärke und ihre diastatische Verzuckerung, Bull. Soc. Chim. d. Paris 1906, XXXV, S. 1.

Der Wassergehalt der Stärkearten schwankt. Einige Stärkesorten (des Handels, lufttrocken) hatten nach Hartwich und Wichmann nachstehenden Wassergehalt: *Triticum sat.* 11.68, *Oryza sat.* 11.81, *Zea* 12.54, *Maranta arund.* 13.22, *Solanum* 14.71, *Canna edulis* 15.53%. Der Wassergehalt der Stärke in der lebenden Zelle ist ein anderer und steht im Zusammenhang mit dem Wassergehalt der Zelle. Bei längerem Liegen in Wasser quellen die Stärkekörner auf, womit bei der Angabe von Größenverhältnissen zu rechnen ist. Die durch Quellung bewirkte Größenzunahme ist nicht bei allen Körnern einer Pflanze gleich und hängt von dem Bau der einzelnen Körner ab. Bei *Solanum* fand ich Unterschiedswerte bis zu 4.3%¹⁾.

Im Gewebe sind die Stärkekörner infolge ihrer Gestalt und ihrer optischen Eigenschaften meist ohne weiteres zu erkennen. Selbst der Nachweis kleinster Stärkekörnchen, der einmal (besonders in Drogen und Herbarpflanzen) Schwierigkeiten bereiten könnte, ist mit Jodreaktionen leicht zu führen. Die Untersuchungen werden Größe und Gestalt der Körner ermitteln (s. ob.) und, wenn die Körner nicht zu klein sind, auf ihren Bau (Schichtung und radiale Struktur) eingehen.

Der Beweis, daß die Schichtung auf einem verschiedenen Wassergehalt der einzelnen Schichten beruht, läßt sich bei geschichteten Stärkekörnern in einfacher Weise durch Vergleich feuchter und völlig ausgetrockneter Körner erbringen, die in Kanadabalsam zur Beobachtung gelangen (Zimmermann, Mikrot. S. 220). Durch Ausfrieren verschwindet die Schichtung ebenfalls. Daher zeigt die Stärke der Chuña, einer aus gefrorenen Kartoffeln in den Höhen der Anden Südamerikas bereiteten Konserve, keine Schichtung; sie tritt erst bei längerem Liegen der Körner in Wasser wieder auf (Lit. S. 480, 1). Je schärfer die Schichtung hervortritt, um so höher ist der Wassergehalt der einzelnen Körner, dies geht aus den oben angegebenen Werten hervor. Oft ist die Schichtung schwer, zuweilen gar nicht sichtbar. Sie tritt im polarisierten Lichte oder nach längerem Liegen der Körner in Wasser schärfer hervor. Die Schichten lassen sich nach längerer Einwirkung von stark verdünnter Chromsäure (Weiss und Wiesner) besser erkennen oder wenn man Jodjodkalium in starker Verdünnung und ganz langsam einwirken läßt, wobei sich die wasserarmen Schichten färben (Binz)²⁾.

Man kann ferner das Versilberungsverfahren von Correns³⁾ mit

¹⁾ Genau bezeichnete Körner wurden lufttrocken und nach 5 tägigem Liegen in Wasser gemessen.

²⁾ Binz, Beitr. Morph. u. Entwicklung. d. Stärke, Flora, 1892, Zürcher Diss.

³⁾ C. E. Correns, Zur Kenntnis der inneren Struktur der vegetabilischen Zellmembranen, Jahrb. f. wiss. Bot., 1891, XXIII, S. 331.

Vorteil benutzen. Aus den Objekten (am besten lufttrockenen) werden die Stärkekörner durch Abschaben isoliert, in flachen Schälchen durch Auswaschen mit Wasser, das mehrmals abgegossen und erneuert wird, gereinigt und bei 50° ausgetrocknet. Die getrockneten Körner werden in einer Porzellanschale mit 2—5% wässer. Silbernitratlösung durchfeuchtet, oberflächlich abgetrocknet, darauf ohne Auswaschung in 1% Chlornatriumlösung gebracht und stark belichtet. Nach vollendeter Reduktion des entstandenen Chlorsilbers wird die Flüssigkeit sorgfältig abgegossen, die am Boden befindliche Stärke mit einem Glasstabe auf den Objektträger gebracht und nach dem Eintrocknen in Kanadabalsam eingeschlossen. Die größeren Körner zeigen meist in den stärker quellungsfähigen Schichten ausgeschiedene Silberpartikelchen oder eine homogene Graufärbung.

Mit dem schärferen Hervortreten der Schichten wird vielfach auch die radiale Struktur der Körner, die radiale Anordnung der Trichite, besser sichtbar werden. Hierzu kann Erhitzen in Xylol-Alkohol (Lit. S. 197, 4), dann außer verd. Säuren auch Kalziumnitrat¹⁾ dienen. Kartoffelstärke zeigt besonders gut die radiale Struktur nach Behandeln mit verd. Säuren bei nachfolgendem Aufquellen in Wasser (A. Meyer, Stärkekörner, S. 122). Bei der Maisstärke wird die radiale Struktur sichtbar nach dem Kochen (1/2 Minute) mit 1 ccm Chloroform, dem einige Tropfen Chromsäure zugesetzt sind (Buscalioni²⁾). Durch Chloroform wird die Einwirkung der Chromsäure beschleunigt.

Zu Strukturstudien sind im allgemeinen alle Mittel geeignet, die einen teilweisen Zerfall der Körner, eine mehr oder weniger tiefgreifende Umsetzung der Stärkesubstanz bedingen, also auch Enzyme und trockenes Erhitzen (Rösten). Da die Mobilmachung der Stärke in der Pflanze durch Enzyme (Diastase) bewirkt wird, so findet man während der Entleerung der Reservestoffbehälter stets Körner, die ihren Bau in klarer Weise erkennen lassen. Seit langem benutzt man als Übungsobjekte keimende Getreidekörner. Innerhalb der Zelle ist die Betrachtung der einzelnen Körner von verschiedenen Seiten schwierig und keimender Samen oder treibende Knollen stehen nicht jederzeit zur Hand. Daher verfolgt man die Einwirkung von Speichel oder Diastase (eine filtrierte und mit etwas Chloroform versetzte Lösung von 1 Teil Malz in 3 Teilen Wasser) auf isolierte Stärkekörner.

¹⁾ H. Kraemer, The structure of the starch grain, Bot. Gaz., 1902, XXXIV, S. 341.

²⁾ L. Buscalioni, Sulla struttura d. granuli d'amido d. mais, Nuov. Giorn. bot. Ital., 1891, XXIII, S. 45.

Um die Diastasewirkung gut verfolgen zu können, müssen die Körner in einem dickflüssigen Medium (konz. Glyzerin)¹⁾ gerollt werden. Die Einwirkung zeigt sich nicht überall in gleicher Weise. Bei exzentrisch geschichteten Stärkekörnern (*Solanum*, *Lilium candidum*) erfolgt von außen nach innen und auf allen Seiten gleich stark ein Abschmelzen; bei Leguminosen und bei mit langen Spalten versehenen Körnern geht das Abschmelzen an der Außenseite so lange gleichmäßig von statten, bis der Spalt an einer Stelle geöffnet ist. Durch die Öffnung dringt das Enzym in den Spalt ein und wirkt nun ebenfalls von innen, die Risse werden erweitert, das Korn zerfällt in kleine Teilchen, die schließlich gelöst werden. Bei verschiedenen Gramineen (*Hordeum*, *Secale*, *Zea*) zeigt die Diastase an einzelnen Stellen eine vermehrte Tätigkeit, Löcher und Kanäle entstehen, die untereinander in Verbindung treten, bis der Zerfall des Stärkekornes erreicht worden ist. In Lösung begriffene Stärkekörner, welche

ihre Struktur, besonders die radiale Stellung der Trichite gut erkennen lassen, treffen wir oft in den Mahlprodukten der Kunstmühlen an. Ein schönes Belegpräparat liefert der Belfaster Klebstoff (Fig. 114). — Ähnliche Erfolge erzielen wir mit dem Rösten. Das Röstoprodukt der Kartoffelstärke, das Handelsdextrin, wird stets zur Verfügung stehen. Wir können uns aber aus jeder beliebigen Stärkeart das Röstoprodukt selbst herstellen. Auf einem Deckglassplittchen wird etwas Handelsstärke (oder Mehl) über der Flamme so lange vorsichtig erwärmt, bis die Masse eine tiefbraune Färbung (beim Halten des Deckgläschens gegen das Licht) angenommen hat. Das Deckglassplittchen mit der Masse wird auf den Objektträger gelegt, die zusammengebackene Masse mit etwas Wasser angerührt und ein Deckglas aufgelegt. Ein Teil der Körner wird verkohlt sein; andere Körner werden sich kaum verändert haben, außer diesen werden wir stets Körner finden, die mehr oder weniger stark dextriniert sind (Fig. 115). Denn sowohl bei längerer Einwirkung von verd. Säuren oder von Diastase als auch beim Rösten wird die Stärkesubstanz in Amylodextrin übergeführt. Der Auflösungsvorgang der Stärke in der lebenden Zelle macht ebenfalls



Fig. 114. Stärkekörner, in Auflösung begriffen, zum Teil ihre Struktur anzeigend: a) aus Weizenmehl (Schweizer Handelsprodukt), b) aus der Firmas-Paste (Klebstoff) von Caw, Stevenson u. Orr, Belfast (Tunmann).

¹⁾ G. Krabbe, Unters. üb. d. Diastaseferment unt. spez. Berücks. seiner Wirk. a. Stärkek. in. d. Pfl., Jahrb. f. wiss. Bot., 1890, XXI, S. 520.

die Stufen Amylodextrin, Dextrin, Isomaltose, Maltose durch. Je weiter die Dextrinierung bei den einzelnen Körnern oder bei den einzelnen Schichten der Körner vorgeschritten ist, desto reiner werden bei Zusatz von Jodreagentien rote Färbungen entstehen (s. unten u. Amylodextrinstärke). Die gerösteten Stärkekörner zeigen bei Betrachtung in Öl, Anilin oder Pyridin im Kern eine Luftblase oder einen größeren mit Luft erfüllten Raum von zackigem Umriß, die Masse des Kornes erscheint etwas durchsichtiger, im übrigen treten Abweichungen von normalen Körnern nicht hervor. Die Umwandlungserscheinungen, die im allgemeinen die gleichen sind wie bei der Diastasewirkung, bemerken wir erst in Wasserpräparaten (Fig. 115).

Anderseits schwindet die Schichtung durch wasserentziehende Mittel u. a. (konz. Glyzerin, Benzol, fette und ätherische Öle, Pyridin,

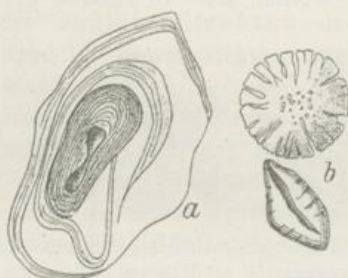


Fig. 115. Dextrinierte Stärkekörner, durch trockenes Erhitzen auf dem Deckglase erhalten, in Wasser liegend, a) Solanum, b) Triticum (Tunmann).

Anilin), sowie bei der Verkleisterung oder sehr starkem Aufquellen (Erwärmen mit Wasser, Alkalien, Chloralhydrat u. a.). Bei der Verkleisterung mit Wasser ist ein Erwärmen auf 50–80° erforderlich. Die Höhe der Temperatur ist für die einzelnen Stärkesorten verschieden (50–90°) und diagnostisch verwertet worden (Lippmann, Wittmack); in der Mikrochemie wird man hiervon absehen, da das genaue Einhalten bestimmter Wärmegrade etwas umständlich ist. Die Stärke von Oryza verkleistert vollkommen bei 61.2°, von

Solanum, Zea, Castanea bei 62.5°, Triticum bei 67.5°, von Maranta arund. bei 70°. Bei der Verkleisterung quillt die Stärkesubstanz um das 25fache und mehr bis zur mikroskopischen Unkenntlichkeit, sprengt die Hüllhäute der einzelnen Körner, löst sich aber nicht auf; es bildet sich eine hyaline, strukturlose Masse, in der die zusammengeballten Häute sichtbar sind. Den gleichen Erfolg haben Alkalien, bei denen eine Anwendung von Wärme nicht erforderlich ist. Bei stärkereichen Geweben benutzt man diese Verfahren zum Aufhellen (S. 33).

Die wichtigste Reaktion der Stärke ist die Blaufärbung mit Jod, die Jodstärkereaktion.

Die Jodreaktion wurde 1815, bald nach der Entdeckung des Jods, von Colin und Gaultier de Claubry (Schweigg. Journ., 1815, XIII, 453) aufgefunden und ist für Stärke ungemein charakteristisch, da wir keine weiteren geformten Zellinhalte kennen, die in gleicher Weise reagieren. Nur das in den Zellen gelöste Glykosid Saponarin (S. 391) wird mit Jod blau, ebenso Narcein (S. 297).

dann ein wasserlösliches Kohlehydrat, welches Bourquelot (Bull. soc. mycol., 1891, VII, 155) in *Boletus pachypus* Fr. auffand, von dem es aber noch ungewiß ist, ob es dem Inhalte oder der Membran entstammt. Einige Membranstoffe (Lichenin) werden durch Jod gebläut. Auch „das Gewebe der ganzen Krone“ von *Paidania melastomacearum* Racib. wird mit Jod blau (v. Höhnelt, Sitzb. Wien. Ak., 1909, CXVIII 1, 830). Die Jodstärke ist, wie bereits Fritzsche 1834 angab, keine chemische Verbindung, sondern wahrscheinlich eine „feste Lösung“ (A. Meyer, Küster, Ber. chem. Ges., 1895, XXVIII, 783 u. a.).

Um eine rein blaue Färbung zu erzielen, ist es nötig, die Jodreagentien (Jodwasser, -alkohol, -jodkalium) nicht in konz. Form anzuwenden. Man benutzt Jodjodkalium mit 1% Jod oder eine Jodlösung, die man frisch bereitet aus 3 Tropfen Jodtinktur (1:10) und 2 ccm Wasser. Die beste Blaufärbung geben kleine Jodsplitterchen. Hierzu dient eine Jodverreibung (1 Tl. Jod, 5 Tle. Bimsstein). Bei zu großem Jodzusatz geht die Blaufärbung schnell in eine braunschwarze Färbung über. Die dunkle Färbung läßt sich durch Auswaschen, schneller durch etwas verd. Salzsäure in Blau überführen. Bei Einwirkung von Joddämpfen auf trockene Stärke (ein Jodsplitter wird in das trockene unter Deckglas liegende Präparat gebracht) tritt braunschwarze Färbung ein, die bei Wasserzusatz schnell in Blau übergeht. Läßt man Joddämpfe auf kleine Stärkehäufchen (die Stärke befindet sich auf einer Glasplatte, Jodkristalle werden in einem Uhrglas danebengebracht) einwirken, dann zeigen die verschiedenen Stärkesorten nach 24 Stunden bei makroskopischer Betrachtung eine verschiedene Färbung, Maisstärke schwarzviolett, Getreidestärke taubengrau, Kartoffelstärke gelbgrau, Sago milchkaffeefarben (Dubase)¹⁾. Diese Farbtöne kommen durch zurückgehaltene Luft, Größe und Beschaffenheit der Körner zustande. Bringt man von den einzelnen Proben einige Körnchen in Wasser, dann tritt die typische Blaufärbung ein.

Da die Stärkesubstanz wechselnde Anteile an Amylodextrin enthält, welches mit Jodreagentien rötlich wird, so wechselt die Farbe der Jodstärke je nach ihrem Gehalte an Amylodextrin (blau, blauviolett, rötlich-blau). Diagnostisch wichtig ist die Eigenschaft der Jodstärke beim Erwärmen oder Erhitzen sofort farblos zu werden, um beim Erkalten die Färbung ohne erneuten Jodzusatz wieder anzunehmen. Die Jodstärkereaktion, die möglicherweise auf den Gehalt an Jodwasserstoff beruht, welcher in den Jodreagentien zugegen ist, wird durch einige Substanzen gehemmt; für den Stärkenachweis im Gewebe könnten in Betracht kommen: Gummiarabikum (Lit. S. 427, 1), Hydrochinon, Re-

¹⁾ Dubase, Chem. Ztg., 1904, XXVIII, S. 1149.

sorcin, Pyrogallol (Czapek)¹⁾, Tannin (Heintz)²⁾, in speziellen Fällen einige Farbstoffe (Hämatoxylin, Brasilin).

Die Fähigkeit, sich mit Jod blau zu färben, verlieren die Stärkekörner durch 1—10% Chromsäure oder Chromschwefelsäure. (Hierbei verlieren sie gleichzeitig die Fähigkeit sich mit kochendem Wasser zu verkleistern, C. O. Harz, *Amylum* in seinem Verhalten gegen Chromsäure, Bot. Centrbl., Beih., 1905, XIX, 45). Durch Kalilauge wird die Jodfärbung sofort aufgehoben, nachfolgender, sehr reichlicher Jodzusatz stellt sie wieder her, ebenso Zusatz von Säuren. Zerstört wird die Färbung durch Ammoniak, Salpetersäure, schweflige Säure, Schwefelwasserstoff, überschüssiges Chloral u. a. Durch Chloroform, Alkohol, Schwefelkohlenstoff u. a. kann man der Jodstärke das Jod entziehen, die Körner werden sofort farblos. Auch abnorme Temperaturen können die Blaufärbung verhindern. Némec (Percept. d. Schwerkr., Ber. bot. Ges., 1902, XX, 339) fand, daß sich die Stärke von *Allium cepa* (Wurzel), nachdem sie abnorm hohen oder niedrigen Temperaturen ausgesetzt war, mit Jod nur gelb färbte. Erst nach Vorbehandlung mit stark verd. Mineralsäuren erfolgte Blaufärbung durch Jod.

