

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.

sichtigem Glühen der Präparate ein „Aschenskelett“ zurückbleibt, das trocken unter Deckglas betrachtet, die Konturen der Zellen zeigt. Das Aschenskelett ist zum Teil in Wasser löslich und enthält neben Kalziumsalzen (S. 115) vorwiegend Kaliumverbindungen (S. 106), in bestimmten Fällen Kieselsäure (S. 100).

Alle Membranen, selbst die jugendlichen, sind infolge der Anordnung ihrer Micellen (Naegeli) doppelbrechend; wahrscheinlich bestehen Beziehungen zwischen den optischen Elastizitätsachsen und der Quellungsrichtung.

Trotz mancher Fortschritte ist die Membranchemie¹⁾ nicht völlig geklärt (zumal bei verschiedenen makrochemischen Untersuchungen offenbar Inhaltsstoffe mit verarbeitet worden sind), so daß hier nur eine mikrochemische Charakteristik der hauptsächlichsten Pflanzenmembranen gegeben werden kann. Einleitend soll in Kürze auf die Methoden zur Erforschung des Wachstums der Membran und ihrer feineren Struktur eingegangen werden.

An der Bildung der jugendlichen Membran scheint sich der Zellkern zu beteiligen. Die Ansichten hierüber sind noch strittig. Klebs sagt: „ohne Kern keine Membranbildung“ und Haberlandt weist darauf hin, daß der Kern sich oft an der Stelle einseitiger Wandverdickung befindet. Nach Palla sollen an kernfreien Plasmastücken ebenfalls Membranbildungen auftreten, ein Befund, den Pfeffer und Townsend auf feine Plasmastränge zurückführen. Strumpf stellt die Bedeutung der Kerne bei der Membranbildung ganz in Abrede. Auffallend ist aber die Tatsache, daß bei vermehrter Zellulosebildung die Kerne sich häufig durch ihre Größe auszeichnen und amitotische Zustände zeigen (Mykorrhizen bei Orchideen, W. Magnus, Zellulosebalken im Embryosack, Tischler, Buscalioni).

Die Entwicklungsgeschichte der Zellplatte ist aufgeklärt. Die ersten Anfänge der Zellplatte bei der Zellteilung sind als äquatoriale Anschwellungen der Verbindungsfäden der Tochterkerne zu erkennen. Die Verbindungsfäden ziehen sich von den Tochterkernen auf den Äquator zurück und nehmen dort an Zahl zu. Die Elemente der Zellplatte verschmelzen bald zu einer kontinuierlichen Lamelle. Die Verschmelzung wird durch die gleiche Substanz bewirkt, aus der die Zellplattenelemente bestehen. Die einzelnen Elemente zeigen zunächst eine stäbchenförmige Anordnung. Die Entwicklung läßt sich nach Strasburger²⁾ gut an mit Flemming fixierten und mit Safranin-Gentianaviolett-Orange G gefärbten Präparaten verfolgen. Die Anschwellungen werden wie die Verbindungsfäden violett, das übrige Cytoplasma braun. Bei fortschreitender Entwicklung der Zellplatte nimmt in gefärbten Schnitten die violette Farbe ab und weicht schließlich der

¹⁾ Eine Einteilung der pflanzlichen Membranstoffe hat Tschirch gegeben (Handb. d. Pharm., 1912, II, 224).

²⁾ E. Strasburger, Die pflanzl. Zellhäute, Jahrb. f. wiss. Bot., 1898, XXXI, S. 511.

braunen Färbung des Cytoplasmas. Die auf diese Weise entstandene Hautschicht spaltet sich und in der Spaltungsfläche erscheint eine Trennungsmembran aus Zellhautstoff (Studienobjekte: Pollenmutterzellen von *Lilium*-Arten, von *Alstroemeria chilensis*, *Larix europaea* und Sporen-mutterzellen von *Psilotum triquetrum*). Die Zellhautstoffe sind somit Produkte des Protoplasmas; diese „werden, um Zellhäute zu bilden, entweder auf der Oberfläche des Protoplasten ausgeschieden, oder verbleiben im Innern des Protoplasten, um dort mannigfache Ausgestaltung zu erfahren. In manchen Fällen (Massulaanlagen von *Azolla*) wird eine gegebene Cytoplasmamasse nachweisbar ohne sichtbaren Rest in Membranstoff verwandelt“ (Strasburger).