Die Jodreaktion tritt in gleicher Weise bei Stärkekleister ein. Kleisterballen finden sich in Drogen, die erhitzt oder abgebrüht werden (*Tubera Salep* u. *Jalapae*, *Rhiz. Curcumae*, chinesischen *Rhus*gallen, zuweilen in *Tub. Aconiti* und früher in einigen *Sarsaparillen*). Zum Nachweis der Stärke in Drogen empfiehlt Lagerheim³⁾ Jodmilchsäure (einige Jodsplitter in heißer sirupdicker Milchsäure gelöst), durch die das eingetrocknete Gewebe seine natürliche Gestalt wieder annimmt. Jodchloral leistet die gleichen Dienste.

Die Bestrebungen, die blaue Jodfärbung der Stärke „haltbar“ für Dauerpräparate zu machen, sind noch nicht erfolgreich gewesen. In den Dauerpräparaten fehlt der für die Blaufärbung nötige Wassergehalt. Man ist bisher nur zu einer haltbaren Braunfärbung gekommen. Harz⁴⁾ erzielt dauernde Braunfärbung mit Jodparaffin (Jod 1, Paraff. liquid. 100). Die Stärkekörner werden gelb bis braun. Die einzelnen Stärkesorten zeigen bei dem Verfahren ein etwas verschiedenes Verhalten. Die Stärke von *Cassave* bleibt farblos. Auch die Körner der gleichen Pflanze wechseln in der Farbe. Dies hängt jedenfalls mit der verschiedenen Struktur und dem Wassergehalt der einzelnen Körner zusammen. Zu Dauerpräparaten werden die Körner mit Jodjodkalium durchfeuchtet; man läßt auf dem Objektträger eintrocknen, dann

¹⁾ Fr. Czapek, *Biochemie*, 1905, I, S. 315.

²⁾ E. Heintz, *Jahresb. Agrikult. Chem.*, 1879, S. 499.

³⁾ G. Lagerheim, *Üb. d. Anwend. v. Jodmilchsäure z. mikr. Unters. v. Drogen usw.*, *Svensk Farm. Tidskrift*, 1901, V,

⁴⁾ C. O. Harz, *Jodparaffinöl*, ein neues Mikoreagens und Einbettungsmedium, *Ztschr. f. wiss. Mikr.*, 1904, XXI, S. 25.

wird ein Tropfen Jodparaffin zugefügt und das Deckglas mit 10% Gelatine umrandet. Rein blau gefärbte Körner habe ich nicht beobachtet. Fischer (Lit. S. 197, ³) läßt die mit alkoholischer Jodlösung überfärbten Körner an der Luft eintrocknen und bringt Kanadabalsam darauf. Der Überschuß der Farbe löst sich farblos im Kanadabalsam, die Körner bleiben dauernd braun bis gelb gefärbt. Etwas umständlicher ist die Methode Lagerheims¹⁾. Die mit Jodjodkalium gefärbten Körner werden mit Silbernitrat behandelt, der Sonne ausgesetzt und mit einem Hydrochinonentwickler entwickelt. Hierbei wird eine braune Färbung erzielt. Für Halbdauerpräparate ist eine Jodrohrzuckerlösung geeignet (konz. Rohrzuckerlösung mit 1% Jod und etwas Kaliumjodid angerieben, Jod im Überschuß). Die Braunfärbung (nur einzelne Körner sind auf kurze Zeit blau) hält sich über ein Jahr, Deckglasumrandung ist nicht erforderlich (Tunmann, Lit. 486, ⁵). Die Körner gelangen direkt in die Zuckerlösung.

Zum Nachweis sehr geringer Stärkemengen bringt man die Körner zum Quellen und färbt sie mit Jod bei möglichster Entfernung störender Zellinhalte. Es ist vorteilhaft, die Präparate zuvor mit Alkohol von Farbstoffen (Chlorophyll) zu befreien oder Alkoholmaterial zu verwenden. An entfärbtem Material lassen sich sehr kleine Stärkeeinschlüsse der Chlorophyllkörner mit Jodjodkalium nachweisen. Man legt die Präparate in eine Jodjodkaliumlösung (1:50), in der bei starker Vergrößerung selbst sehr kleine Körnchen schwarz hervortreten, dann erhitzt man und verfolgt das Erkalten der Präparate unter dem Mikroskop, wobei das Wiedererscheinen der schwarzen Färbung recht augenfällig wird und die Körner sich gut von dem nur gelb gefärbten plasmatischen Inhalte und dem gelbbraunlichen Stroma der Chlorophyllkörner abheben. Besser wirkt Jodchloral (Lit. S. 33, ¹). Etwas konz. Chloralhydratlösung (5:2) wird auf dem Objektträger mit einem Tropfen Jodalkohol (1:10) gemischt und das Präparat eingetragen. Eine Entfernung des Chlorophylls ist nicht unbedingt nötig, zuweilen aber dienlich. Das Reagens hellt schnell auf, bringt die Stärke (und Chlorophyllkörner) zum Quellen (Wirkung des Chloralhydrats), so daß selbst die kleinsten Körnchen durch Jod gebläut scharf hervortreten. Erwärmen beschleunigt und verstärkt die Wirkung. Mit Hilfe dieses Verfahrens läßt sich die Verteilung der Stärke in größeren Organen (Blättern) oder ihre ev. Abwesenheit leicht zur Anschauung bringen (Jodmethode von Sachs, verbessert von A. Meyer). Die betreffenden Gewebestücke werden in Jodchloralhydrat aufgekokcht.

¹⁾ G. Lagerheim, Ztschr. f. wiss. Mikr., 1897, XIV.

Früher wurde das Verfahren von Boehm¹⁾ benutzt, bei dem die Stärke durch verd. Kalilauge zur Quellung gebracht und mit Jod gefärbt wird. Da Alkali die Jodfärbung verhindern kann, so muß Jodjodkalium im Überschuß zugefügt werden oder man muß vor der Färbung das Alkali mit Wasser gut auswaschen, ev. mit Essigsäure neutralisieren. Heinricher²⁾ benutzt Javelle'sche Lauge. Die Präparate verbleiben 1—24 Stunden bis zur Zerstörung ihres übrigen Zellinhaltes in der Lauge, die zurückbleibende Stärke wird mit Jod gefärbt; unter Umständen ist vor der Färbung Kleisterbildung zu empfehlen. Da es aber Stärke gibt, die sich ziemlich leicht in der Lauge löst, besonders wenn nur Spuren zugegen sind, und man die Dauer der Einwirkung der Lauge für schwierige Fälle stets ausprobieren muß, so zieht man die anderen Verfahren vor.

Der Zusatz von Aufhellungsmitteln (Chloralhydrat) bei der Jodstärkereaktion ist auch in solchen Fällen notwendig, in denen Eiweißgebilde die Stärkekörnchen verdecken oder die Zellen große Mengen Eiweiß führen. Dann speichern die Eiweißkörper soviel Jod unter Braunfärbung, daß die Stärkereaktion verdeckt wird. Diese Bedingungen sind bei Algen gegeben, auch Treboux³⁾ weist bei *Cystococcus humicola* (Gonidie) hierauf hin.

Färbungen werden bei Stärkekörnern, zu diagnostischen Zwecken wenigstens, nicht benutzt. Sie beruhen nach Salter (Lit. S. 467 ob.) auf Absorption, denn die aufgenommenen Farben sind durch Auswaschen leicht zu entfernen, während Fischer der Meinung ist, daß Lösungsvorgänge und chemische Reaktionen stattfinden. Jedenfalls ist mit der Färbung ein deutlicheres Hervortreten der Schichten verbunden. Vorzüglich benutzt man Färbungen zu Studien über die Entwicklungsgeschichte des Stärkekornes und seine Beziehungen zum Plastiden. A. Meyer färbte mit Methylviolett. Beim Nachbehandeln der gefärbten Stärke mit einer stark verd. wässer. Lösung von Kalziumnitrat schlägt sich der Farbstoff in den schwach lichtbrechenden, wenig dichten Schichten nieder. Vorteilhaft wird man Färbungen an Stärkekörnern der Kartoffel und von *Canna indica* studieren. Im allgemeinen sind (H. Fischer)⁴⁾ zur Färbung geeignet wässrige Lösungen von: Fuchsin, Safranin, Chrysoidin, Jodgrün, Neutralrot, Gentianaviolett, Brillantgrün, Nilblau, Methylgrün, Thionin und Indulin (spirituslöslich). Indulin ist der einzige spirituslösliche Farbstoff, der färbt. Die genannten Farben werden sehr schnell und sehr reichlich aufgenommen.

¹⁾ J. Boehm, Stärkeb. d. Kresse usw., Sitzb. Wien. Ak., 1874, LXIX.

²⁾ E. Heinricher, Verwendb. d. Eau de Javelle z. Nachw. kleinster Stärkemengen, Ztschr. wiss. Mikr., 1886, III, S. 213.

³⁾ O. Treboux, *Cystococc. humic.*, Ber. deutsch. bot. Ges., 1912, XXX, S. 69.

⁴⁾ H. Fischer, Über die kolloidale Natur d. Stärkekörner u. ihr Verhalten gegen Farbstoffe, Bot. Centrbl., Beih., 1905, XVIII, S. 409.

Man läßt das Gemisch von Farbstoff und Stärke eintrocknen und behandelt mit Pikrinsäure. Dadurch werden die Farben als feiner Niederschlag fixiert. Andere Farben färben so wenig, daß sogar nach einigen Tagen die Körner sich nur wenig von der Farblösung abheben (Fuchsin S, Bismarckbraun, Hämatoxylin, Indigcarmin, Methylenblau u. a.). Selbst nach mehreren Wochen werden nicht aufgenommen: Carmin, Hessisch Purpur, Diamin-Echtröt, Kongorot, Anilinblau, Cyanin, Benzoschwarzblau, wasserlösliches Nigrosin.

Will man die Entwicklung der Stärkekörner studieren, dann müssen die Chloroplasten möglichst erhalten bleiben, das Gewebe muß fixiert werden. Versuchsobjekte sind *Pellionia* (Stengel, Blatt), *Solanum tub.* (junge Knollen), *Adoxa moschatellina* (Speicherschuppen, Rhizom), *Phajus grandif.* (Knollen), *Canna* (Rhizom). Fixierung mit Flemming, Sublimatalkohol (5%), konz. wässer. Pikrinsäure oder Pikrinsäure-Sublimat. Die Pikrinsäurelösungen werden mit Alkohol, die anderen Flüssigkeiten einige Stunden in fließendem Wasser ausgewaschen. Dann folgt Entwässern, Chloroform, Einbetten in Paraffin, Mikrotomschnitte, Objektträgerfärbung. Chloroplastenfärbung s. S. 466. Bei der Färbung der Stärke leisten Methylviolett oder Gentianaviolett gute Dienste. Hierbei werden die Stärkekörner violett, die Plastiden und das Cytoplasma rot. Die Färbung wird verbessert, wenn die Schnitte nach dem Abspülen „einige Sekunden lang mit ziemlich konz. wässer. Lösung von Orange G behandelt werden“ (Salter). Man kann ferner mit Flemming fixieren, dann 2–3 Tage mit einer durch Anilinwasser verd. Safraninlösung und 5 Minuten mit Gentianaviolett färben. Kraemer¹⁾ färbt zunächst die wasserreichen Schichten und das Zentrum mit verd. wässer. Gentianaviolett (*Solanum*) oder Safranin (*Triticum*) und läßt eine Nachbehandlung mit Jodlösung zur Färbung der übrigen Teile des Kornes folgen.

Weitere, besonders haltbare Färbungen haben C. W. Dodge (Durable stain f. starch., Journ. Micr., 1898, I, 131), J. H. Schaffner (Perm. st. f. starch, Journ. Micr., 1898, I, 181), E. Belzung (Nouv. rech. s. l'origine d. grains d'amidon et d. grains chlorophyll., Ann. d. sc. nat. Bot., 1891, XIII, 1) u. a. angegeben.

Näher angeführt sei noch das Tannin-Brechweinsteinverfahren (Rawitz). Die Objekte werden mit Pikrin-Eisessig-Schwefelsäure, Chromsäure oder mit Chrom-Osmium-Essigsäure fixiert. Bei Fixierung mit Osmiumsäure müssen die Präparate mit Terpentinöl oder mit Wasserstoffsuperoxyd nachgewaschen werden. Němec²⁾ bringt Mikrotomschnitte nach vorheriger Überführung in Wasser auf 10–60 Min. in

¹⁾ H. Kraemer, Struct. of starch grain, Bot. Gaz., 1902, XXXIV, S. 341.

²⁾ B. Němec, Inverse Tinkt., Ber. bot. Ges., 1906, XXIV, S. 528.

2 $\frac{0}{0}$ wässer. Tanninlösung, spült in Wasser ab (1 Min.) und legt sie 5–15 Minuten in 1 $\frac{1}{2}$ $\frac{0}{0}$ wässer. Brechweinsteinlösung, dann Auswaschen (3 Min.), Gentianaviolett (30 Min.), Auswaschen (5 Min.), schließlich Terpentin, Xylol, Kanadabalsam. Die Präparate halten sich über 10 Jahre (Stärkekörner stark violett, Cytoplasma grau, Zellmembranen, besonders verschleimte, schwach violett).

Natriumsalicylat (wässrige Lösung 1 + 11) wirkt auf Stärkekörner (Lenz)¹⁾ in verschiedener Weise ein. Die Stärke kommt in einen hängenden Tropfen der Lösung und wird bei Zimmertemperatur der Dauerbeobachtung unterworfen. Roggenstärke ist nach 24 Stunden zum großen Teile, nach einer Woche gänzlich verquollen; nach längerer Zeit sind nur die zusammengefallenen Hüllen sichtbar. Weizenstärke widersteht längere Zeit, doch ist nach einer Woche das



Fig. 116. Hüllen der Stärkeköerner von *Solanum tuberosum*, mit Jod gelblich und entleerte Stärkesubstanz, mit Jod blau (Tunmann).

Polarisationskreuz ebenfalls nicht mehr zu erkennen und schließlich bleiben die entleerten Häute zurück. Hingegen verquellen von Marenta- und Kartoffelstärke innerhalb 24 Stunden nur wenige Körner im Salicylat und selbst nach 17 Monaten ist das Polarisationskreuz noch sichtbar. Man kann die Stärkearten einteilen in solche, die durch Salicylat in absehbarer Zeit nicht angegriffen werden, und in andere, die mehr oder weniger rasch gelöst werden. Nur die Kornsubstanz geht in Lösung, nicht die Hüllhaut. Die Beschaffenheit der Hüllhaut, ihre größere oder geringere Dicke, beeinflusst das schnellere oder langsamere Lösen der Kornsubstanz (der Sphärokristalle). Aus diesem

Grunde lösen sich im allgemeinen größere Körner, deren Hüllhaut infolge der Spannung zarter ist, schneller als kleinere Körner. Die Reaktion hat diagnostische Bedeutung.

Die Hüllhaut der Stärkekörner läßt sich mit Jod und Schwefelsäure sichtbar machen. Am besten eignet sich hierzu Alkoholmaterial. Auch Drogen liefern gute Objekte. Die Körner quellen etwas, die Hüllmembran wird erst gelb, dann bräunlich, schließlich rötlich. Das nachstehende einfache Verfahren lieferte mir bessere Erfolge: Etwas Kartoffelstärke (Handelsprodukt) wird in Wasser unter Deckglas 2mal bis zur Blasenbildung erhitzt. Nach dem Erkalten sehen wir die verquollenen Hüllen, teils zusammengeballt, teils einzeln liegend. Nun

¹⁾ W. Lenz, Ein neues Untersuchungsverfahren für Stärkekörner, Apoth. Ztg., 1910, XXV, S. 778.

wird ein kleiner Tropfen Jodjodkalium zugesetzt (0,1 Jod:100,0). In dem Untersuchungstropfen erscheint ein hellblauer, flockiger oder kleinkörniger Niederschlag, der zuvor (ohne Jodzusatz) kaum zu erkennen war. Der größere Teil der Hüllen ist, vorzüglich an der Peripherie, mehr oder weniger stark violett oder bräunlich gefärbt. Doch wird man stets einzelne, zwar nur an einer Seite, aber dort gänzlich gesprengte Hüllen finden, die nur eine schwache Gelbfärbung aufweisen (Fig. 116).

Erwähnt sei noch die sogenannte „braune Stärke“ Lagerheims (Lit. S. 502, 3). Es sind Stärkekörnchen, die sich mit Jodmilchsäure bräunen und in den Kelchblättern verschiedener Anemonearten vorkommen (*A. nemorosa* u. a.).

Als **Amylinkörner** bezeichnet Hinze (Lit. S. 68, 7) kleine bald kugelige, bald ovale Gebilde oder glänzende Körnchen, die zerstreut im ganzen Protoplasma von *Beggiatoa mirabilis* auftreten, nur wenig größer als die anwesenden Chromatinkörner sind und sich in Speichel lösen. Da sie sich nicht in Wasser lösen, kann es sich nicht um Glykogen handeln. Die Körner werden deshalb als ein der Stärke nahestehendes Kohlehydrat angesprochen, weil die Zellen nach Behandlung mit Jodjodkalium im Protoplasma „zahlreiche Klümpchen, bald von mehr bläulicher, bald von mehr bräunlicher Färbung“ zeigen (siehe auch S. 200, 2. Abs.).

Amylodextrinstärke.

Amylodextrin (Amylodextrinstärke, rote Stärke), von C. Naegeli 1858 (Stärkekörner S. 192) aufgefunden, hat die gleiche empirische Zusammensetzung wie Stärke, soll aber substanzärmer sein (A. Meyer, Ber. bot. Ges., 1886 und 1887, Y. Shimoyama, Diss. Straßb. 1886 u. a.). Amylodextrin entsteht aus Stärke durch Einwirkung von verd. Säuren und Enzymen (Speichel, Diastase) und kristallisiert in Nadeln, Tafeln und Sphärokristallen (W. Naegeli, Lit. S. 496, 3). Sechseckige Tafeln und Prismen von Amylodextrin hat Schradinger (Centrbl. Bakt., 1908, XXVII, 2, S. 98) aus verschiedenen Stärkesorten mit Hilfe des, die Stärkesubstanz lösenden *Bacillus macerans* erhalten.

Amylodextrin kommt ganz überwiegend in Form kleiner rundlicher, zuweilen länglicher Körner vor (selten gelappt, Fig. 117). Hanausek¹⁾ gibt gelöstes Amylodextrin neben Körnern in Form einer farblosen, durchsichtigen Masse im inneren Endosperm des Zuckermais an. Amylo-



Fig. 117. Amylodextrin-stärkekörner. a) aus dem Arillus von *Myristica fragrans* (Macis), b) aus *Sorghum vulgare* (Frucht) (Tunmann).

¹⁾ T. F. Hanausek, Mais-Stud., Arch. Chem. u. Mikr., 1911, IV, Sep.

dextrinkörner finden sich vielfach: *Chelidonium maj.*, *Arillus* (C. Naegeli, Lit. S. 496), *Reisendosperm* (Gris), *Sorghumendosperm*, *Gentianablätter* (A. Meyer, Dafert), *Orchideenembryonen* (Treub), *Goodyera*, *Malaxis*, *Sweertia*, *Monotropa* (Russow), *Macis*, keimende, stärkefreie Samen von *Sinapis alba* (Tschirch), *Helianthemumsamen* (Rosenberg), *Lathraea claud.* u. *squam.* (Tracheiden, Heinricher, Lit. S. 94₁), *Isopyrumknollen* (Mac Dougal), *Rhinanthaceenhaustorien* (Sperlich), *Allium cepa*, *Wurzelhaube* (Husek), *Anemona*, *Kelchblätter* (Lagerheim, Lit. S. 503₁), *Eleusine coracana* (Mitlacher). Wo Stärke in Umwandlung begriffen ist, wird man auf Körner mit Amylodextrinreaktion fahnden können, vorzüglich dort, wo Stärke zur Bildung von Schleimmembranen verbraucht wird (*Helianthemumsamen*)¹⁾.

Reines Amylodextrin färbt sich mit Jodreagentien rein rot. Der Ausfall der Jodreaktion hängt von dem Gehalt der Körner an Amylodextrin ab. Die Farben schwanken denn auch von violettrot bis rotbraun und braungelb. Jodalkohol färbt gelblich, Jodjodkalium rotbraun. Verschiedentlich beobachtet man Übergänge von blau bis rot. Die Blaufärbung zeigt noch reine Stärkesubstanz an und tritt oft in den inneren Partien des Kornes auf, so daß um einen blauen Kern eine mehr oder weniger rötliche Hülle sichtbar wird. Bei lange gelagertem Material, besonders bei alten Früchten und Samen, tritt die Reaktion erst dann typisch ein, wenn man das Material auf einige Zeit in Wasser eingelegt hat. Die Jodfärbung verschwindet beim Erwärmen, um beim Erkalten wieder hervorzutreten. Amylodextrinkörner quellen in Kalilauge, Chloralhydrat u. a., so daß man zum Nachweis sehr kleiner Körnchen, in gleicher Weise wie beim Amylumnachweis, Jodchloral benutzen kann. Man kann die Umwandlung der gewöhnlichen Stärke in Amylodextrin verfolgen, wenn man Stärkekörner längere Zeit in Speichel bei 50° beläßt. Die Körner färben sich mit Jod nach einigen Stunden nicht mehr blau, sondern violett bis weinrot, schließlich gelb.

Wenn wir von der *Macis* (Fig. 117a) und einigen anderen Objekten (s. oben) absehen, kommt dem Amylodextrin kein großer diagnostischer Wert zu, denn

¹⁾ Vergl. A. Gris, Bull. soc. bot., 1860, VII, 876. — A. Meyer, Arch. d. Pharm., 1883, CCXX. — T. W. Dafert, Ber. d. bot. Ges., 1887, V, 108. — M. Treub, Embryogénie d. quelq. Orchidées, 1879, 22. — E. Russow, Dorpater Sitzber., 1884, VII. — A. Tschirch, Ber. d. bot. Ges., 1888, VI, 138. — O. Rosenberg, Stud. üb. Membranschleime, Veröff. Ak. Stockholm, 1898, Sep. — D. T. Mac Dougal, A contr. to phys. of root tubers of *Isopyrum biternatum*, Minnesota Bot. Stud. Bull., 1896, 501. — Sperlich, Inhaltsst. d. Saugorg. d. Rhinanth., Bot. Centrbl., Beih., 1902, XI, 437. — Husek, Bot. Centrbl., 1902, XC, 549. — W. Mitlacher, Exot. Gramineenfr., Ztschr. öst. Ap. Ver., 1901, XLV, Nr. 34 und andere.

der Gehalt der Körner an Amylodextrin ist ungemein schwankend und zum Teil auch von dem Entwicklungsstadium der betreffenden Früchte und Samen abhängig.

Florideenstärke.

Florideenstärke (Rhodophyceenstärke), schon von C. Naegeli (Lit. S. 496) und von van Tieghem (S. l. glob. amylacés d. Flor., Compt. rend., 1865, LXI, 804) beschrieben, ist in chemischer Hinsicht wenig erforscht¹⁾. Sie steht dem Amylodextrin höherer Pflanzen nahe, ist diesem vielleicht identisch. Florideenstärke kommt in kleinen rundlichen, eiförmigen oder ovalen Körnchen vor (Fig. 118). Abweichende Formen beschreibt Hansen (Lit. S. 475, 1) bei Chondriopsis, Chondria u. Laurencia. Ihre Entstehung ist nicht sichergestellt. Die Bildung im Cytoplasma wird von Fr. Schmitz (Chromat. d. Alg.) und Schimper (Lit. S. 473, 1) angenommen und in den Markzellen sind jedenfalls plastidenähnliche Gebilde mit Sicherheit nicht aufzufinden (Tunmann, An. u. Inh. v. Chondrus, Ap. Ztg., 1909, XXIV, 151). Florideenstärke wird meist als Reservestoff aufgefaßt (was Czapek [Bioch. I, 402] nicht als erwiesen betrachtet), doch deutet ihr Vorkommen in den Sporen darauf hin.

Im polarisierten Lichte verhält sich die Florideenstärke wie Amylum (bei gekreuzten Nicols ein orthogonales schwarzes Kreuz, van Tieghem). Mit Jodkaliumlösung²⁾ wird sie gelbbraun bis braunrot, mit Chlorzink-

jod weinrot. Doch kommen nach Belzung³⁾ bei einigen Florideen Körnchen vor, die sich mit Jod blau färben. Auch bei Helminthochorton (Droge) fand ich wiederholt echte Stärke. Besonders jugendliche Körner weisen bisweilen Blaufärbung mit Jod auf. Die gelb- bis weinroten Farben wechseln in ihren Abtönungen sehr. Die Beschaffenheit des Materials (frisch oder getrocknet) scheint ebenfalls von Einfluß zu sein.

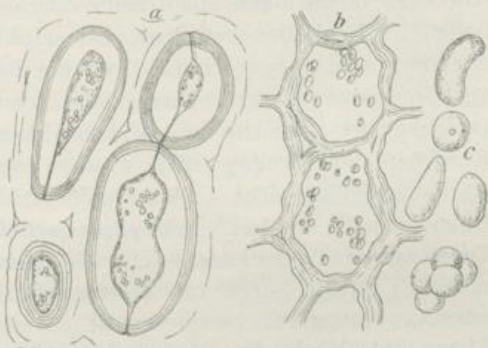


Fig. 118. Florideenstärke, a) *Chondrus crispus*, b) *Alsidium spec.* (Helminthochorton-Droge), c) einzelne Körner bei stark. Vergr. (Tunmann).

¹⁾ O. Bütschli, Not. üb. sog. Florideenst., Nat.-med. Ver. Heidelberg, 1903, N. F. VII, S. 519.

²⁾ Rosanoff, Observat. s. l. fonct. et l. propriétés des pigments d. div. alg., Extr. d. mém. Soc. imp. Cherbourg., XIII.

³⁾ E. Belzung, Rech. morph. et physiol. s. l'amidon et les graines de chlorophylle, Ann. d. Bot., 1892, V, S. 179.

Kolkwitz¹⁾ ließ Chloralhydrat einige Zeit einwirken und erhielt dann bei der Färbung mit Jodjodkalium zwei Farbentypen, den Laurenciastyp, der dem Kartoffeltyp nahesteht, und den Furcellariastyp, der mit dem Macistyp (mit der Jodfärbung des Amylodextrin der Macis) übereinstimmt. Die verschiedenen Farbtöne bei der Jodfärbung (Jod in Dampfform, in alkoholischer Lösung, als Jodjodkaliumlösung) wurden (auch makrochemisch) eingehend von Bütschli verfolgt. Da nun aber Farbtöne erfahrungsgemäß von den einzelnen Beobachtern selten übereinstimmend herausgefunden werden, so scheint hiermit kein greifbarer Erfolg gegeben zu sein, zumal vielfach Übergänge auftreten.

In ihrem Verhalten gegen heißes Wasser, Kalilauge, Chloralhydrat stimmt die Florideenstärke mit der Stärke überein. Durch heißes Wasser wird sie verkleistert. Leicht überzeugt man sich hiervon, wenn man einen mit Jodjodkalium gefärbten Schnitt erwärmt. Die einzelnen Körnchen bilden dann einen mehr oder weniger homogenen „Kleisterballen“. Die Ballen bestehen aber nicht aus reiner Florideenstärke, wie die pharmakognostische Literatur für Carrageen angibt, sondern aus dem gesamten Protoplasten, der von der Stärke durchtränkt wird. Da man bei Chondrus mit Chlorzinkjod auch bei Abwesenheit von Körnchen eine Färbung erhält, so wäre zu untersuchen, ob die Florideenstärke zuweilen nicht auch in gelöster Form auftritt. In Kalilauge, Chlorzinkjod²⁾ und in Chloralhydrat quellen die Körnchen. Mit Hilfe des Quellungsvermögens lassen sich (wie beim Nachweis kleinster Amylumengen) selbst Spuren von Florideenstärke durch nachfolgenden Jodzusatz nachweisen, beispielsweise in den Rindenzellen. Man kann hierzu Jodchloralhydrat (S. 503) benutzen. Die Florideenstärke teilt mit dem Amylum die Eigenschaft, die durch Jodreagentien erzeugte Färbung beim Erhitzen abzugeben (farblos zu werden), um sie beim Erkalten sofort wieder anzunehmen. — Ein Befund Flückigers (Pharmakogn., 1881, S. 254) verdiente weitere Nachforschung. „Werden dünne Schnitte des Carrageen in geschlossener Röhre einen Tag lang mit alkoholischer Kalilauge im Wasserbade erwärmt und nach dem Abwaschen mit Jodlösung (1. Jod, 3. Jodkalium, 500. Wasser) einige Stunden in Berührung gelassen, so färbt sich der gesamte Zellinhalt, nicht die Wandungen, aufs tiefste blau“.

Die Florideenstärke mit ihren charakteristischen Reaktionen ist ein vorzügliches Mittel, um das feinste Pulver von Agar-Agar oder von Carrageen mikroskopisch nachzuweisen (im Agar-Agar finden sich stets Zellkomplexe der verarbeiteten Algen, Tunmann, Bemerk. üb. Agar-Agar, Ph. Zentrh., 1909, L, 223).

¹⁾ R. Kolkwitz, Beitr. z. Biol. d. Florideen, Helgol. wiss. Mitt., IV und: Ber. deutsch. bot. Ges., 1899, XVII, S. 247 (Gen. Vers. Heft).

²⁾ E. Bruns, Inhaltskörper d. Meeresalg., Flora, 1894, LXXIX, S. 159.

Wenig erforschte Bestandteile der Phaeophyceen.

Im Cytoplasma der Phaeophyceen kommen kleine ($0,5-4\ \mu$) Gebilde vor, über deren Natur trotz vielfacher Untersuchungen die Ansichten geteilt sind. Eine Literaturübersicht erscheint notwendig. Schmitz¹⁾ erwähnt in Wasser unlösliche Körnchen, die ein stärkeres Lichtbrechungsvermögen als der übrige Zellinhalt besitzen, und „mattglänzende hyaline Tröpfchen“. Diese Bildungen (Fig. 119) reagieren nicht mit Jod, Doch ist Schmitz geneigt, sie für Kohlehydrate anzusprechen; sie werden als Phaeophyceenstärke (auch von Schimper) bezeichnet. Hansen (Lit. S. 475,¹⁾ spricht diese (und wohl auch ähnliche) Bildungen, die in Wasser unlöslich sind und in Glyzerin zusammenfließen, für Fett an; sie werden durch Kalilauge schaumig und lösen sich in 90% Alkohol und in Äther. Crato²⁾ erhielt mit Vanillinsalzsäure und mit Piperonal-schwefelsäure (je 1 Tropfen konz. Schwefels. u. alkohol. Piperonallös.) Rotfärbung und nimmt phenolartige Substanzen an (Phloroglucin), stellt aber eine eiweißartige Natur in Abrede. Er unterscheidet an den Bildungen eine Plasma-haut, die durch Reagentien gehärtet wird, sowie einen mit Wasser, Alkohol, Äther, Essigsäure, verd. Salzsäure und Kalilauge mischbaren Inhalt, der mit Anilinsulfat und Kaliumnitrit gelb, dann rot, mit Kaliumnitrit und Schwefels. braungelb wird. Die Bildungen sollen amöboid beweglich sein (Physoden³⁾).

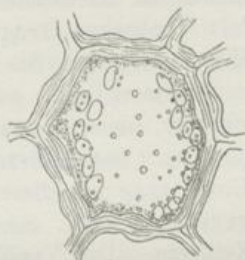


Fig. 119. *Laminaria spec.*, Zelle mit Chromatophoren und kleinen diesen zum Teil auf- und anliegenden Physoden (Tunmann).

Andere Autoren halten die Bildungen für Kohlehydrate, so Clautriau⁴⁾ (bei *Himanthalia lorea*) und besonders Hansteen⁵⁾. Letzterer hält sie für stärkeähnliche Gebilde (Fukosan), die von den

¹⁾ Fr. Schmitz, Beitr. z. Kenntn. d. Chromatoph., Jahrb. f. wiss. Bot., 1884, XV, S. 1.

²⁾ E. Crato, Morph. u. mikrochem. Unters. üb. d. Physoden, Bot. Ztg., 1893, LI, S. 157 u.: Üb. d. Hansteen'schen Fukosankörner, Ber. deutsch. bot. Ges., 1893, XI, S. 235.

³⁾ Unter „Physoden“ versteht man jetzt allgemein bläschenartige Gebilde im Cytoplasma; als Bezeichnung für die Phaeophyceengebilde kann der Ausdruck nicht mehr in Betracht kommen.

⁴⁾ G. Clautriau, Les réserves hydrocarbonées des Thallobytes, Miscell. bot. dédiées au Prof. Giard, Paris 1899, S. 114.

⁵⁾ B. Hansteen, Üb. d. Fukosan, als erstes scheinbares Produkt der Kohlen-säureassimilation bei den Fucoiden, Jahrb. f. wiss. Bot., 1900, XXXV, S. 611.

Chromatophoren in flüssigem Zustande ausgeschieden werden, im Cytoplasma aber erst zur vollen Größe gelangen und rundliche Formen annehmen. Sie färben sich mit sehr verd. Methylviolett. *Pylaiella littoralis* wurde 16 Stunden im Dunkeln in größerer Menge Seewasser gehalten, dem 0,0005% Methylviolett zugefügt war. Nach Hansteen soll Fukosan ein linksdrehendes, nicht direkt gärungsfähiges Kohlehydrat sein, dessen Bildung vom Licht abhängig ist. Ihm schließt sich im allgemeinen Hunger¹⁾ an, trotzdem er mit 1% Osmiums. in Meerwasser Schwärzung feststellt. A. Meyer erhielt bei *Laminaria Volutin*-reaktion (S. 423). Berthold (Lit. S. 222, ²⁾) spricht die Gebilde für „Tropfen einer Gerbstofflösung“ an, Koch²⁾ verneint einen Phloroglucingehalt.

Eigene Befunde³⁾ und die nochmals vorgenommenen Nachprüfungen führen zu nachstehendem Ergebnis. Den bläschenartigen Gebilden fehlt (entgegen Crato und in Übereinstimmung mit Hansteen) eine Eigenbewegung. Sie sind nur an lebendem und gut fixiertem Material zu studieren. An getrocknetem Material sind sie meist nicht mehr sichtbar, da sie dann andere Inhalte, besonders die Chromatophoren, imprägnieren, so daß diese mit Vanillinsalzsäure reagieren. Die Rötung mit diesem Reagens ist auch von Bruns (Lit. S. 510, ²⁾) angegeben worden. Sie tritt mit voller Schärfe zuweilen erst nach einiger Zeit ein. Die Vanillinsalzsäurereaktion ist aber hier in erster Linie eine Eiweißreaktion. Fixiert man lebendes Material mit Azeton-Meerwasser oder mit technischem Azeton, dann lassen sich Eiweißreaktionen (Jodreagentien) feststellen. Hierfür sprechen auch die Befunde von Crato, denn dieser betont, daß die Reaktionen mit Vanillinsalzs., rauchender Salpeters., Millon und Zucker-Schwefels. in gleicher Weise bei allen untersuchten Fucoideen eintreten, daß aber „gegen andere Reagentien, wie Osmiums., Eisensulfat, Eisenchlorid, Kaliumdichromat sich die Physoden der einzelnen Arten verschieden“ verhalten (Bot. Ztg., 1893, S. 190). Aus Phloroglucin (Crato) kann der Bläscheninhalt deshalb nicht bestehen, da dieses mit Eisenchlorid blau wird, während die Bläschen sich nur schwach gelbbraun damit färben.

Des weiteren enthalten die Bläschen wechselnde Mengen an Gerbstoff, denn die Gerbstoffreaktionen fallen sehr schwankend aus.

¹⁾ F. W. T. Hunger, Üb. d. Assimilationsprod. d. Dictyotaceen, Jahrb. f. wiss. Bot., 1903, XXXVIII, S. 70.

²⁾ L. Koch, Unters. üb. d. bisher für Öl oder Phloroglucin gehalt. Inhaltsk. d. Fucoideen, Diss. Rostock, 1896.