Es ist daher naheliegend, daß man in den Zellhäuten nach Eiweißsubstanzen suchte und besonders Wiesner¹⁾ nahm Protoplasma in der Membran an und gab Eiweißreaktionen für meristematische und ausgewachsene Gewebe, Krabbe²⁾ für Sklerenchymfasern an. Krasser³⁾ suchte die Ansicht mit der Alloxanmethode (S. 417) zu stützen. Klebs, A. Fischer⁴⁾ und Correns (Lit. S. 416, 2) verneinen einen Eiweißgehalt der Membran. Mit Millon (kalt) werden alle unverholzten Membranen der Bromeliaceen rot, nur jugendliche Wände reagieren nicht. Der reagierende Stoff ist gleichmäßig verteilt, besonders aber in der Mittellamelle. Die Reaktion tritt auch in Schnitten ein, die 6 Tage mit Glycerin-Pepsin oder -Pankreatin (zur Lösung des Eiweiß) behandelt waren. A. Fischer, Correns und Saito nehmen Tyrosin an. Krasser hatte jedoch vor der Behandlung mit Millon die Schnitte mit Wasser ausgekocht. Der reagierende Stoff ist noch unbekannt und jedenfalls kein Eiweiß, wahrscheinlich auch kein Tyrosin. Besonders in der Mittellamelle liegen noch unbekannte (aromatische) Körper vor. Wo Schwefelsäure verholzte Wände rötet, da beginnt die Färbung in der Mittellamelle, um von dort auf die anderen Lamellen überzugehen.

Hierzu sei ein Befund von Aisslinger⁵⁾ erwähnt, der an der Spitze der Fasern von *Crotalaria juncea*, *Parkia africana* und *Pueraria*

¹⁾ J. Wiesner, *Organis. d. vegetab. Zellhaut*, Sitzb. Wien. Ak., 1886, XCIII 1, Sep. u.: Nachweis der Eiweißkörper, *Ber. d. bot. Ges.*, 1888, VI, 187.

²⁾ G. Krabbe, *Veg. Zellmembran*, *Jahrb. f. wiss. Bot.*, 1894, XXVI, 637.

³⁾ F. Krasser, Lit. S. 417 u.: *Mikrochem. Nachweis von Eiweiß in d. pfl. Zellhaut*, *Bot. Ztg.*, 1888, XLVI, 209.

⁴⁾ G. Klebs, *Krit. Bem. z. Arb. von Wiesner*, *Biol. Centralbl.*, 1886, VI, 449 u.: *Bem. z. Arb. v. Krasser*, *Bot. Ztg.*, 1887, XLV, 697. — A. Fischer, *Z. Eiweißreakt. d. Zellmemb.*, *Ber. d. bot. Ges.*, 1887, V, 423 u. 1888, VI, 113.

⁵⁾ H. Aisslinger, *Beitr. z. Kenntn. wenig bekannter Pflanzenfasern*, Diss. Zürich 1907, S. 45.

thunbergiana fand, „daß zuweilen die Verdickungsschichten sich nicht lückenlos aufeinanderlegen, sondern freie Räume zwischen sich lassen, in denen sich zuweilen Plasma findet“. Mikrochemische Einzelheiten fehlen. Weitere Prüfungen in dieser Richtung sind anzuraten. Wahrscheinlich eignet sich hierzu eine entwicklungsgeschichtliche Untersuchung der sog. Doppelhaare¹⁾.

Die oben erwähnten aromatischen Einlagerungen in unverholzten Membranen lassen sich durch die Diazo- und Nitritreaktion von Raciborski²⁾ nachweisen, Reaktionen, die an einem großen Material systematisch erprobt werden sollten. Die Nitritreaktion ist eine Umkehrung der Diphenylamin-Schwefelsäure-Reaktion (S. 82). Die Schnitte gelangen in 10 % Natriumnitrit, dann auf höchstens 1 Min. in 10 % Schwefelsäure und schließlich in 10–20 % Natriumkarbonat. Der vorzugsweise in der Mittellamelle entstehende Farbstoff ist haltbar, in Alkohol unlöslich und läßt Anfertigung von Dauerpräparaten zu. Umständlicher ist die Diazoreaktion, weil die Herstellung einer frischen Diazolösung³⁾ jedesmal erforderlich ist. Bei dieser werden die Präparate in einem Uhrgläschen in etwa 10–20 % Natriumkarbonat gebracht und einige Tropfen Diazolösung aufgetropft. Auch hierbei entsteht die Färbung sofort, ist haltbar und gut lokalisiert.