³⁾ O. Tunmann, Z. Kenntn. d. Laminaria, Pharm. Zentralh., 1907, XLVIII, S. 241 u. Lit. S. 94.

Die Färbung mit Methylviolett ist in erster Linie eine „Lebendfärbung“. Kohlehydrate sind nicht zugegen. Die bis jetzt für die Gegenwart von Fukosan beigebrachten Befunde (auch die makrochemischen) sind nicht genügend und fußen wohl hauptsächlich darauf, daß die Bläschen aus den Chromatophoren hervorgehen. Sollen aber nur Kohlehydrate aus den Chromatophoren hervorgehen (vergl. S. 361 u. 375)? Ein Zusammenhang mit der Assimilation scheint allerdings nach den Verdunkelungsversuchen Hansteens zu bestehen.

Es ist angebracht, diese Bildungen bis zur endgültigen Erforschung kurz als Phaeophycin zu bezeichnen¹⁾.

In den Assimilationszellen der Dictyotaceen finden sich sehr kleine lichtbrechende Gebilde auf der ins Zelllumen ragenden Oberfläche der Chromatophoren und etwas größere Körper im Zelllumen. In den Speicherzellen treten außerdem noch größere stark lichtbrechende Kugeln auf. Letztere sollen die Fluoreszenz der Algen bedingen und Reservestoffe darstellen. Die kleinen Gebilde, „Inhaltskörper“, sollen sich nur „bei Anwesenheit der Phaeoplasten und im Lichte entwickeln“ (Hunger, Lit. S. 542, ¹) und bei längerer Verdunkelung verschwinden. Zur Untersuchung müssen lebende, dem Meerwasser frisch entnommene Algen benutzt werden. Hansen (Lit. S. 475, ¹) hielt Inhaltskörper und Kugeln für Fett, da sie sich in 1 % Osmiums.-Meerwasser schwärzen. Die Osmiumreaktion bleibt jedoch aus, wenn ganze Thallusstücke in Chloralhydrat, Eisessig oder Chromsäure einige Zeit gelegen haben. Die Inhaltskörper röten sich ferner mit Vanillinsalzs. (aber nur bei Material aus den Monaten Januar und Februar, Hunger). Die den Chromatophoren anhaftenden Gebilde reagieren weder mit Osmium noch mit Vanillinsalzsäure. Die Inhaltskörper sind in Äther, Chloroform, Schwefelkohlenstoff und Benzol unlöslich und sollen sich nach Hunger in Wasser lösen (nach Hansen sind sie nicht wasserlöslich); sie färben sich mit Kaliumdichromat und speichern Methylenblau (1 : 500 000). Bei Behandlung ganzer Pflanzen mit Ptyalin und alkalischer Trypsinlösung werden die den Chromatophoren anhaftenden Gebilde angegriffen, Myrosin wirkt auf die Inhaltskörper im Zelllumen ein, Pepsin auf die Kugeln. Die Inhaltskörper sind komplizierter Zusammensetzung, nach Hydrolyse mit verd. Schwefels. wird die Fehlingsche Lösung reduziert. Die großen Kugeln enthalten Fett.

¹⁾ Die Arbeit von H. Kylin, Über die Inhaltskörper der Fucoideen (Arkiv Bot., 1912, XI, S. 1) kam erst bei der Korrektur durch das Referat von N. Wille (Bot. Centralbl., 1912, CXX, S. 681) zu meiner Kenntnis, sie vermag an obiger Darstellung nichts zu ändern.

Die Bestandteile der Cyanophyceenzelle.

Im Zellinhalte der Cyanophyceen unterscheidet man verschiedene Gebilde, deren Natur noch strittig ist. Der Inhalt gliedert sich in einen gefärbten peripheren Teil, die sog. grüne Rinde, und in einen farblosen inneren Teil, den farblosen Zentralkörper. Rinde und Zentralkörper enthalten Einschlüsse, über deren Natur die Ansichten ebenfalls geteilt sind. Die Einschlüsse der Rinde heißen Cyanophycinkörner, die des Zentralkörpers Zentralkörner.

Der farblose **Zentralkörper** wurde von Hegler und Kohl (l. c.) als Kern angesprochen (Kernwand und Nukleolus fehlen). Sie gründeten ihre Anschauung auf mitosenähnliche Gebilde (Fixierungsmittel: Jodalkohol, Pikrinschwefels., 10% Formaldehyd, 1% Osmiums., Flemming, konz. alkohol. Sublimatl.). Nach Kohl soll sich der Zentralkörper mit Eau de Javelle isolieren lassen. Die mitosenähnlichen Gebilde nennt A. Fischer Pseudomitosen; sie treten auch an lebendem Material (*Oscillaria tenuis*, *Anabaena*, *Symploca*) ohne weiteres als weiße glänzende Massen hervor, die sich nicht mit Jod färben und in Wasser unlösliche Kohlehydrate darstellen (Kohlehydratmitosen). Nach A. Fischer ist der Zentralkörper ein mit Reservestoffen erfülltes Zentralplasma und ähnlich urteilt A. Meyer, der ihn für eine große mit zähflüssigem Eiweiß angefüllte Reservestoffvakuole hält. Nach den übereinstimmenden Befunden von A. Fischer, Olive, Phillips, Guilliermond¹⁾ und Gardner²⁾ besitzt der Zentralkörper keine abgrenzende Membran. Doch sollen zuweilen feine Fortsätze strahlenartig die grüne Rinde (Fischers Chromatophor) durchsetzen und mit dem feinen protoplasmatischen Wandbelag in Verbindung stehen.

Zentralkörner sind kleine Gebilde des Zentralkörpers (teils kleine kuglige Gebilde, teils Pseudomitosen). Für eine Chromatinnatur dieser Bildungen treten ein: Guilliermond, Nadson, Olive, Phillips (unlöslich in künstlichem Magensaft), auch Zacharias („Zentralsubstanz“, in verd. Salzs. scharf umschrieben und glänzend wie Nuklein des Lachsspermas, S. 420). A. Meyer (Lit. S. 423, 4) tritt für Volutin ein. Bütschli (Lit. S. 423, 2) hebt die Färbbarkeit mit roten Farbstoffen hervor („rote Körner“), Palla und Hegler bezeichnen sie als Schleimkugeln. Nach Kohl und Hegler lassen sie sich mit Alkohol, Jodalkohol, 4% Formaldehyd, Sublimat, Pikrins., Pikrinschwefels., Flemming und Hermann fixieren, nach Kohl sind sie

¹⁾ A. Guilliermond, Contribution à l'étude cytologique des Cyanophycées, Revue générale de Botanique, 1906, XVIII.

²⁾ Gardner, Cytological Studies in Cyanophyceae, Univer. of California publications, Botany, 1906, II.

resistent gegen Eau de Javelle und Ameisens. und werden mit Molybdänschwefels. (Ammonmolybd. 0.5, Wasser 1 ccm, Schwefels. 10 ccm) blau. Nach A. Fischer (Lit. S. 199, ⁹) reagieren sie nicht mit Jodreagentien; sie sollen aus Anabaenin bestehen¹⁾.

Anabaenin entsteht aus dem im Chromatophor der Cyanophyceen gebildeten Glykogen (S. 199 ob.) im Zentralkörper und bildet dort die Zentralkörner (kleine, kuglige Gebilde) und Pseudomitosen (chromosomenähnliche Knäuel und Körperchen). Es ist ein den Cyanophyceen spezifisches Kohlehydrat, farblos, stark glänzend, unlöslich in kalt. und kochend. Wasser, in Kochsalz, konz. Magnesiumsulf., 20% Kupfersulf. und anderen Salzl., in konz. Ammoniak und konz. Essigs., in Alkohol, Äther, Xylol, Toluol, Chloroform, unverdaulich in künstl. Magensaft, farblos quellbar in Kupferoxydammoniak, unlöslich in stark verd. Mineralsäuren, sofort löslich in konz., langsam löslich in 5% Kalilauge. Anabaenin färbt sich nicht mit Jod- und Carminlös., färbt sich schwach, doch nicht chromatinähnlich, mit Safranin, Gentiana, Jod- u. Methylgrün, mittelstark mit Delafieldschem Hämatoxylin, gut mit Methylenblau, stark mit Eisenalaunhämatoxylin. Durch Behandlung mit heißen 1% Minerals. oder mit 5% Oxals., Jodjodkalium, Chlorzinkjod wird Anabaenin partiell in Glykogen zurückverwandelt. Es ist optisch anisotrop und veranlaßt das Bild der sog. Gasvakuolen.

In Anabaena und Oscillaria fand A. Fischer ein Enzym, welches wahrscheinlich auch in anderen Cyanophyceen vorkommt. **Anabaenase** löst innerhalb 10–15 Minuten das Kohlehydrat Anabaenin. Es entsteht ein durch Jod weder färbbarer noch fällbarer Körper (Zucker). Anabaenase ist unempfindlich gegen Kochsalz- und Sodalös., empfindlich gegen starke Magnesiumsulfatlös., 5% Monokaliumphosphat, 10% Kalisalpeter und wird vernichtet durch 10 Minuten langes Erwärmen auf 90°, durch 0,1%ige Lösungen von Formaldehyd, Essigs., Milchs., Karbols., durch 0,3% Salzs. und durch längere Berührung mit 5% u. 10% Alkohol.

Als **Cyanophycinkörner** (Hieronymus, Lit. S. 484, ¹) bezeichnet man kleine, im peripheren, gefärbten Teil liegende, kuglige Gebilde, die Schmitz Schleimkugeln (Lit. S. 482), Nadson Reservekörner, Zacharias Körner, Bütschli farblose Körner nennt, Phillips als Kohlehydrate (löslich in 4% Salzs., 1% Schwefels., Chloralhydrat,

¹⁾ Hierzu: Phillips, Comparative Study of the Cytol. a. Movem. of Cyanophyc., Trans. Bot. Soc., Pennsylvania, 1904, I, 237. — E. Zacharias, Über d. Cyanophyc., Abh. Hamb. Nat. Ver., 1900, XVI, 50. — F. G. Kohl, Organ. u. Phys. d. Cyanophyceenzelle, Jena, 1903. — R. Hegler, Unt. üb. d. Organ. d. Phykochromaceenzelle, Jahrb. f. wiss. Bot., 1901, XXXVI, 229. — E. Palla, Beitr. z. K. d. Baues d. Cyan.-Protoplasten, Jahrb. f. wiss. Bot., 1893, XXV, 511.

²⁾ Glykogen wurde 1882 von Errera in Phykochromaceen aufgefunden.

färbbar mit Hämatoxylin) und Hegler als Eiweißkristalloide betrachtet. Nach Hegler verschwinden sie in Dunkelkulturen, treten bei Belichtung wieder auf, nach Fischer dienen sie wahrscheinlich zur Erneuerung des Phykokyans, nach Kohl finden sie sich weniger in lebhaft wachsenden Pflanzen. Für die Eiweißnatur werden angeführt: Reichl-Mikosch'sche Reaktion (S. 411), die „Quellbarkeit und das intensive Speicherungsvermögen für Jod und Farbstoffe wie Carmin, Säurefuchsin, Safranin, Orange G., Eosin“. Sie färben sich mit Pikrocarmin (Macallum), nach Alkoholbehandlung mit Essig- und Alauncarmin (Zacharias). Lebendfärbung mit Methylenblau gelingt nicht (Palla). Von den Angaben von Zacharias sei nur erwähnt, daß Millon, Jodglyzerin und Chlorzinkjod farblos lassen sollen. Hingegen färbt Jodjodkalium nach Vorbehandlung mit verd. Schwefels. (1:100) braun und nicht, wie Borzi angab, blau¹⁾.

Der Farbstoff der Cyanophyceen ist auf die peripheren Partien (sogen. grüne Rinde) beschränkt. Nach Palla, Hegler und Kohl besteht die Rinde aus Cytoplasma, in dem winzig kleine Chromatophoren eingebettet sind. A. Fischer (und auch Olive)²⁾ nimmt einheitliche Chromatophoren an, deren Stroma die Gestalt eines geschlossenen Hohlzylinders besitzt. Die kleinen Einlagerungen sollen Grana sein. Mit Flußsäure lassen sich die **Chromatophoren** isolieren (auch bei Conjugaten, Diatomeen, Moosen, Triticum u. a.). Das protoplasmatische Stroma der Chromatophoren wird durch das Chlorophyll gegen die Einwirkung der Flußsäure geschützt. Wahrscheinlich bildet das Chlorophyll, das eine in Flußsäure unlösliche Substanz ist, bei der Ätzung einen ähnlichen Schutz für die Chromatophoren, wie ein Wachsüberzug für Glas. Auch ein extrahiertes Rohchlorophyll und Lezithin bewirken einen Ätzschutz. Die zu untersuchenden Algen werden mit Fließpapier abgetupft, in einen mit 30–40% Flußsäure (Mercksche Flußsäure ist 55%) beschickten Platintiegel gebracht, der Deckel wird aufgelegt und mit dem Bunsenbrenner vorsichtig erwärmt, bis 3–4 kurze Aufstöße der Flüssigkeit hörbar werden. Nun wird das Material mit Platindraht herausgenommen und in einer großen Schale mit ruhigem Wasser gut ausgewaschen (bis 24 Std.). Die Algenfäden bleiben ganz, da die Zellulose nicht zerstört wird, das Plasma

¹⁾ Vergl. hierzu: G. Nadson, Bau d. Cyan.-Protoplasten, Bot. Centralbl., 1895, LXIII, 238. — E. Zacharias, Üb. d. Cyanoph., Jahrb. Hamb. wiss. Anst., 1904, 47. — H. Zukal, Bau d. Cyan. u. Bakt., Ber. d. bot. Ges., 1896, XIV, 331. — A. Borzi, Note alla morph. e biol. delle alghi ficocromacee, Estr. d. Nuovo Giorn., Bot. Ital., X.

²⁾ E. W. Olive, Mitotic division of the nuclei of the Cyanophyceae, Beih. Bot. Centralbl. 1904, XVIII, Heft 1.

ist gelöst. Behandlung mit kalter Flußsäure (10–30 Minuten) ist weniger vorteilhaft, da nicht alles Plasma gelöst wird. Die Chromatophoren können gefärbt werden. Zur Färbung dienen am besten Lichtgrün, Säurefuchsin, Gentianaviolett in 1–2% wässriger Lösung, die Färbung dauert 2–4 Stunden. Bei zu langer Färbung färben sich die Zellwände mehr oder minder mit und lassen sich beim Entwässern in Alkohol schwer wieder entfärben.

Paramylon.

Paramylon, $C_6H_{10}O_5$, von Gottlieb¹⁾ 1850 in *Euglena* entdeckt und in größerer Menge dargestellt, soll bei der Hydrolyse Traubenzucker liefern. Seine Bildung ist nicht an die Gegenwart von Chromatophoren gebunden, es entsteht im Cytoplasma und ist wahrscheinlich ein Reservestoff²⁾. In Dauerzuständen wird Paramylon gespeichert. Ein Verbrauch ist beobachtet worden während und kurz nach der Keimung der Dauercysten (*Euglena grac.*), bei Verdunkelung und beim Ergrünen der im Dunkeln gehaltenen Kulturen. (Zumstein, Lit. S. 467.)

Paramylon kommt nicht nur im Cytoplasma der Euglenen vor, sondern auch in Amöben und Cysten von *Leptophrys vorax* (Zopf in Schenks Hdb., 1887, III, 17). Die Paramylonkörner sind meist kurz stäbchenförmig oder flach scheibenförmig, seltener ringförmig (oft 6 μ lang, 3 μ breit). Sie zeigen teils deutliche ringförmige Schichtung, teils wird eine Schichtung erst bei Einwirkung von Quellungsreagentien u. a. (Chlorzink, Kalilauge, Formalin) sichtbar. Ein Schichtungszenentrum fehlt stets. Die Gebilde sind sehr wenig erforscht. Von Jodreagentien werden sie nicht gefärbt; von 5% Kalilauge werden sie augenscheinlich nicht angegriffen, hingegen von 6% Kalilauge unter starker Quellung gelöst. Farbstoffe werden nicht gespeichert (Klebs, Lit. S. 473). Von Schwefelsäure (56% und stärker) werden sie gelöst (Bütschli), von Kupferoxydammoniak erst nach Monaten etwas angegriffen; durch Wasser werden bei 150° geringe Anteile herausgelöst.

Cellulinkörner.

Als Cellulinkörner bezeichnet Pringsheim³⁾ eigenartige Körner in den Schläuchen der Saprolegnien und Achlyen, die bald die Gestalt

¹⁾ J. Gottlieb, Über eine neue mit Stärkemehl isomere Substanz, Ann. d. Chem. u. Pharm., 1851, LXXV, S. 51.

²⁾ W. Khawkinge, Rech. biol. sur l'*Astasia ocellata* et l'*Euglena viridis*, Ann. Sc. nat. Zool., 1885, 6. sér., XIX, S. 238. — O. Bütschli, Beitr. z. K. d. Paramylons, Arch. f. Protistk., 1906, VI, 197.

³⁾ N. Pringsheim, Über Cellulinkörner, eine Modifikation der Cellulose in Körnerform, Ber. d. bot. Ges., 1883, I, S. 288.

rundlicher oder polyedrischer Plättchen besitzen, bald kugelförmig erscheinen und deutlich geschichtet sind. Kern und äußere Schicht scheinen von einer dichteren Substanz gebildet zu werden. Sie geben weder Stärke- noch Eiweißreaktion, lösen sich nicht in Alkohol, in Äther und in Alkalien, unter Deckglas nicht in Kupferoxydammoniak, sind aber leicht löslich in Schwefels. (1 + 1) und in nicht zu verd. Chlorzinklös. Pringsheim betrachtet die Substanz der Körner als eine Zellulosemodifikation, die der Fibrose von Frémy nahesteht.

Dictydinkörner.