Die Anwesenheit von Plasma in der Zellwand hat Wiesners Dermatosomentheorie (Lit. S. 540, 1) zur Voraussetzung. Die Hauptmasse der Zellwand soll aus kleinen, runden organisierten Gebilden bestehen (Dermatosomen), die, so lange die Zellwand wächst, durch feine Plasmastreifen verbunden sind. Die Dermatosomen, die aus Mikrosomen des Protoplasmas (Plasomen) hervorgehen sollen, weist er mit dem „Zerstäubungsverfahren“ nach. Die Objekte werden auf 24 Std. in einer 1 % Salzsäure belassen und nach Absaugen der anhaftenden Flüssigkeit auf 50–60° (kleinere Objekte auf 30–50°) erwärmt. Durch leichten Druck lassen sich dann die Membranen in ein höchst feines Pulver zerreiben. Versuchsobjekte sind: Lein-, Hanf-, Jutefasern, meristematische Gewebe, Holz (Tilia, Pinus), Parenchym (Kartoffel, Holundermark). Die Zerstäubung bei dem

¹⁾ H. Solereder, Deckhaare d. Pimentfr. u. d. Myrtaceen, Arch. d. Pharm., 1907, CCXLV, S. 410 u.: O. Tunmann, An. Unt. von Eugenia apiculata m. bes. Berücks. d. Sekretbeh. u. Trichome, Pharm. Zentralh., 1909, L, S. 894.

²⁾ M. Raciborski, Beiträge zur botanischen Mikrochemie, Bull. de l'Acad. de Cracovie, 1906, S. 553.

³⁾ Die Lösung hält sich nur wenige Stunden, Raciborski gibt folgende Vorschrift: „etwa 0.2 g p-Nitroanilin (oder Sulfanilsäure oder eine der Naphthylaminsulfosäuren) wird mit etwas größerer Menge Salzsäure versetzt. Dazu wird dann Wasser zugesetzt, mit Eisstücken gut gekühlt, und schließlich wird dazu unter fortwährendem Rühren soviel Natriumnitritlösung zugesetzt, bis die Probe auf Jodkalistärkepapier eben die blaue Jodreaktion liefert. Die Lösung soll mit Natriumkarbonat keine rote Reaktion geben“.

starkwandigen Endosperm von *Phytelephas* gelingt erst nach monatelanger Salzsäurebehandlung, gar nicht bei Hyphen verschiedener *Polyporus*-Arten und beim Kork. Die Zerfallsprodukte verholzter Membran geben Ligninreaktion, die von Zellulosemembranen Zellulosereaktionen. — Diese Theorie hat wenig Zustimmung gefunden. Pfeffer (Energetik, Sächs. Ak. Abh., 1892, XVIII, 151) konnte künstliche Zellulosehäute (Kollodium) in Dermatosomen zerlegen. Die Dermatosomen hält Fischer für Zertrümmerungsprodukte, Zimmermann für die dichtesten Partien der Membranen, Correns für vorgebildet.

Die pflanzlichen Membranen wachsen durch Intussuszeption und durch Apposition. Beim Studium über das **Wachstum** der Zellwände ist es vorteilhaft die neugebildeten Membranlamellen von den älteren mit Sicherheit unterscheiden zu können. Hierbei muß naturgemäß in erster Linie dafür gesorgt werden, daß die Lebenstätigkeit der membranbildenden Zellen nicht gestört wird. Das kann auf verschiedene Weise erreicht werden.