Das bläuliche Plasmodium von Dictydium und das grünschwarze von Cribaria besitzen glänzende braunschwarze Körner, die de Bary zuerst auffand und die sich durch eine auffallende Resistenz gegen Säuren und Alkalien auszeichnen. Sie wurden von Jahn¹⁾ als Nebenprodukte des Stoffwechsels betrachtet, Dictydinkörner genannt und sollen den Cellulinkörnern (S. 517) nahestehen. Sie nehmen Farbstoffe aus dem Plasma auf und speichern Farbstoffe (Fuchsin, Gentianaviolett, Safranin, Rutheniumrot). Setzt man nach Fixierung mit Sublimatalkohol Fuchsin und Jodgrün gleichzeitig zu, dann wird das Plasma rot und die Dictydinkörner werden grün. Mit Safranin-Gentianaviolett werden die Dictydinkörner rot, das Chromatin der Kerne erscheint blau. Sie verhalten sich in dieser Hinsicht wie die Vakuolen der ruhenden Myxomycetenkerne. Mit Millon färben sie sich nicht (Plasma wird rot), mit Jod reagieren sie ebenfalls nicht oder (im Gegensatz zum Plasma) doch nur schwach. Kalilauge bringt sie zur Quellung, löst sie aber ebenso wenig wie konz. Schwefelsäure. — Weitere mikrochemische Prüfungen sind erforderlich.

Fibrosinkörper.

Die von Zopf aufgefundenen Fibrosinkörper sollen der Pilzzellulose nahestehen (?) und seien daher hier kurz erwähnt, trotzdem sie ganz ungenau erforscht sind und in neuerer Zeit von Foëx²⁾ eine andere Deutung erfahren haben. Sie kommen (2–8 μ groß) im Cytoplasma der Conidien *Podosphaera oxycanthae* und anderer Erysipheen

¹⁾ A. de Bary, Die Mycetozen (Schleimpilze) II. Aufl., 1884. — E. Jahn, Myxomycetenstudien 1. Dictydium umbilicatum Schrader, Ber. d. bot. Ges., 1901, XIX, S. 97.

²⁾ W. Zopf, Über einen neuen Inhaltskörper in pflanzlichen Zellen, Ber. d. bot. Ges., 1887, V, S. 275. — E. Foëx, Les „Fibrosinkörper“ de Zopf et leurs radiations avec les corpuscules métachromatiques, Compt. rend., 1912, CLV, 661. Sie sollen aus Volutin hervorgehen und bei der Keimung der Conidien verschwinden.

vor und haben eine ganz eigenartige Gestalt (schalenartig, trichter-, zylinderförmig). Es ist angebracht, die Sporen zuvor mit Salpetersäure oder mit Kalilauge aufzuhellen oder sie durch Druck zu isolieren. Nachstehende mikrochemische Reaktionen werden angegeben: Sie sind unlöslich in Alkohol, Äther, Chloroform, Kupferoxydammoniak, Chlorzinkjod, Salpetersäure (selbst nach 48stünd. Einwirkung), kalter Kalilauge, schwer löslich in konz. Schwefelsäure. In heißem Wasser quellen sie zu rundlichen, in warmer Kalilauge zu unregelmäßigen Gebilden auf. Von Jodreagentien und von Osmium werden sie nicht gefärbt, Anilinfarben werden nicht gespeichert.

Elaioplasten und Ölbildner.

Das fette Öl entsteht im allgemeinen im Zellplasma (S. 155). Bei einigen Monokotylen findet es sich an plasmatische Gebilde gebunden, die wir Elaioplasten (Wakker, Lit. S. 116, 1) nennen. Ähnliche Bildungen kommen bei niederen Pflanzen vor, treten regelmäßig bei Lebermoosen auf, bei Diatomeen¹⁾ (auch gefärbt, können Arten und Genera charakterisieren, Lit. S. 483, 2), *Saccharomyces*²⁾ (?) und wurden Ölbildner genannt. Wenn auch zwischen Elaioplasten und Ölbildnern Unterschiede bestehen, so ist doch bei beiden gemeinsam, daß das Fett oder eine fettähnliche Substanz an eine protoplasmatische Grundlage gebunden ist. Wakker hält beide Bildungen für identisch.

Die Elaioplasten sollen durch eine als Degenerationserscheinung zu deutende Aggregation der Leukoplasten entstehen³⁾. Vor dem Absterben der Zellen, oft schon früher, werden sie resorbiert. Ganz junge Elaioplasten 1 mm langer Blütenblätter sollen ölfrei sein⁴⁾. Ausgewachsene Elaioplasten gleichen im Aussehen emulsionsartigen Ölkörpern. Die anormale Plasmolyse (S. 448) zeigt, daß sie im Plasma liegen. Eingehender studiert sind die Elaioplasten von *Vanilla planifolia* (bis 10 μ groß, in der Nähe des Zellkerns in der Epidermis jüngerer Blätter und in den peripheren Teilen jüngerer Triebe), *Ornithogalum pyramidale*, *Funkia coerulescens*⁵⁾, in den Haaren von *Gaillardia*, im Milchsaft einiger Pflanzen (*Homalanthus populneus* u. a., Molisch, Milchs.).

¹⁾ O. Richter, Zur Physiologie der Diatomeen, 2. Mitt., Denkschr. Wien. Ak., 1909, LXXXIV, S. 660.

²⁾ Nach H. Will (Centralbl. f. Bakt., 1895, II, S. 760) sollen die Fetttropfen der Hefe ein Eiweißgerüst besitzen.

³⁾ R. Beer, On Elaioplasts, Ann. of Bot., 1909, XXIII, S. 63.

⁴⁾ W. v. Küster, Die Ölkörper der Lebermoose und ihr Verhältnis zu den Elaioplasten, Dissert. Basel, 1894.

⁵⁾ M. v. Raciborski, Über die Entwicklungsgeschichte der Elaioplasten, Akad. Krakau, 1893 u. Lit. S. 120, 1.

Die Zusammensetzung der Elaioplasten (Eiweiß und Fett) schreibt den mikrochemischen Untersuchungsgang vor. Die Löslichkeitsverhältnisse werden festgestellt, Fett- und Eiweißreaktionen ausgeführt, sowie Färbungen. Das Fett löst sich in Äther, Alkohol, Chloroform, Azeton, Petroläther, Ätherweingeist, auch in Kalilauge und Kalilauge-Ammoniak, jedoch ohne Seifenkristalle zu geben. Es ist unter Deckglas unlöslich in Chloralhydrat ($5 + 2$) und in Eisessig. In konz. Schwefelsäure löst es sich nicht und fließt zuweilen zu größeren Tropfen zusammen. Nach Entfernung des Fettes (auch aus fixierten Elaioplasten läßt sich das Fett leicht herauslösen) gibt das Stroma deutliche Eiweißreaktion (Jod, Salpetersäure, Millon). Die bei Einwirkung verschiedener Reagentien sichtbar werdende, angeblich aus Eiweiß bestehende Hülle soll ein Kunstprodukt sein.

In lebendem Zustande lassen sie sich in 4% Rohrzuckerlös. studieren. Zur Fixierung dienen Osmiums., 1% Chroms., konz. wässer. Pikrins., 1% Essigs. Wakker färbte mit Anilinblau-Alkannin (eine dunkelblaue wässrige Anilinblaulösung wird tropfenweise mit Alkanna-tinktur bis zur dunkelpurpurroten Färbung versetzt), Einwirkung 24 Stunden, Untersuchung in Glyzerin (Kern und Chromatophoren dunkelblau, Plasma hellblau, Fett rot, Elaioplasten dunkelpurpurn). Ferner: Fixierung mit Osmiums., Färbung mit Fuchsin-Jodgrün (ganz dunkle Lösung in 50% Alkohol, Dauer 1—5 Min.), Untersuchung in Glyzerin (Zellkern rötlich-violett, Stroma rötlich, Fett schwarz, v. Küster). Methylgrün-Essigs. färbt die Elaioplasten violett, Zellkerne grün (Zimmermann). Eine verd., mit 1% Essigs. oder 1% Ameisens. versetzte Alkannalös., die man mit Jodgrün vereinigen kann, benutzt Raciborski. Durch den geringen Säurezusatz wird das Stroma genügend fixiert.

Die **Ölbildner** der Lebermoose wurden von den älteren Autoren als Inulin (Schacht), Harz (Gottsche), Wachs u. a. gedeutet (ältere Lit. bei W. Küster). Sie bestehen aus fettem Öl, Wasser und einer plasmatischen Grundsubstanz, kommen (mit Ausnahme der Sporen und der Rhizoiden) in allen Teilen der Lebermoose vor und sind aus Vakuolen hervorgehende Neubildungen (Garjeanne¹). Pfeffer²) spricht sie für Exkrete an, die Stahl (Pfl. u. Schnecken) für Schutzaffen hält. Lohmann³) fand in der Trockensubstanz einiger Lebermoose 2,3—4,3% Rohfett.

Die Ölkörper der Lebermoose (Fig. 120) färben sich mit den gebräuchlichen Farbstoffen (in 50% Alkohol gelöst) und mit Osmium

¹) A. J. M. Garjeanne, Ölkörper d. Jungermanniales, Flora 1903, XCII, 457.

²) W. Pfeffer, Ölkörper d. Lebermoose, Flora 1874.

³) Lohmann, Beitr. z. Chem. u. Biol. d. Lebermoose, Bot. Centrbl., Beih., 1903, XV, S. 248.

leicht. Der Färbung geht vorteilhaft eine Härtung durch Eintauchen in 1% Chromsäure ($\frac{1}{2}$ Min.) oder in 1% Osmiums. voran. Letztere braucht beim nachfolgenden Färben nicht ausgewaschen werden. Überfärbte Präparate werden in 50% Glyzerin ausgewaschen. Etwa anwesender Gerbstoff (Marchantiaceen) ist bei Osmiumbehandlung durch längeres Kochen der Schnitte mit Wasser zu entfernen. Die Ölmassen lösen sich schnell in Petroläther, Azeton, Äther, Chloroform, Xylol, Benzol, Schwefelkohlenstoff, Nelkenöl, Eisessig, Chloralhydrat, Alkohol, auch in 40% Alkohol. In Säuren sind sie unlöslich und geben mit Kalilauge oder Kalilauge-Ammoniak niemals Seifenkristalle (v. Küster, Lohmann). Durch Kochen mit Wasser und Erhitzen auf über 100° verschwinden die Öle nicht (kein ätherisches Öl), anderseits bleiben sie nach Pfeffer bei 5–7° noch flüssig (kein Wachs). Die Hülle der Ölkörper besteht nach Garjeanne wahrscheinlich aus gerbsaurem Eiweiß. Sie läßt sich bei den Jungermanniaceen am besten mit einer konz. wässer. Pikrinsäurelös. härten und bleibt dann nach erfolgtem Lösen des Öles mit verd. Alkohol erhalten. Mit Methyleosin-Gentianaviolett in 50% Alkohol färbt sie sich rotviolett. Sie ist aber ein Kunstprodukt, entstanden aus Gerbstoffen des Zellsaftes und aus Eiweißsubstanzen der Ölkörper. Andrews (Lit. S. 18, 1) benutzt zum Nachweis die Zentrifugalkraft, die spez. schweren Ölkörper sammeln sich in den zentrifugalen Enden der Zellen an.

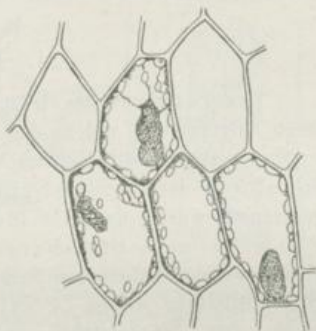


Fig. 120. *Marchantia spec.*
(Flächenschnitt), Ölbildner
(Tunmann).

Elaioplasten und Ölbildner zeigen nachstehende Abweichungen: Das Öl der Ölkörper der Lebermoose ist in Eisessig und Chloralhydrat unter Deckglas löslich, dasjenige der Elaioplasten nicht. Doch wird man diesem Verhalten kein allzu großes Gewicht beilegen können, zumal bei den einzelnen Gattungen Abweichungen in der Zusammensetzung der Öle zu bestehen scheinen. Vielleicht halten die Ölbildner der Lebermoose andere Körper (Kohlenwasserstoffe) im Öle in Lösung. Das Stroma der Elaioplasten läßt sich fixieren und gibt deutliche Eiweißreaktion, das Stroma der Ölbildner nur schwache. Weit größer ist der Unterschied in biologischer Hinsicht. Die Elaioplasten werden vor dem Absterben der Zellen resorbiert, die Ölkörper bleiben unverändert.

Ölartige Gebilde in der Epidermis von Potamogeton-Arten, die Lundström (Bot. Centrbl., XXXV, 177) als Elaioplasten anspricht,

lösen sich nach Lidforss (Lit. S. 449, ²) bereits in 10% Alkohol und führen aromatische Aldehyde (Rotfärbung in den peripheren Zellen von Blattstücken mit Fuchsin-schwefliger Säure). Die von Golenkin (Lit. S. 81, ¹) in *Sebdenia* aufgefundenen Gebilde führen einen anorganischen Körper (Ascheskelett. Kalzium, Oxalsäure, Phosphorsäure fehlen), geben aber an Alkohol, Äther, Chloroform u. Essigsäure keine Bestandteile ab. Die von Berthold (Lit. S. 254, ⁴) in Florideen beschriebenen Gebilde hält Hansen (Lit. S. 475, ¹) für Glykogen, Golenkin für Elaioplasten, da sie sich mit Toluidin-Seewasser färben und in Essigsäure, Äther, 50% Alkohol lösen. Durch Chloralhydrat und Kalilauge treten Tropfen aus, Osmium färbt braun, Jodjodkalium gelbbraun. Tschirch (Handb. d. Pharm., 1910, II, 296) fand in Laminarien wulstig-traubige Gebilde, die der Wand anhängen, bei Zutritt von dest. Wasser ineinanderfließen, platzen und kleine Öltropfen zurücklassen.

Plasmodesmen.

Von Tangl wurden 1879 im Endosperm verschiedener Samen zarte Plasmafäden aufgefunden, welche die Plasmakörper benachbarter Zellen verbinden. Sie wurden später allenthalben auch in den vegetativen Teilen der Pflanzen, meist die Schließhäute der Tüpfel durchziehend, entdeckt, so daß mehrfach die Ansicht ausgesprochen wurde, daß alle Protoplasten einer Pflanze durch Plasmafäden, durch Plasmodesmen (Strasburger), in Verbindung stehen. Die Plasmodesmen dienen wahrscheinlich der Reizleitung (und Leitung der Enzyme?): ob sie der Nährstoffleitung dienen (Pfeffer, Pflz. Phys., 1897, I, S. 97), erscheint noch nicht sicher. Sie entstehen unabhängig von der Zellteilung und werden sehr frühzeitig angelegt (vor Bildung der ersten sekundären Wandlamellen). Mit den ausgesponnenen mittleren Teilen der Zellplattenelemente stehen sie in keinem Zusammenhang. Die Plasmodesmen gehören der Hautschicht des Protoplasten an.

Kuhla¹⁾ verfolgte die Plasmodesmen in der einjährigen Achse von *Viscum album* und gibt eine graphische Darstellung der Verteilung der Tüpfel und Plasmodesmen. Nach den Milchröhren führen Plasmodesmen, nicht aber nach den Interzellularen. Durch die Außenwände der Sezernierungszellen der Epidermaldrüsen gehen nach Tunmann (Lit. S. 222, ⁴) in den Sekretraum ebenfalls keine Plasmodesmen (die Ansicht Pfeffers von der Sekretleitung der Plasmodesmen erscheint fraglich). Bei den Außenwänden der Ranken konnte Pfeffer²⁾ keine Plasmodesmen ermitteln, die von Gardiner in den Außenwänden von *Tamus com.* und *Lilium mart.* angegebenen sind feine Kanäle (de Bary). Bei gepropften Pflanzen wurden Plasmodesmen an der Verwachsungsstelle (*Abies nob.* und *A. pect.*) zuerst von Strasburger³⁾ aufgefunden.

¹⁾ F. Kuhla, Die Plasmaverbindungen bei *Viscum album*, Bot. Ztg., 1900, LVIII, S. 29.

²⁾ W. Pfeffer, Zur Kenntn. d. Kontaktreize, Tübinger Arb., 1881/85, S. 524.

³⁾ Ed. Strasburger, Über Plasmaverbindungen pflanzlicher Zellen, Jahrb. f. wiss. Bot., 1901, XXXVI, S. 493.

Beim Nachweis der Plasmodesmen muß man sich in erster Linie vor Verwechslungen mit Plasmaausfüllungen feiner Tüpfel hüten und darauf achten, daß wirklich Plasmaverbindungen vorliegen, welche die Zellwände oder die Schließhäute der Tüpfel durchbrechen. Im allgemeinen sind die Plasmodesmen ohne weiteres nicht zu erkennen. Ihr sicherer Nachweis hängt von ihrer Stärke und von der betreffenden Zellwand ab. Die Methoden müssen nach den Verhältnissen abgeändert werden. Zur Anwendung gelangen Färbungen, die mit Fixierung und wenn nötig mit Quellungsmitteln verbunden werden.

Sehr leicht sind die Plasmodesmen ohne Anwendung von Quellungsmitteln und ohne Fixierung im starkwandigen Endosperm vieler Samen zu erkennen. Auf alle Fälle sind zarte und entfettete Schnitte zu wählen. An solchen sieht man sie bei *Strychnos*-Arten ohne weitere Präparation. Schärfer treten sie nach Färbungen hervor. Die Schnitte (*Phytelephas*, *Strychnos*, *Physostigma* u. a.) gelangen auf 5–10 Minuten in 0.5% Farbstofflösungen und werden in Glycerin untersucht. Die Plasmodesmen werden deutlich gefärbt und erscheinen als homogene Fäden. Kohl¹⁾ empfiehlt Methylviolett und Safranin „genügend“ lange „in möglichst dünnen Lösungen“ anzuwenden. Benutzt man Jodreagentien, so werden sie gefärbt und gleichzeitig fixiert; man beläßt die Schnitte einige Tage unter Deckglas²⁾ in Jodjodkalium (0.17 J, 0.1 KJ, 20.0 H₂O) oder in Chlorzinkjod. Die Färbung wird verstärkt, wenn man etwas Jod zur Ausscheidung bringt. Moore³⁾ legt Endospermschnitte in alkoholische Jodlösung, die mit Wasser versetzt ist. Die Plasmodesmen erscheinen dunkler gefärbt als die Zellwand. Die Jodausscheidung kann auch durch Chlorzinkjod bewirkt werden (Fig. 121 a).