So läßt sich Neubildung von Membranen bei jenen Pflanzen beobachten, bei denen der Plasmakörper nach erfolgter Plasmolyse durch konz. Zuckerlösung nicht zugrunde geht¹⁾. Das beste Versuchsobjekt ist *Vaucheria*²⁾; hier tritt in 10 % Glykoselösung Neubildung der Zellhaut bereits innerhalb 1 Stunde ein. Weitere Objekte bilden *Zygnema*-, *Mesocarpus*-, *Oedogonium*-Arten. Die Blattzellen von *Funaria* und *Helodea* brauchen 8—10 Tage zur Neubildung. Gute Resultate liefern gekochte und filtrierte Lösungen von 16—20 % Rohrzucker und 10 % Glykose, in denen sich Pilze und Bakterien zu langsam entwickeln, um störend zu wirken. Zusatz von 0.01 % Kongorot³⁾ zur Zuckerlösung läßt die neugebildete Wand gleich bei der Entstehung scharf hervortreten. Der Farbstoff stört nicht die Lebenstätigkeit der Zellen, fördert das Dickenwachstum und bringt das Flächenwachstum zum Stillstand.

In ähnlicher Weise wurden von Noll (Lit. S. 482, 2) bei Meeresalgen Eisenfärbungen der Membran erzeugt, ohne die Lebenstätigkeit der betreffenden Algen zu schädigen. Die bei weiterer Kultur sich neubildenden Membranen sind farblos und die ursprünglich gefärbten nehmen bei weiterem Wachstum durch Intussuszeption eine hellere Färbung an. Die Algen gelangen auf einige Sek. in eine Mischung von 1 Seewasser + 2 Süßwasser, dem soviel Ferrocyankalium zugefügt

¹⁾ G. Klebs, Beitr. z. Phys. d. Pflanzenzelle, Unt. bot. Inst. Tübingen, 1888, II, 489.

²⁾ Schon von E. Strasburger benutzt (Stud. üb. Protoplasma, Jen. Ztschr. f. Naturw., 1876, X, 415).

³⁾ Kongorot wurde bei *Chara foetida* (Rhizoiden) u. *Lepidium* (Wurzeln) von Zacharias benutzt (Wachst. d. Zellhaut b. Wurzelhaaren, Flora, 1891, LXXIV, 467), Einwirkung 30 Min.

ist, daß das spezifische Gewicht der Mischung dem des Seewassers gleicht (1.026). Die Algen werden darauf durch reines Seewasser gezogen und kommen auf 2 Sek. in ein frisch bereitetes Gemisch von 2 Seewasser + 1 Süßwasser nebst einigen Tropfen Eisenchlorid. Das Verfahren kann zur Erzeugung stärkerer Farben einige Male wiederholt werden. Alle Membranschichten sind jetzt gleichmäßig durch Berlinerblau gefärbt. Doch verschwindet die Färbung durch Alkaliausscheidung allmählich, läßt sich aber durch Eintauchen der Algen in eine mit Salzsäure angesäuerte Lösung von Ferrocyankalium wiederum hervorrufen. — Mit Ferricyankalium und milchsaurem Eisenoxydul läßt sich Turnbells Blau speichern.

Viele Membranen zeigen keinen homogenen Aufbau, sondern lassen bei genauer Betrachtung **Differenzierungen** mehr oder weniger ohne weiteres erkennen. Bei geschichteten Membranen heben sich die einzelnen Schichten durch ihr verschiedenes Lichtbrechungsvermögen scharf voneinander ab. Besonders klar tritt der Membranaufbau an Mikrotomschnitten hervor ($5\ \mu$ Dicke, Strasburger). Bei Einwirkung von Quellungsreagentien (Alkalien, Chloralhydrat, Jodquecksilberjodkalium, Chromsäure) zeigen manche Schichten, daß sie aus feinen Lamellen bestehen. Außer Schichtung unterscheidet man spirale Streifung und Querlamellierung, die sich durch die genannten Reagentien ebenfalls deutlicher (oft allerdings nur vorübergehend) sichtbar machen lassen. Die Differenzierungen können nach Correns (Lit. S. 497, 3), begründet sein: in der Membransulptur, in einem sprungweise wechselnden Wassergehalt der Streifen und Schichten bei gleicher chemischer Zusammensetzung, bei gleichem Wassergehalt in chemischer Verschiedenheit und schließlich in einem ungleichen Wassergehalt und in chemischen Abweichungen.