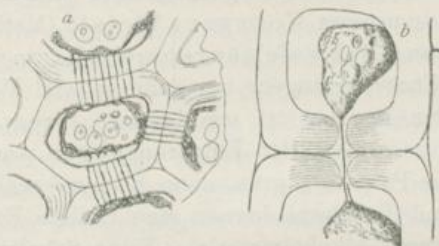


Fig. 121. Plasmodesmen. a) *Strychnos nuxvomica* (Endosperm, frisches Material, entfettet, dann Jodjodkalium-Chlorzinkjod), die Plasmodesmen sind nur zum Teil erhalten; b) *Arctostaphylos uva ursi* (Blattstiel, subepidermales Parenchym), Behandlung nach dem Pyoktanin-Verfahren (Tunmann).

¹⁾ F. G. Kohl, Dimorphismus der Plasmaverbindungen, Ber. deutsch. bot. Ges., 1900, XVIII, S. 364.

²⁾ Ed. Tangl, Über das Endosperm einiger Gramineen, Sitzb. Wien. Akad., 1885, XCII, 1, S. 72.

³⁾ M. Moore, Observations on the continuity of Protoplasm., Journ. Linn. Soc. Bot., 1886, XXI, S. 595.

Zu den leicht sichtbar zu machenden Plasmaverbindungen zählen die der **Siebröhren**. Siebplatten färbte schon Hanstein mit alkoholischer Jodlösung (1:10) und verstärkte die Färbung durch nachfolgenden Zusatz von Chlorzinkjod. Russow¹⁾ gebrauchte zum Plasmodesmen-Nachweis Mischungen von Jodjodkalium mit Chlorzinkjod. Zimmermann (Mikrot. S. 240) färbte Cucurbitaceen nach vorausgegangener Fixierung durch kochendes Wasser und bei Benutzung von Mikrotomschnitten mit Altmanns Säurefuchsin. Strasburger benutzt Alkoholmaterial, fertigt Freihandschnitte und färbt direkt mit Anilinblau. Versuchsobjekte sind *Tilia*, *Vitis*, *Aristolochia*, *Cucurbita*, besonders *Kraunhia floribunda*, die kurze Glieder „und fast senkrecht zu deren Verlauf orientierte Siebplatten“ hat, ein wesentlicher Vorteil. Da diese Methoden bei den Siebröhren meist zum Ziele führen dürften, so ist das Verfahren Gardiners (Lit. S. 444, 3) entbehrlich; es wird eine Lösung von Hofmanns Violett (Methylviolett B. extra, Kahlbaum) in konz. Schwefelsäure verwendet, in welche die Schnitte auf etwa eine Minute gelangen, um dann in viel Wasser ausgewaschen zu werden. Das Reagens ist von brauner Farbe und bräunt die Schnitte in der kurzen Zeit der Einwirkung nur wenig. Beim Auswaschen werden die Präparate grün, dann blau und schließlich behalten die Protoplasten und die Plasmodesmen eine violette Färbung. Zimmermann benutzt hierzu Alkoholmaterial. Feine Schnitte werden auf dem Objektträger mit Fließpapier abgetrocknet, mit einem Tropfen Methylviolett-Schwefelsäure bedeckt und das Deckglas aufgelegt. Nach 1—2 Minuten wird der ganze Objektträger in eine große Schale mit Wasser getaucht, worin er bis zum Violettworden der Schnitte verbleibt. Gewöhnlich wird das Deckglas fortgeschwemmt. Doch bleiben einige Präparate immer am Objektträger haften, die zur mikroskopischen Prüfung herangezogen werden.

Entwicklungsgeschichtlich sind die Siebtüpfel und die Verbindungsfäden bei den Coniferen eingehend untersucht worden. Hill²⁾ fixierte nach Gardiner (s. weiter unten) und färbte mit Safranin und Anilinblau. Im primären Zustande zeigen die Siebtüpfel in der Mittellamelle Pektin und Zellulose, in der Verdickung aber Zellulose. Die Tüpfel werden von Plasmodesmen durchsetzt. Letztere gehen in Schleimfäden über und enthalten Enzyme, welche die Zellulose in Callose überführt. Durch Safranin-Anilinblau werden die Schleimfäden rot, die Callusmassen blau. Doch ist das Alter der Fäden von Einfluß auf die Befunde.

¹⁾ E. Russow, Über die Verbreitung der Callusplatten bei den Gefäßpflanzen, Sitzb. Naturf.-Ges. Dorpat, 1883, VI, S. 63.

²⁾ A. W. Hill, The histology of the Sieve-Tubes of Pinus, Ann. of Bot., 1902, XV, S. 575.

Wesentlich schwieriger gestaltet sich der Nachweis, wenn zarte Plasmodesmen vorliegen und die Zellwände sehr dünn sind. In solchen Fällen müssen neben den Färbungen und der Fixierung auch Quellungsmittel benutzt werden. Nach der Fixierung erscheinen die Plasmodesmen entweder homogen oder stäbig und körnig. Von 1% Osmiumsäure werden die Plasmodesmen völlig homogen fixiert (A. Meyer¹⁾), weniger gut fixiert konz. Jodjodkalium (3.0 J, 3.0 KJ, 20.0 H₂O) und Kaliumwismutjodid²⁾. Hingegen fixiert schwächeres Jodjodkalium (1.0 J, 1.0 KJ, 200.0 H₂O) die Plasmodesmen körnig. Letzteres, das meist benutzt wird, wirkt bei nachfolgender Färbung zugleich als Beize. Wie Jod wirkt konz. Pikrinsäurelösung. Bei Volvox fixiert gut eine 2% Lösung von Chlorgoldnatrium und konz. Salpetersäure mit nachfolgendem Ammoniakzusatz³⁾.

Die Färbungen werden teils durch Jod, teils durch Anilinfarben, Safranin, Methylviolett, Bayrischblau, Hämatoxylin und Pyoktanin bewirkt. Als Quellungsmittel dient vorzüglich Schwefelsäure, die nicht zu konzentriert benutzt werden darf. Als Übungsobjekte benutze man Tangentialschnitte von Samen und des primären Rindenparenchyms zentimeterstarker Zweige unserer Dikotylen. Allgemein gültige Vorschriften lassen sich nicht geben. Die Verfahren müssen von Fall zu Fall mehr oder weniger abgeändert werden. Nachstehend sind von den zahlreich vorgeschlagenen Methoden die hauptsächlichsten angeführt.

Hillhouse⁴⁾ fixiert das Material mit Alkohol, bringt zarte Schnitte auf einige Minuten auf den Objektträger in verd. Schwefelsäure und läßt 20—48 Stunden konz. Schwefelsäure einwirken, ohne das Deckglas aufzulegen. Nach dem Auswaschen mit destilliertem Wasser wird mit Ammoniak-Carmin gefärbt, mit dem Deckglase bedeckt und in Glycerin aufbewahrt. Die Zellwand ist gelöst, von der Interzellularsubstanz sind zuweilen Reste vorhanden. Durch die konzentrierte Säure werden naturgemäß feine Plasmaverbindungen verzerrt und zer-

¹⁾ A. Meyer, *Üb. d. Meth. z. Nachweis. d. Plasmaverbindungen*, Ber. deutsch. bot. Ges., 1897, XV, S. 166.

²⁾ Nach folgender Vorschrift: 80 g. basisches Wismutnitrat werden in 200 ccm reiner Salpetersäure, spez. Gew. 1.8, gelöst und 272 g KJ in wenig H₂O; die Wismutlösung wird langsam und unter Umschütteln in die Jodlösung gegossen, dann wird vom auskristallisierenden Salpeter abfiltriert und im braunen Glase aufbewahrt.

³⁾ A. Meyer, *D. Plasmaverbind. u. d. Membr. v. Volvox globat., aur. u. tert.*, m. Rücks. auf d. tier. Zell., Bot. Ztg., 1896, LIV, S. 188.

⁴⁾ W. Hillhouse, *Einig. Beobacht. üb. d. interzell. Zusammenh. v. Protoplasten*, Bot. Centralbl., 1883, XIV, S. 89.

rissen werden. Bekannt ist die Methode von Russow (Lit. S. 440, 1). Die aus frischem Material hergestellten Präparate werden auf dem Objektträger mit Jodjodkalium (0.2 J, 1.64 KJ, 100.0 H₂O) gut durchtränkt und das Deckglas aufgelegt. Am Deckglasrande wird 1 Tropfen konz. Schwefelsäure mit 3 Tropfen verd. Schwefelsäure (3 + 1 Teil Wasser) zugesetzt und die Säure bis zur Schwarzblaufärbung der Präparate durchgesaugt. Nun wird das Deckglas abgehoben, die Säure ausgewaschen, indem man die Präparate auf dem Deckglase auf 3—5 Minuten in Wasser bringt und schließlich wird mit einer konz. wässer. Lösung von Bayrischblau oder Methylviolett (A. Meyer) gefärbt. Russow gebrauchte ein Anilinblau. Da bei diesem Verfahren auf dem Objektträger gearbeitet wird, so ist die mikroskopische Kontrolle, die unbedingt erforderlich ist, bequem durchzuführen.

Terletzki¹⁾ fixierte die Schnitte im Uhrgläschen mit Jodjodkalium, goß die Lösung ab, füllte auf einige Minuten mit Schwefelsäure (3 + 1 Teil Wasser) auf und färbte nach gutem Auswaschen mit einer konz. Lösung von Anilinblau. Die mikroskopische Kontrolle der Wirkung der Reagentien ist hierbei schwer durchführbar. In ähnlicher Weise verfährt Kienitz-Gerloff²⁾. Seine Jodlösung ist für alle Methoden brauchbar (0.05 J, 0.02 KJ, 15.0 H₂O) und ebenso liefert die von ihm benutzte konz. wässrige Lösung von Methylviolett brauchbare Ergebnisse.

Die Vorteile der Methode von A. Meyer beruhen in der Anwendung einer möglichst verd. Säure, wodurch zu starke Quellung verhütet wird, in der ständigen mikroskopischen Kontrolle und in der Benutzung von Pyoktanin, einem Farbstoff, der beim Bezug zu Verwechslungen keinen Anlaß geben kann. Die Schnitte kommen auf einige Minuten in ein Uhrglas mit Jodjodkalium (0.1 J, 0.1 KJ, 20.0 H₂O) und werden mit einem kleinen Tropfen Jodlösung auf den Objektträger unter Deckglas gebracht. Nun wird am Deckglasrande Jod-Schwefelsäure zugesetzt (1 + 3 Teile Wasser, die Säure wird durch Stehen über etwas Jod mit Jod gesättigt), wodurch das Präparat dunkler gefärbt erscheint, die Quellung der Membran aber sehr gering ist. Jetzt wird in gleicher Weise ein kleiner Tropfen Pyoktaninlösung (1.0 Pyoktanin coeruleum Merck, 30.0 Wasser) zugefügt und die Einwirkung verfolgt. Der Farbstoff dringt gewöhnlich langsam vor, färbt den Rand des Präparates grünlich, die Protoplasten werden fast schwarz.

¹⁾ P. Terletzki, Anat. d. Vegetationsorg. v. Struthiopteris germ. u. Pteris aq., Jahrb. f. wiss. Bot., 1884, XV, S. 452.

²⁾ F. Kienitz-Gerloff, Die Protoplasmaverb. zwischen benachb. Gewebelem. i. d. Pfl., Bot. Ztg., 1891, XLIX, S. 1.

„Man läßt den Farbstoff noch 3 Minuten einwirken und taucht nun Objektträger mit Präparat und Deckglas in eine Schale mit ungefähr 400 ccm Wasser so ein, daß die nicht vom Farbstoff erreichte Partie des Schnittes nach oben gekehrt ist und auch so vom konzentrierten Farbstoff nicht erreicht wird.“ Das Präparat wird schnell abgespült und auf einem anderen Objektträger in Glycerin untersucht (Fig. 121 b und Fig. 122). Von körnigen Niederschlägen kann man den Schnitt durch Abpinseln befreien, hierzu empfiehlt Gardiner Kameelhaarpinsel. Nach völligem Austrocknen können diese Präparate direkt in Kanadabalsam eingeschlossen werden (Membran hellblau, Protoplasma und Plasmodesmen schwarzblau). Man kann auch Methylviolett 5 B (Bad. Sodafabr.), Hofmannsblau (Grübler) und Methylviolett B und 5 B (Bayer, Elberfeld), benutzen. Säureviolett 6 B (Elberfeld) wird ebenfalls empfohlen¹⁾.

Die im Vorstehenden beschriebene Methode wurde von Gardiner²⁾ etwas abgeändert. Bei zarten Geweben erfolgt Tötung und Fixierung mit einer Lösung von 0.1—0.2% J und 0.15—0.25% KJ, bei stärkeren Geweben mit einer Lös. von 0.5% J und 0.75% KJ. Zur Quellung dient bei zarten Objekten (*Chara*, *Mnium undul.*) 1—5% Schwefels., bei *Aucuba japonica* 30% Schwefels. Darauf folgt Beizung mit Jodschwefels. (0.5—0.75% J u. 1.0—1.25% KJ in 5% Schwefels.). Nach Abspülung mit einer Jodschwefels., die 5% Schwefels., 0.1% J u. 0.15% KJ enthält, wird gefärbt. Zur Färbung (10 Minuten) wird ein Gemisch gleicher Vol. von 10% Schwefels. und von 1% oder 5% Pyoktanin oder Gentianaviolett benutzt. Durch Nachbehandlung mit Jodschwefels. kann die Färbung verstärkt werden. Die gefärbten Schnitte lassen sich in einem erwärmten Gemisch von 30 ccm Glycerin, 60 ccm Wasser, 10 ccm 20%ige Zinkchloridlös. und 1 bis 2 Jodsplitterchen fixieren und können in Glyzeringelatine eingeschlossen werden. — Gewebe, die nicht zu quellen brauchen, werden mit dem Kolossowschen Gemisch ($\frac{1}{2}$ % Osmiums. u. 2—3% Uran-nitratlös.) fixiert.

Strasburger (S. 522, ³⁾) bringt die aus lebendem Material hergestellten Schnitte sofort³⁾ auf 5—7 Minuten in eine 1% Osmium-



Fig. 122. *Pelargonium spec.* (Stielzellen einer Drüse), Behandlung mit A. Meyers Pyoktanin (Tunmann).

¹⁾ Th. Wulff, Plasmodesmenstudien, Österr. bot. Ztschr., 1906, LVI, S. 1.

²⁾ W. Gardiner, Methods for the demonstr. of „connecting threads“ in the cell wall, Proc. Cambridge Phil. Soc., 1898, IX, S. 504 u.: Histol. of cell wall with spec. refer. to the mode of connec. of cells, Proc. R. Soc. London, 1898, LXII, S. 102.

³⁾ Wenn die Abtötung der Protoplasten nicht genügend schnell erfolgt, dann reißt oft der sich kontrahierende Protoplast von den Plasmodesmen ab; letztere bleiben in den Membranen nachweisbar.

säure, spült mit Wasser ab, überträgt auf 20–30 Minuten in Russowsche Jodjodkaliumlösung (S. 526 ob.) und läßt die Schnitte dann in 25% Schwefelsäure $\frac{1}{2}$ Stunde bis einen Tag lang quellen. Schließlich wird innerhalb 5 Minuten gefärbt mit „25% mit Jod und einem Tropfen Meyerscher Pyoktaninlösung in Wasser, im Verhältnis 1:30, versetzter Schwefelsäure“. Empfehlenswert ist auch 2stündige Fixierung mit Pikrinschwefelsäure (nach Némec¹⁾: 100 Teile kalt gesättigte wässerige Pikrinsäurelösung, 0.5 Eisessig, 0.5 Schwefelsäure, Quellung in 25% Schwefelsäure und Färbung mit Pyoktanin.

Das Verfahren von Schaarschmidt scheint nicht nachgeprüft zu sein. Die Schnitte des mit Alkohol gehärteten Materials werden unter Deckglas mit wenig Schwefels. (1 + 2 T. Wasser) versetzt (mikroskopische Kontrolle!). Nach gutem Auswaschen mit Wasser wird mit Ammoniak neutralisiert und mit wäss. Eosin- oder mit alkohol. Safraninlös. unter Deckglas gefärbt. Bei Eosinfärbungen sollen die Membranen ungefärbt bleiben²⁾. Eosin wurde auch von Macfarlane³⁾ benutzt (1–2 std. Einwirkung von 25% Schwefels., Auswaschen in Wasser, 1 std. Einwirkung von konz. wäss. Eosinlös. und schnelles Nachwaschen). Durch 2% Eisessig läßt sich die Färbung fixieren. Wenig in Aufnahme gekommen sind die Methoden, welche die Färbungen nachträglich differenzieren. A. Meyer erprobte Hämatoxylin. Die mit Alkohol oder mit Osmiums. gehärteten Schnitte gelangen auf 1 Tag in Hämatoxylin (Delafield), werden einige Minuten in Salzs.-Alkohol (0.5 Salzs., 100 Alkohol 60%) gebracht, nachher in Ammoniak-Alkohol (10 Tropfen offiz. Ammoniak, 100.0 Alkohol 60%) ausgewaschen; schließlich folgt nacheinander absol. Alkohol, Xylol, Kanadabalsam. Die Membran soll zuweilen farblos bleiben, doch sind die Plasmodesmen oft nicht gleichmäßig gefärbt.

Liegt nur mit Formalin (2%) fixiertes Material vor, dann versagen nach Bálint⁴⁾ die bekannten Methoden; er wäscht daher mit 90%, dann mit 70% Alkohol gut aus, färbt mit Säurefuchsin (20 g Säurefuchsin, 3 ccm Anilinöl, 200 ccm dest. Wasser). Dann folgt Auswaschen (15 Minuten) mit Pikrinsäure (1 T. gesättigte Lösung in 96% Alkohol + 2 T. Wasser verdünnt), schließlich Passage mit 96% Alkohol, Benzol-Alkohol, Benzol (jede Flüssigkeit mit wenig Pikrinsäure versetzt) und Einschließen in Benzolbalsam.