Membrandifferenzierungen, die nur auf ungleichem Wassergehalt beruhen, müssen sich durch Austrocknen der Objekte zum Schwinden bringen lassen. Durch wasserentziehende Reagentien (absoluter Alkohol) läßt sich die Feuchtigkeit nicht vollständig entziehen, das Austrocknen muß im Trockenschrank bei $60-100^{\circ}$ vorgenommen werden. Bei der Austrocknung tritt zuweilen eine Gestaltsveränderung ein. Die Wirkung des Austrocknens wird an Vergleichspräparaten festgestellt, die entweder trocken unter Deckglas gebracht oder in Kanadabalsam untersucht werden, welches nahezu den gleichen Brechungsindex wie die Zellwand besitzt. Correns benutzt zum Nachweis Silber- und Eisensalze. Diese werden von den wasserreichen Schichten am reichlichsten aufgesaugt. Die aufgenommenen Metalle werden fixiert. Versuchsobjekte: mit Wasser ausgewaschene Bastfasern von Nerium und Vinca. Versilberungsverfahren S. 497 (2 % Silbernitrat, leicht abtrocknen, 0.75

Kochsalz, Wasser, Belichtung). Berlinerblaureaktion: die gut ausgewaschenen Schnitte werden bei 100° getrocknet, dann 10 % Ferrocyankalium (einige Min.), oberflächliches Abwischen, verd. Eisenchlorid (einige Sek.), Austrocknen, Kanadabalsam.

Beruhend Membrandifferenzierungen auf chemischen Ursachen, so bleiben Streifen und Schichten nach dem Austrocknen in gleicher Schärfe sichtbar. Zur Färbung kann Bismarckbraun dienen (konz. Lösung in 70 % Alkohol, Einwirkung 20–30 Min., abs. Alkohol, Xylol, Balsam). Meist wird zugleich mit chemischen Differenzen ein ungleicher Wassergehalt verbunden sein. Durch beide Faktoren kommt nach Correns die Querlamellierung der Bastfasern zustande. Die radial laufenden Lamellen sind gewöhnlich stark lichtbrechend und bleiben in Methylenblau farblos, während sich die übrige Membran stark färbt. Durch Kaliumchlorat-Salpetersäure wird die starke Lichtbrechung der Querlamellen aufgehoben und die Membran nimmt Methylenblau nun gleichmäßig an. Wahrscheinlich ist der, die Lamellierung bedingende Stoff durch das Mazerationsgemisch herausgelöst worden. Die Streifung der Epidermiswände bei *Hyacinthus* und *Ornithogalum nutans* sowie die schräge Streifung der Bastfasern¹⁾ soll nach Correns auf einem ungleichen Wassergehalt der einzelnen Schichten beruhen. Manche Bastfasern besitzen eine feine spiralige Streifung, die aber beim Austrocknen deutlicher hervortritt. Ähnliches sehen wir bei Trichomen (Pennewar Djambi). Werden ausgetrocknete Haare mit der Nadel verletzt, dann reißt die Membran in der Richtung der Streifen ein und die gesamte Wand rollt sich spiralig auf. Die gleiche Erscheinung erzielt man mit konz. Kalilauge oder mit anderen stark quellend wirkenden Reagentien. Hier zeigt die Streifung die Richtung der spiralartig angeordneten Membranlamellen an (Tunmann, Lit. S. 94, 2).

Derartige Erscheinungen lassen sich diagnostisch verwerten. Weizenhaare zeigen beim Einlegen in konz. Salzsäure (spez. Gew. 1.19) oder in 50 % Kalilauge Spiralbildung, nicht aber die Haare von Roggen, Einkorn und Gerste. Rosenthaler²⁾ führt diese Eigenschaft bei *Triticum* auf chemische Ursachen zurück. Andererseits kann vorhandene Streifung durch Einwirkung ganz bestimmter Reagentien zum Schwinden gebracht werden, die Streifung der Fasern von *Pouzolzia* verschwindet nur bei Einwirkung von Kupferoxydammoniak, die der Bouefasern nur durch Kalilauge (Aisslinger, Lit. S. 540, 5).

¹⁾ Diagnostisch wichtig. Bei *Linum* bilden die Streifen mit der Längsachse der Faser einen Winkel von 10°, 21, bei *Cannabis* nur von 3°, 66 (P. Sonntag, Ber. bot. Ges., 1911, XXIX, 669).

²⁾ L. Rosenthaler, Verh. d. Haare einiger Getreidearten gegen Salzsäure, Ber. deutsch. pharm. Ges., 1910, XX, S. 369.

Die Außenwände der Oscillarien zeigen Netzstruktur (Kolkwitz) erst nach Vorbehandlung und Färbung. Correns¹⁾ behandelt das Material nacheinander mit Pepsin-Glyzerin-Salzsäure, Chromsäure, 2% Kalilauge und färbt mit Karbolfuchsin. Bei weit geöffneter Irisblende sieht man ein rotes Netz auf farblosem Grunde.

Zellulose.

Zellulose steht unter den membranaufbauenden Stoffen an erster Stelle. Sie ist oft, auch in den sog. Zellulosemembranen, mit wechselnden Mengen von Hemizellulosen u. a. vereint. Den meisten Pilzen (und Bakterien) fehlt Zellulose, in manchen Geweben tritt sie stark zurück, in Korklamellen scheint sie zu fehlen. Die chemische Erforschung begann mit Payen, der den Membranstoff benannte. Wir bezeichnen jetzt mit Zellulose jene Membranstoffe, die sich mit verd. Säuren (2%) nicht hydrolysieren lassen und bei Behandlung mit völlig konz. Schwefelsäure Traubenzucker liefern (Dextrozellulose, E. Schulze 1889). Somit zählt Zellulose zu den Polysacchariden. Durch Oxydationsmittel gibt sie Oxyzellulose, mit mäßig verd. Schwefelsäure und mit Chlormetallen Hydrozellulose. Ihre Konstitution ist noch nicht geklärt, vielleicht liegt ein inneres Anhydrid des Traubenzuckers vor. Payen schreibt $C_6H_{10}O_5$, Cross und Bevan treten für $C_{12}H_{20}O_{10}$ ein. Kristallisierte Zellulose hat Gilson dargestellt, unreine Zellulosepräparate erhält man bei der „Rohfaserbestimmung“.

Zuweilen erfolgt Bildung von Zellulose innerhalb der Zelle. Hierher zählen: die Bildungen in der Samenschale von Cuphea, die Zellulosebalken in Caulerpa und in den Embryosäcken, die Umhüllung verschiedener Oxalate und die Klumpenbildung in den von der endotrophen Mykorrhiza befallenen Zellen von Neottia nidus avis, Psilotum u. a.. In den letztgenannten Fällen wird der Zelluloseballen von einer Schicht abgestorbener Hyphen lose umhüllt.

Zellulosemembranen erscheinen bei mikroskopischer Betrachtung hell und schwach lichtbrechend, im polarisierten Lichte doppelbrechend; die ultramikroskopische Prüfung zeigt, daß sie aus parallelen Reihen kleiner und schwach leuchtender Micellen bestehen, zwischen denen sich optisch leere Reihen finden. Gaidukov (Lit. S. 439) hat Ramiefasern, leere Zellen von Oedogonium u. a. näher ultramikroskopisch untersucht.

Beim mikrochemischen Nachweis der Zellulosemembranen stehen an erster Stelle die Reaktionen mit Kupferoxydammoniak und mit Jod-Schwefelsäure. Lösungsreaktionen werden mit Kupferoxydammoniak, Schwefelsäure und mit Chromsäure ausgeführt.

Die Reaktion mit Kupferoxydammoniak wurde von Schweizer²⁾ 1857 aufgefunden; er stellte sein Reagens in der Weise her, daß er aus einer Kupfer-

¹⁾ C. Correns, Über die Membran und die Bewegung der Oscillarien, Ber. deutsch. bot. Ges. 1897, XV, S. 139.