Es war bereits betont, daß der Nachweis der Plasmodesmen bei dünnwandigen Membranen nicht leicht ist. So gibt Kny (Lit. S. 440, e)

¹⁾ B. Némec, Über die karyokinetische Kernteilung in der Wurzelspitze von *Allium Cepa*, Jahrb. f. wiss. Bot., 1899, XXXIII, S. 314.

²⁾ J. Schaarschmidt, Kommunikat. v. Protoplast. u. d. Vorkomm. interzellul. Protoplasmas, Ztschr. wiss. Mikr., 1884, I, 301. Mit Eosin färben sich nur die Membranen der Bastfasern von *Carica Papaya*.

³⁾ J. M. Macfarlane, Contr. to the history of *Dionaea muscipula*, Contr. of. Bot. Labor. of Pennsylvania, 1892, I, S. 7.

⁴⁾ S. Bálint, Bot. mikrot. Not., Ztschr. wiss. Mikr., 1910, XXVII, 243.

an, daß er mit den üblichen Methoden keine brauchbaren Resultate erhalten habe, wohl aber zum Ziele gelangt sei bei Benutzung einer mehrere Jahre alten Chlorzinkjodlösung mit Hilfe des Verfahrens von Michniewicz (Öst. bot. Ztschr., 1904, LIV, Nr. 5). Nach diesem werden größere Stücke mit glatter Schnittfläche 5 Minuten in absolutem Alkohol gekocht. Parallel zur Schnittfläche hergestellte Präparate werden in Chlorzinkjodlösung gelegt und untersucht.

Bei den Pilzen wurden die Plasmaverbindungen von Chmielewsky (Justs Jahrb., 1888, S. 299) nachgewiesen nach Fixierung mit Pikrinsäure durch Hämatoxylin-Ammoniak. W. Wahrlich (Anat. d. Zelle b. Pilz. u. Alg., Petersburg, 1892) benutzte Jodjodkalium zum Färben und Chlorzinkjod zum Quellen. Die Chlorzinkjod-Wirkung wurde, wenn nötig, durch Erhitzen der Präparate bis zum Auftreten der ersten Bläschen verstärkt. A. Meyer¹⁾ erzielte bei Volvocineen gute Erfolge mit der Pyoktanin-Methode und bediente sich der Plasmo-lyse (15% Salpeter oder Sirup-Wasser, 1 + 1). Mit den Plasmodesmen der Rot- und Braunalgen beschäftigten sich Hick, Schmitz u. a., besonders Wille²⁾, der sie für sämtliche Zellen der Algen angibt. Cyanophyceen untersuchte Borzi (Le communic. intracell. d. Nostochineae, Malpig., 1886).

Chemotaxis und Chemotropismus.

Eine Anzahl chemischer Substanzen bewirken Reizbewegungen, die bei freibeweglichen Organismen als Chemotaxis, bei nicht freibeweglichen als Chemotropismus zusammengefaßt werden. Die Reizbewegung ist entweder positiv (Anlockung) oder negativ (Abstoßung). Die Chemotaxis spielt im Leben eine wichtige Rolle (bei Befruchtungsvorgängen u. a.). Es war schon lange bekannt (Ehrenberg, Cohn)³⁾, daß auf frei bewegliche Organismen chemische Stoffe einen räumlich orientierenden Reiz auszuüben imstande sind, doch erst die „Bakterienmethode“ Engelmans (S. 64) lenkte die allgemeine Aufmerksamkeit auf diese Tatsachen. Grundlegend wurden die Untersuchungen Pfeffers⁴⁾ und die von ihm eingeführte Kapillarmethode. Einseitig zugeschmolzene Glaskapillaren von etwa 1—1,5 cm Länge, deren lichte Weite von der Größe der zu untersuchenden Organismen

¹⁾ A. Meyer, Plasmaverbind. u. d. Fusionen d. Pilze d. Florideenreihe, Bot. Ztg., 1902, LX, S. 139.

²⁾ N. Wille, Beitr. z. Entwicklungsgesch. d. phys. Gewebesystems b. einig. Florideen, Nova Acta, 1887, LII, S. 61.

³⁾ Ehrenberg, Die Infusionstiere als vollkommene Organismen, 1838, S. 80 u.: F. Cohn, Unters. üb. Bakterien, Beitr. z. Biol. d. Pfl., 1872, I, S. 142.

⁴⁾ W. Pfeffer, Lokomotorische Richtungsbewegungen durch chemische Reize, Unters. Bot. Inst. Tübingen, 1884, I, S. 367 u.: Über chemotaktische Bewegungen von Bakterien, Flagellaten und Volvocineen, ib. 1888, II, S. 648.

abhängt¹⁾, werden unter der Luftpumpe mit der Lösung der zu prüfenden Substanz auf eine bestimmte Strecke hin derart injiziert, daß am zugeschmolzenen Ende noch ein luftgefüllter Raum übrig bleibt. Dieser Raum versorgt die Kapillarlösung mit Sauerstoff und ist besonders bei sauerstoffempfindlichen Organismen von Bedeutung. Beim Füllen der Kapillaren durch Erwärmung würde nicht nur der Sauerstoff verloren gehen, sondern es wären auch Konzentrationsänderungen nicht ausgeschlossen. Die Flüssigkeitssäule in der Kapillare muß mindestens eine Länge von 2 mm haben, wenn man mit Deckglas arbeitet (Lidforss). Die zu prüfenden Organismen kommen auf dem Objektträger in einen Tropfen destillierten Wassers (chemisch rein, frei von Kupfer), dann wird die gefüllte Kapillare hineingebracht (ev. mit dem Deckglase bedeckt) und beobachtet. Handelt es sich um vergleichende Bestimmungen von Schwellenwerten, dann müssen die Organismen möglichst gleichmäßig in der Lösung verteilt sein.

Die zu prüfenden Lösungen werden tunlichst molekular mit destilliertem Wasser hergestellt (ein Gramm-Molekül im Liter) und dann planmäßig verdünnt. Ist das Molekulargewicht der Substanz nicht bekannt, dann bereitet man kaltgesättigte Lösungen. Den Prozentgehalt dieser Stammlösung bestimmt man durch den Verdunstungsrückstand. Man hat darauf zu achten, daß außer dem Reiz, dessen Wirkung ermittelt werden soll, kein weiterer Reiz in Reaktion tritt. Schon Pfeffer hat auf verschiedene Ursachen mechanischer und physiologischer Natur hingewiesen, welche Fehlerquellen bedingen können. Auch Differenzen im Sauerstoffgehalt erzeugen bei sauerstoffempfindlichen Organismen Aerotaxis, die von der festzustellenden Chemotaxis dann nicht zu unterscheiden ist. Man muß in solchen Fällen mit unbedeckten Präparaten arbeiten und die Versuchsdauer auf wenige Minuten beschränken. Konzentrationsdifferenzen, die durch Verdunstung im Kulturtropfen entstehen, können ebenfalls Chemotaxis hervorrufen. Nach Müller²⁾ gilt dies „besonders für die Bestimmungen der Reizunterschiedsschwellen, wo die Außenflüssigkeit den chemotaktisch wirksamen Stoff enthält. Deshalb darf die Versuchsdauer 1 bis 2 Minuten nicht überschreiten“. Durch Verdunstung wird die Konzentration des Außenmediums erhöht, es tritt gleichfalls eine Verschiebung der Reizunterschiedsschwelle ein. Das Arbeiten ohne Deck-

¹⁾ Bei Chytridiaceen-Zoosporen werden Kapillaren mit 67–96 μ , bei Schwärmsporen der Saprolegniaceen mit 105–134 μ , bei Isoetes mit 50–100 μ , bei Bakterien mit 60 μ , bei Marchantia mit 50–150 μ lichtem Durchmesser benutzt.

²⁾ F. Müller, Unters. üb. d. chemotakt. Reizbarkeit der Zoosporen v. Chytridiaceen und Saprolegniaceen, Jahrb. f. wiss. Bot., 1911, XLIX, S. 421.

glas empfiehlt sich bei Objekten mit schwachen Bewegungen, denn durch das wiederholte Anstoßen der Schwärmer an das Deckglas wird die Bewegungsenergie schnell geschwächt.

Die gleiche Substanz kann je nach der Konzentration der Lösung attraktiv und repulsiv wirken. Bei einer gewissen Konzentration schlägt die positive Reaktion (Anlockung) in die negative (Abstoßung) um. Diese kritische Konzentration ist bei den verschiedenen Organismen keineswegs die gleiche. Für die chemotaktischen Reizvorgänge gilt das Webersche Gesetz. Wenn sich die Organismen in der Lösung eines Reizmittels befinden, so kann die Anlockung nur durch ein Vielfaches der Konzentration dieses Reizmittels erfolgen. Als Unterschiedsschwelle wird dann das Verhältnis der Konzentration der Lösung bezeichnet, bei der eben noch eine Wirkung wahrnehmbar ist. Diese grundlegenden Gesetze wurden schon von Pfeffer und Stahl¹⁾ ermittelt.

Seit den Untersuchungen von Voegler²⁾, der auch den Einfluß äußerer Faktoren auf die chemotaktische Reizempfindlichkeit studierte, gehen alle Arbeiten auf Ermittlung der Ionenwirkung ein. Nach Shibata sind bei den Samenfäden der Pteridophyten 3 Kategorien chemotaktischer Sensibilitäten zu unterscheiden: 1. die Sensibilitäten der Apfelsäure und der verwandten chemotaktisch wirksamen Dikarbonsäuren; 2. diejenige für OH-Jonen (nur bei Isoetes); 3. diejenigen für die Kationen (Metall- und H-Jonen) und Alkaloide. Die chemotaktischen Sensibilitäten der 3 Kategorien sind voneinander gänzlich unabhängig, wie der Mangel der gegenseitigen Beeinflussung zeigt.

Erwähnt seien noch die Befunde von Rothert³⁾, der auch den prinzipiellen Verschiedenheiten der von Massart⁴⁾ entdeckten Osmotaxis gegenüber der Chemotaxis nachgeht. Bei verschiedenen Organismen läßt sich die chemotaktische Empfindlichkeit durch Anästhetika aufheben, ohne daß ihre Beweglichkeit beeinflußt wird. Bei den Zoosporen von *Rhizophidium pollinis* wird die Empfindlichkeit durch Alkohol und Äther aufgehoben, nicht durch Chloroform; bei den Zoosporen von *Rh. sphaerotheca* wird schon durch 0.003 Mol. Chloroform und durch 0.042 Mol. Äther völlige Aufhebung erzielt. Chloroform und Äther gelangen in, am besten frisch bereiteten Lösungen

¹⁾ E. Stahl, Z. Biol. d. Myxomyc., Bot. Ztg., 1884, XLII, S. 103.

²⁾ C. Voegler, Beiträge zur Kenntnis der Reizerscheinungen, Bot. Ztg., 1891, XLIX, S. 641.

³⁾ W. Rothert, Beobachtungen und Betrachtungen über taktische Reizerscheinungen, Flora 1901, LXXXVIII, S. 371.

⁴⁾ J. Massart, La sensibilité à la concentration chez les êtres unicellulaires marins, Bull. de l'Ac. Belg., 1891, XXII, S. 152.

(mit Leitungswasser) zur Anwendung (100 g Wasser bei $17^{\circ} + 6.7$ g Äther oder bei $20^{\circ} + 0.72$ g Chloroform). Diese Lösungen werden entsprechend verdünnt. Dann muß mit der großen Flüchtigkeit der Anästhetika gerechnet werden. Rothert¹⁾ benutzt daher kleine kalibrierte Zylindergläschen mit flachem Boden (5 cm lang, 5 mm Durchmesser) mit passenden Korkstopfen. Erst wird die Flüssigkeit mit den Organismen bis zur Höhe von 2 cm eingefüllt (mit Kapillarpipette), dann ebensoviel der Narkotikumlösung von der doppelten der gewünschten Stärke und sofort verkorkt. Der Inhalt wird gemischt, die Gläser werden liegend aufbewahrt. Von dieser Mischung wird ein Tropfen auf den Objektträger gebracht, das Deckglas (durch Deckglassplittchen gestützt) aufgelegt, die beschickte Kapillare eingeschoben und die zentralen Teile des Präparates geprüft. „Außer Narkotika wirken Elektrolyte schon in schwacher Konzentration stark abstumpfend, die Nichtelektrolyte dagegen erst in höherer Konzentration“ (Müller).

Zuweilen bietet die Beschaffung der zu prüfenden Organismen in genügend reinem Zustande und frei von störenden Reizstoffen Schwierigkeiten. Stange²⁾ und Müller arbeiteten nur mit Spezies-Reinkulturen. Ersterer züchtete *Saprolegnia* auf Fliegenbeinen und übertrug diese mit in den Versuchstropfen. Dabei sind Fehlerquellen durch, aus den Fliegenbeinen herausdiffundierende, chemotaktisch wirksame Stoffe (Phosphate, Eiweiß) nicht ausgeschlossen. Müller brachte die infizierten Hyphen seiner Spezieskulturen (darüber Origin., S. 429) mittels der Pinzette auf dem Objektträger in einen Tropfen Wasser, bewahrte diesen mehrere Stunden unter der feuchten Glasglocke bis zur Sporangientleerung auf und prüfte die entlassenen Zoosporen sofort. Für ein Präparat genügen 3–4 große *Pseudopodium*-Sporangien, von denen jedes viele Hundert Zoosporen erzeugt. — Auch die Entleerung der Spermatozoiden kann Schwierigkeiten bereiten. Fujii fand, daß die Mikroprothallien von *Isoetes* unter Reizwirkung gewisser Bestandteile des Leuchtgases sofort ihre Spermatozoiden entlassen. Daher hielt Shibata³⁾ den auf dem Objektträger befindlichen Tropfen Wassers zunächst einige Sekunden über die Mündung eines Kölbchens, das mit Leuchtgas gesättigtes Wasser enthielt. Dann erst werden die *Isoetes*-Mikrosporen eingetragen, die nun die Spermatozoiden entlassen, nun wird die Kapillare eingelegt, mit dem Deckglas bedeckt und beobachtet.

Anschließend einige Literaturbelege, ohne Vollständigkeit anstreben zu wollen. Die Plasmodien der Myxomyceten werden durch

¹⁾ W. Rothert, Über die Wirkung des Äthers und Chloroforms auf die Reizbewegungen der Mikroorganismen, *Jahrb. f. wiss. Bot.*, 1904, XXXIX, S. 1, und: E. Overton, Studien über die Narkose, Jena 1905.

²⁾ B. Stange, Chemotakt. Reizbew., *Bot. Ztg.*, 1890, XLVIII, S. 107.

³⁾ K. Fujii, *Bot. Mag. Tokyo*, XXIV, S. 75. — K. Shibata, Untersuchungen über die Chemotaxis der Pteridophyten-Spermatozoiden, *Jahrb. f. wiss. Bot.*, 1911, XLIX, S. 1.

Loheextrakt (Milchsäure) angelockt, fliehen aber Chlornatrium, Glycerin, Zucker, Salpeter, Kaliumkarbonat (Stahl). Auf Spermatozoiden der Laubmoose wirken (0.001%) Apfel- und Maleinsäure und ihre Salze positiv. Die Samenfäden von Isoetes, Salvinia und Equisetum werden außer von Apfelsäure auch von neutralen Salzen der Bernstein-, Fumar- und Weinsäure angelockt. Alkaloidsalze wirken in verschiedenem Grade positiv, ebenso freie Alkaloide, wenn sie in genügendem Maße wasserlöslich sind (Colchicin) (Shibata)¹⁾. Schwächer wirken einige Farbstoffe (Aurantia, Auramin, Methylviolett, Fuchsin). Für die Spermatozoiden von Lycopodium, die sich Apfelsäure gegenüber ebenso wie die Samenfäden von Marsilia vollkommen indifferent verhalten, ist Zitronensäure das spezifische Chemotaktikum (Bruchmann)²⁾; nach Stange werden die Myxamöben von Chondrioderma difforme und Fuligo varians von Apfel-, Milch- und Buttersäure, Lohedekokt, Asparagin chemotaktisch gereizt, während auf die Zoosporen von Saprolegnia freie Phosphorsäure und Salze dieser stark chemotaktisch wirken. Buller³⁾ zeigte, daß auf die Farnsamensfäden (Gymnogramme Martensii) außer Wein-, Essig-, Ameisen-, Apfel- und Oxalsäure noch Kaliumsalze und Phosphate in relativ hohen Konzentrationen eine mäßig anlockende Wirkung ausüben. Auch die Metallionen von Kalium- und Rubidiums Salzen wirken positiv.

Lidforss⁴⁾ fand, daß die Spermatozoiden der Marchantiaceen durch Proteinstoffe positiv gereizt werden. Erfolge gaben Albumine, Globuline, Nukleoalbumine, Proteide (Hämoglobin, Nuklein), ferner Fermente (Diastase, Ptyalin). Negativ wirkten Tabakdiastase und Alkalialbuminat (jedenfalls infolge schädlicher Beimengungen). Sie werden ferner von Kaliumsalzen (Reizschwelle bei $\frac{1}{1000}$ mol.), Rubidium- und Caesiumsalzen prochemotaktisch gereizt. Åkerman⁵⁾ hat Versuche darüber angestellt, ob die Empfindlichkeit für Proteinstoffe durch Kaliumsalze beeinflusst wird. Dies ist nicht der Fall, denn

¹⁾ K. Shibata, Stud. üb. d. Chemotaxis d. Isoetes-Spermatoz., Jahrb. wiss. Bot., 1905, XLI, S. 561 u.: Üb. d. Chemotaxis der Spermatoz. v. Equisetum, Bot. Magazine, 1905, XIX, S. 79 u.: Stud. üb. d. Chemotaxis d. Salvinia-Sperm., Bot. Mag. Tokyo, 1905, XIX, S. 39.

²⁾ H. Bruchmann, Von der Chemotaxis der Lycopodium-Spermatozoiden, Flora 1909, XCIX, S. 193.

³⁾ R. Buller, Contributions to our knowledge of the physiology of the spermatozoa of ferns, Ann. of Bot., 1900, XIV, S. 543.