²⁾ E. Schweizer, Journ. prakt. Chem., 1857, LXXVI, S. 109.

sulfatlösung mit verd. wässer. Natronlauge Kupferoxydhydrat ausfällt, dieses mit Wasser gut auswusch und dann in konz. Ammoniak auflöste. Die von de Toni¹⁾ gegebene Vorschrift liefert kein wesentlich besseres Reagens, ist aber einfacher in der Ausführung. Man mischt 10.0 g fein zerriebenes reines Kupfersulfat mit 2.0 g kaustischer Soda (Natriumhydroxyd) und einigen Tropfen Wasser, fügt 25 bis 40 ccm konz. Ammoniaklösung zu und filtriert durch Glaswolle. Fitting²⁾ änderte die Vorschrift von Schweizer etwas ab. Kupferhydrat wird aus Kupfersulfatlösung mit Ammoniak ausgefällt, gesammelt, gut mit Wasser ausgewaschen und alsdann in möglichst wenig Ammoniak gelöst. Eine derartige Lösung soll mehrere Wochen brauchbar bleiben. Die Lösung kann ferner aus Kupferoxyd hergestellt werden. Man übergießt Kupferspäne mit starkem Ammoniak, so daß die Späne gerade bedeckt sind, und läßt die Flüssigkeit in geöffneter Flasche einige Stunden stehen (W. Behrens, Tabellen, Braunschweig, 1887, S. 55). Hierbei ist Zusatz von etwas Ammonium chloratum vorteilhaft. — Das Reagens besitzt seine volle Wirksamkeit selbst bei sachgemäßer Aufbewahrung (Lichtabschluß) nur wenige Wochen und ist brauchbar, wenn es Baumwolle in kurzer Zeit auflöst. Nimmt man den Lösungsversuch unter Deckglas vor, so muß das Reagens wiederholt durchgesaugt werden.

Nur wenn Membranen vorliegen, die fast ganz aus Zellulose bestehen und die nicht von derben Kutikular- oder Korkschichten geschützt werden, kann man an zarten Präparaten, die aus wenigen Zellen bestehen, die Reaktion (öfteres Durchsaugen) unter Deckglas ausführen. Es ist bei Geweben jedoch vorteilhafter, die Schnitte in einem bedeckten Schälchen zu mazerieren. Derart läßt sich bei dünnen Schnitten aus parenchymatischen Geweben in 2 bis 4 Tagen, aus verholzten Elementen in einer Woche sämtliche Zellulose entfernen. Bei Membranen, die überwiegend aus Zellulose bestehen, zeigen Vergleichspräparate ohne weiteres die Wirkung des Reagens. Sind in einer Membran neben der Zellulose Pektine, Hemizellulosen u. dergl. stark vertreten, oder ist die Membran verholzt, so kann man bei optischer Betrachtung von einer Lösung der Zellulose oft nichts erkennen. Man muß durch weitere Reaktionen die Abwesenheit der (herausgelösten) Zellulose feststellen. Aus den mazerierten Schnitten wird das Kupfersalz durch gutes Auswaschen mit 4—5% Essigsäure entfernt. Die für Zellulose charakteristischen Jodreaktionen und Färbungen (s. unten) müssen nun negativ ausfallen. Vergleichspräparate gestatten sofort ein sicheres Urteil.

Nach Gilson³⁾ läßt sich die Zellulose aus ihrer Kupferoxyd-ammoniaklösung durch 20—23% Ammoniak kristallinisch ausfallen.

¹⁾ G. B. de Toni, Acci Ist. Ven. Sc. Lett. ed Art., 1906, LXV, S. 593.

²⁾ H. Fitting, Bau u. Entwickl. d. Makrosporen v. Isoetes u. Selaginella u. ihre Bedeut. für d. Wachst. pflanzl. Zellmembr., Bot. Ztg., 1900, LVIII, S. 107.

³⁾ E. Gilson, La cristall. de la cellulose et la composition chimique de la membrane cellulaire végétale, La Cellule, 1893, IX, S. 397.