⁴⁾ Bengt Lidforss, Über die Reizbewegungen der Marchantiaceen-Spermatozoiden, Jahrb. f. wiss. Bot., 1905, XLI, S. 65.

⁵⁾ Å. Åkerman, Über die Chemotaxis der Marchantia-Spermatozoiden, Zeitschr. f. Bot., 1910, II, S. 94.

wenn die Außenflüssigkeit 0.1% Kaliumnitrat, die Kapillarflüssigkeit aber 0.1% Kaliumnitrat und 0.01% Hämoglobin enthält, erfolgt eine normale Ansammlung in der Kapillare. Natrium- und Kalziumsalze üben keine chemotaktische Reizwirkung aus, Magnesium- und Ammoniumsalze rufen schwache, Salze der Schwermetalle starke Repulsionserscheinungen hervor.

Bei Zoosporen von *Rhizopodium pollinis* bewirken genuine Proteinkörper und Fermente Reizbewegungen, bei Schwärmsporen von *Rh. sphaerotheca*, *Pseudopodium* und *Saprolegnia mixta* außerdem Proteinspaltlinge und bei *Saprolegnia*-Zoosporen noch Phosphat-Jonen (Müller). Die Schwärmsporen von *Chytridium zygnetis* werden durch die beim Absterben der *Zygnema*-Zellen entstehenden Zerfallsprodukte chemotaktisch gereizt (Rosen)¹⁾. — Einige Spaltpilze und Flagellaten werden durch gewisse Metallsalze angelockt (Pfeffer). *Chromatium Weissii* wird durch verd. Lösungen von Schwefelwasserstoff, Ammonium- und Kaliumnitrat und Ammonphosphat angelockt, durch konz. Lösungen dieser Stoffe abgestoßen (Miyoshi, Lit. S. 69, 1). Bei *Spirillum rubrum* und *Bazillus „z“* (aus Erbsendekokt) wirken Ammonium-chlorid, -nitrat, Asparagin, Fleischextrakt, Diammoniumphosphat, Dinatrium- und Dikaliumphosphat positiv. Die letzteren beiden aber nur bei Gegenwart von Säure-Jonen²⁾. —

In sehr lebhafter Bewegung befindliche Organismen kann man zur mikroskopischen Beobachtung im Gesichtsfelde behalten, wenn man auf den Tropfen ein Stückchen Musselin legt und dann erst mit dem Deckglase bedeckt. Die Bewegungen lassen sich auch verlangsamen durch Zusatz einer Lösung von Gummiarabikum (Behrens, Ztschr. wiss. Mikr., 1892, IX, 484) oder von 0.8—1% Gelatine (Jensen, Biol. Centrbl., 1892, XII, 556).

Chemotropismus: Pollenschläuche werden in ihrer Wachstumsrichtung durch Chemotropismus beeinflusst. Zum Studium desselben sind keimende Pollenkörner (völlig reifer Pollen) erforderlich³⁾. Die

¹⁾ F. Rosen, Beitrag zur Kenntnis der Chytridiaceen, 1886, S. 12.

²⁾ H. Kniep, Chem. v. Bakt., Jahrb. wiss. Bot., 1906, XLIII, S. 215.

³⁾ Nach J. Simon läßt sich Pollen längere Zeit aufbewahren, ohne seine Keimkraft zu verlieren. Der den Antheren entnommene Pollen kommt in kleine mit Watte verschlossene Gläschen, welche in ein größeres Glasgefäß gestellt werden, das luftdicht verschließbar ist und auf dessen Boden unter einer Watterschicht sich wasserfreies Chlorkalzium befindet. (Eine neue Methode zur Aufbewahrung von Blütenstaub in befruchtungsfähigem Zustand, Möllers deutsch. Gärt. Ztg., 1910, XXV, S. 11). Hierauf machte schon vorher Pfundt aufmerksam, der zeigte, daß die Lebensdauer des Pollens vom Feuchtigkeitsgehalt der Luft abhängt. Pollen der Herbst- und Frühjahrsblüher zeigen (den Witterungsverhält-

Pollenkörner einiger Pflanzen (*Nicotiana*, *Lobelia*) keimen bereits in Wasser, falls der nötige Sauerstoff zugegen ist. Man kultiviert den Pollen in einem auf dem Objektträger flach ausgebreiteten Tropfen Wasser, bringt den unbedeckten Objektträger in einen dampfgesättigten Raum und stellt von Zeit zu Zeit die Wirkung fest (Lidforss)¹⁾. Überwiegend treibt der Pollen erst in Zucker-Gelatine-Lösung Schläuche. Diese Lösung enthält auf 100.0 Brunnenwasser 1.5% Gelatine und 3–30% Rohrzucker. Die erforderliche Zuckermenge ist für die Pollenkörner verschiedener Pflanzen verschieden. *Lathyrus*-Arten keimen in Gelatinelösungen mit 15, *Ampelopsis hederacea* mit 20–30, Päonien mit 1–20, *Papaver* mit 1, *Narcissus*, *Tulipa* und *Leucojum* mit 2–5% Rohrzucker. Pfundt²⁾ teilt Minima, Maxima, Optima der Rohrzuckerlösungen für die Keimung von über 100 Pollenarten mit. Frisch geernteter Pollen bildet sowohl in verd. als auch in konz. Lösung Keimschläuche, kurz vor dem Absterben aber nur in günstigen Konzentrationen. Ein anderes gutes Substrat, vornehmlich um längere Schläuche zu erzielen, ist Agar. Die Konzentration hängt nach Jost³⁾ von der Beschaffenheit des Agar-Agar ab. Bei einem schwer löslichen, unreinen Agar sind 0.25–0.50% bei einem leicht löslichen, reinen Agar 1% Lösungen zu verwenden. Gute Dienste leistet eine Lösung mit 1% Zucker und 1% leicht löslichem Agar. Hierbei kommt dem Agar die Rolle eines Nährstoffes nicht zu. Förderung des Wachstums wird in einzelnen Fällen durch Zitronensäure bewirkt. Nach Molisch⁴⁾ erfolgt die beste Schlauchbildung bei *Rhododendron* sp. (12 mm lange Schläuche) auf Agar 1%, Zucker 5%, Zitronensäure 0.01%, nach Jost bei *Lilium martagon* auf 1% Agar, 1% Zucker und 0.01% Zitronensäure und bei einer Leguminose wirkt 0.002% Zitronensäure wachstumsfördernd. Lopriore⁵⁾ kultiviert Pollen von *Araucaria* in Birnenabkochung in dunklem Raum bei 25–30°. Pollen von Grami-

nissen angepaßt) nur geringe Empfindlichkeit gegen Luftfeuchtigkeit. Bei einigen Anemophilen keimt nur der spontan ausgestäubte Pollen, nicht aber der den geschlossenen Antheren entnommene (Elfing, Stud. üb. d. Pollenk. d. Angiospermen, Jen. Ztschr. f. Naturw., 1879, S. 1).

¹⁾ B. Lidforss, Biol. d. Poll., Jahrb. wiss. Bot., 1896, XXIX, S. 1.

²⁾ M. Pfundt, Einfluß d. Luftfeuchtigkeit auf d. Lebensdauer d. Blütenstaubes, Jahrb. wiss. Bot., 1910, XLVII, S. 1.

³⁾ L. Jost, Selbststerilität einiger Blüten, Bot. Ztg., 1907, LXV, S. 77 u.: Phys. d. Pollens, Ber. deutsch. bot. Ges., 1905, XXIII, S. 504.

⁴⁾ H. Molisch, Zur Physiologie des Pollens, Sitzb. Wien. Akad., 1893, CII, S. 423.

⁵⁾ G. Lopriore, Vielkernigkeit der Pollenkörner u. Pollenschläuche, Ber. deutsch. bot. Ges., 1905, XXIII, S. 335.

neen, *Corydalis cava* u. a., die empfindlich gegen Flüssigkeiten sind, werden auf Pergamentpapier ausgesät und in die feuchte Kammer gebracht (Jost). Es ist bisher in Kultur nur gelungen kurze Schläuche zu erzielen, niemals so lange, wie sie, selbst bei sehr kurzen Griffeln, zur Befruchtung nötig sind.

An wachsenden Pollenschläuchen läßt sich nun der Chemotropismus studieren. Pollenschläuche der *Digitalis*-Arten, von *Epilobium angustif.*, *hirsutum*, *Oenothera biennis*, *glauca*, *grandiflora*, *Primula chinensis* werden durch Trauben-, Rohr-, Frucht-, Milhzucker, 2% Dextrin¹⁾ (*Saccharochemotropismus*), durch Narbenstücke der betreffenden Pflanze²⁾, selbst durch vegetative Teile anderer Pflanzen (Querschnitte von *Allium*-Wurzel) angelockt³⁾. In letzteren wirken die Proteine (es wirken nämlich: Diastase [frei von anorganischen Salzen], Albumin aus Eigelb, Konglutin und Globulin aus Pferdeblut, Kasein, Parakasein, Vitellin aus Eigelb, Alkalialbuminat u. a.⁴⁾, Protochemotropismus). Pflanzenstücke werden dem Kulturtropfen mit wachsenden Pollenschläuchen aufgelegt, der Objektträger wird an einen dunklen und feuchten Ort gebracht. Die anderen Reagentien wurden früher mit einer Kapillare dem Kulturtropfen zugeführt; jetzt bringt man (bei Gelatinekulturen) von den Proteinen, die sich sehr langsam lösen, ein kleines Körnchen auf die erstarrte Pollenkultur. Für Zuckerarten wird in der Kultur eine Vertiefung angebracht. Man bringt auf den mit Pollen besetzten Kulturtropfen eine Glasperle, die nach einiger Zeit vorsichtig abgehoben wird. Die Vertiefung des erstarrten Tropfens wird mit der betr. Zuckerlösung angefüllt. Man kann die, durch den zentrifugal diffundierenden Zucker bewirkten, chemotropischen Krümmungen mikroskopisch verfolgen.

Bei Pilzhypen wurde Chemotropismus 1873 von Pfeffer vermutet. J. Wortmann (Bot. Ztg., 1887, XLV, 812) und A. Fischer (Jahrb. wiss. Bot., 1882, XIII, 304) stellten bei jungen Schläuchen von *Saprolegnia* Krümmungen nach geeigneten Nährstoffen (Fliegenbeinen, Insektenlarven) fest. M. Büsgen (Bot. Ztg., 1893, LI, 53) führte das Eindringen der Hypen in die Nährpflanze auf chemische Reize zurück. Grundlegend wurden die Arbeiten von Pfeffer u. Miyoshi⁵⁾.

¹⁾ M. Miyoshi, Chemotr. d. Pilze, Bot. Ztg., 1894, LII, S. 1 u.: Reizbew. d. Pollenschläuche, Flora 1894, LXXVIII, S. 76.

²⁾ H. Molisch, Ursachen der Wachstumsricht. b. Pollenschläuchen, Sitzb. Wien. Akad., 17. I. 1889.

³⁾ B. Lidforss, Chemotropismus der Pollenschläuche, Ber. deutsch. bot. Ges., 1899, XVII, 236 u.: Reizbew. d. Pollenschläuche, Ztschr. f. Bot., 1909, I, 443.

⁴⁾ Die Spaltlinge der Eiweißkörper sind wirkungslos.

⁵⁾ W. Pfeffer, Abh. Kgl. Sächs. Ak., 1893 u.: M. Miyoshi, Chemotr. d. Pilze, Bot. Ztg., 1894, LII, 1 u.: Durchbohrung v. Membranen d. Pilzhypen,

Miyoshi injizierte *Tradescantia*-Blätter mit 4% Rohrzuckerlösung, säte die Pollenkörner von *Digitalis purpurea* mit einem Pinsel gleichmäßig auf die spaltenführende Blattunterseite und brachte die Blätter auf 12 bis 20 Stunden in einen feuchten dunklen Raum. Die Pollenschläuche sind dann stark nach den Spaltöffnungen abgelenkt und wachsen, meist zu mehreren, durch die Spalten ins Blattgewebe hinein. Es lassen sich zu diesem Versuche auch durchlochte Kollodiumhäute benutzen (s. unt.).

Benutzt werden frisch geerntete Sporen aus Reinkulturen von *Mucor*-Arten, *Phycomyces*, *Penicillium*, *Aspergillus* (unter Glasglocke auf sterilisiertem, mit 2% Rohrzuckerlös. getränktem Schwarzbrot gezogen), *Saprolegnia* u. a. Als Membranstücke dienen dünne Glimmerplättchen (10:15 mm), Kollodiumhäute (Kollodium mit etwas Mandelöl versetzt, zur Erzielung geschmeidiger Häute), die mit einer sehr feinen Nadel durchstochen werden und die abgezogene spaltenführende Oberhaut der Zwiebelblätter von *Allium cepa*, sowie lebende Blattstücke (*Tradescantia discolor*, *procumbens*); letztere werden mit der betr. Lösung unter der Luftpumpe injiziert, bis sie durchscheinend werden, mit Wasser abgespült und mit Fließpapier abgetrocknet. Die Membranstücke gelangen auf eine mit dem Reizstoff versehene Gelatinemasse, auf ihrer Oberseite werden mit einem feinen Pinsel die Sporen ausgesät. Man kann auch die Sporen in Gelatine suspendieren und die sporenführende Gelatinemasse der Oberseite der Häute (der spaltenführenden Blattseite) auftragen. Die Keimung erfolgt in einem dampfgesättigten Raum (Belichtung ist ohne Einfluß). Der Reizstoff diffundiert langsam¹⁾ durch die künstlichen oder natürlichen Spalten und wirkt auf die wachsenden Schläuche. Chemotropismus erfolgt nach 14—24 Std., bei *Saprolegnia* nach 6—13 Std. Positiv wirken 2% Rohr- und Traubenzucker, Dextrin, Pflaumendekokt, 2% Fleischextrakt (infolge seines Phosphatgehaltes), Lezithin, Pepton, Ammonphosphat. Negativ wirken alle freien anorganischen und organischen Säuren, Alkalien, Alkohol, einige Salze (weinsaures Kalium-Natrium, Kalisalpeter, Kaliumchlorat, Magnesiumsulfat). Einige Stoffe (1—2% Glyzerin oder Gummiarabikum) sind wirkungslos. Einige der besten Lockmittel haben kleine Schwellenwerte, sehr kleine Mengen (0.01% Traubenzucker und 0.05% Ammoniumnitrat für *Mucor*-Arten, 0.005% Fleischextrakt für *Saprolegnia*) bewirken bereits deutliche Reizerscheinungen. Traubenzucker wirkt bei *Mucor stolonifer* bereits in 0.01% Lösung deutlich, erreicht den Höhepunkt der Wirkung in 2 bis

Jahrb. f. wiss. Bot., 1895, XXVIII, 271. Die Untersuchungen von Miyoshi konnte in neuerer Zeit Fulton nicht bestätigen (Bot. Gazette, 1906, XLI, 81).

¹⁾ Bei zu schneller Diffusion empfinden die Hyphen keine Konzentrationsdifferenz.

5% Lösung, bei 30% ist die Wirkung nur noch schwach und bei 50% negativ.

In einfacher Weise kann man Pilzsporen auf eine sterile 5% Gelatineschicht aussäen und nach der Keimung eine kleine Menge Traubenzucker auf die Gelatineschicht bringen. Der Zucker löst sich langsam, von seiner Lagerungsstelle aus verbreitet sich ein Diffusionsstrom, nach dem sich die wachsenden Schläuche hin krümmen. Reinhardt¹⁾ legte der Gelatinekultur von *Pezizahyphen* seitlich ein Gelatinestückchen mit höherem Zuckergehalt an. Die meisten Hyphen bogen unter rechtem Winkel in die zugesetzte Gelatine ein.

Da die wachsenden Hyphen (*Penicillium glaucum*, *Botrytis cinerea*) membranlösende Enzyme ausscheiden, so kann man auch spaltenfreie Epidermen (*Allium*) und undurchlochte Kollodiumhäute, deren Dicke nicht 0.5 mm übersteigen darf, benutzen. Man trägt die mit dem Reizstoff versehene Nährgelatine (3% Gelatine, 2% Rohrzucker) in 2–3 mm hoher Schicht auf ein Deckgläschen auf, bedeckt mit dem Kollodiumhäutchen, auf dessen Oberseite in nährstoffarmer Gelatine die Sporen ausgesät werden. Die Ausführung auf einem Deckgläschen gestattet die Betrachtung des Präparates auf beiden Seiten. Nach 2–4 Tagen haben die Hyphen die Membranen durchbohrt.

IV. Die Zellmembran.

Die pflanzlichen Zellwände bauen sich aus verschiedenen chemischen Substanzen auf, unter denen die Polysaccharide an erster Stelle stehen. Zellwände, die frei von Polysacchariden sind, treten seltener auf (Chitinmembran, Suberinlamellen). Von den Polysacchariden kommt in den Membranen nur selten ein einziger Vertreter vor. Meist treffen wir Vertreter verschiedener Gruppen gleichzeitig an. Doch bezeichnet man in der Mikrochemie eine Membran nach derjenigen Substanz, die für die mikrochemischen Reaktionen bestimmend ist. Wenn daher von „Zellulosemembranen“ die Rede ist, so wird damit ausgedrückt, daß die betreffende Zellwand in erster Linie typische Zellulosereaktion gibt.

Die Membranen werden oft von anderen Stoffen durchtränkt. Die auf Wanderung begriffenen Körper (Glykosen, Fettseifen) hat man bisher noch nicht mit Sicherheit in der Membran ermittelt. Viele organische Stoffe (Gerbstoffe, Farbstoffe u. a.) werden von der Membran gespeichert. Vor der mikrochemischen Bestimmung der Membran müssen diese Körper unter Umständen entfernt werden. Von anorganischen Stoffen treffen wir vorzugsweise Kalium- und Kalziumsalze und Kieselsäure an. Der Gehalt an gespeicherten Salzen ist oft so groß, daß bei vor-

¹⁾ M. O. Reinhardt, Das Wachstum der Pilzhypen, Jahrb. f. wiss. Bot., 1892, XXIII, S. 528.