Diese Eigenschaft wurde zum mikrochemischen Nachweis (auch zur makrochemischen Gewinnung) **kristallinischer Zellulose** herangezogen. Der mikrochemische Nachweis wird dadurch ermöglicht, daß die Zelluloselösung nicht durch die pektinhaltigen Mittellamellen diosmieren kann. Die Versuche sind langwierig und gelingen nicht immer gleich. Sie wurden von Johnson¹⁾, Love²⁾ und van Wisselingh bestätigt. Man benutzt möglichst stärkefreie oder doch stärkearme Parenchymgewebe krautartiger Stengelteile oder Wurzeln. Von den Zellinhalten werden die Präparate durch Behandeln mit Eau de Javelle befreit. Vom Eau de Javelle müssen die Schnitte durch gutes Auswaschen befreit werden. Fette sind durch Alkohol-Äther zu entfernen. Die vorbehandelten Präparate kommen auf 6—12 Stunden in einem hermetisch verschlossenen Gefäße in Kupferoxydammoniak. Die Flüssigkeit wird nach genügender Einwirkung vorsichtig abgegossen und durch 10% Ammoniak ersetzt. Das Ammoniak wird wiederholt durch neues (jetzt 20%) ersetzt. Schließlich werden die Schnitte, die leicht auseinanderfallen und daher vorsichtig zu behandeln sind, mit Wasser nachgewaschen. Sie sind nun farblos, zeigen im Zelllumen kleinkörnige, krümelige oder dendritische Kristallmassen, die sich in Kupferoxydammoniak lösen, unlöslich in verd. Alkalien und Säuren sind und sich mit Kongorot rot färben. Mit Chlorzinkjod werden sie blau, besonders nach Vorbehandlung mit verd. Salzsäure. Durch verd. Säuren werden die Präparate wesentlich aufgehellt, die Kristalle treten weit deutlicher hervor. Johnson bezeichnet sie als Kristallite, da sie auf das polarisierte Licht nicht einwirken. Die Kristallform ist abhängig von der Konzentration des zum Auswaschen benutzten Ammoniaks. Bei Verwendung von 5% Ammoniak entstehen überwiegend kleine Sphärö-kristalle, bei stärkerem Ammoniak (20%) erhält man die größten Kristallaggregate.

Zellulose löst sich in konzentrierter Schwefelsäure oder richtiger, die Zellulose wird durch Schwefelsäure in Traubenzucker übergeführt. Diese Reaktion ist weniger charakteristisch, da sich gleichzeitig Hemizellulosen, Pektine und oft verholzte Membranen in Schwefelsäure lösen, während in Kupferoxydammoniak sich nur die Zellulose löst. Der Einwirkung der Schwefelsäure wird in zweifelhaften Fällen eine Mazeration oder ein Aufkochen mit Wasser voranzugehen haben. Sind in abgestorbenen oder getrockneten Geweben von den Membranen Gerbstoffe oder Phlobaphene in großer Menge

¹⁾ D. S. Johnson, The cristallization of cellulose, Bot. Gazette, 1895, XX, S. 16.

²⁾ E. G. Love, Note on the staining of cellulose, Journ. New-York Microsc., 1894, X, S. 70.

gespeichert worden, so kann die Membran resistent gegen Schwefelsäure sein. Ähnliches gilt von Alkoholmaterial. So berichtet Lidforss (Lit. S. 182, ²), daß bei *Primula farinosa* (Blütenstandsachse) die Wände gewisser Idioblasten sich in Schwefelsäure und Chromsäure (bei Alkoholmaterial) wie Kork verhielten, während sie sich bei lebendem Material in diesen Reagentien auflösten, und Debski (Lit. S. 147, ⁴) erwähnt Zellwände bei Blättern der Marantaceen, die sich in frischem Zustande leicht in Schwefelsäure lösen, durch Alkohol aber gebräunt und unlöslich in Schwefelsäure werden. Man verwende möglichst kleine, nur wenige Zellen große Präparate und setze die Säure dem trocken unter Deckglas oder doch nur in wenig Wasser liegenden Schnitte zu. Auch ist darauf zu achten, daß die Schwefelsäure wirklich konzentriert

ist (s. S. 11 ob.). Verschiedene (irrtümliche) Literaturangaben über Unlöslichkeit in Schwefelsäure beruhen auf Benutzung schlecht aufbewahrter Säure. Im allgemeinen sind nach Russow (Lit. S. 440, ¹) Zellulosemembranen der Wasserpflanzen resistenter gegen Säure als die von Landpflanzen; Angaben aus neuerer Zeit fehlen hierüber.

Chromsäurelösung, die je nach ihrer Konzentration Zellulose schnell auflöst, wird nur nebenbei zur Charakteristik herangezogen, da sie verholzte Membranen u. a. ebenfalls löst.

Chlorzink-Essigsäureanhydrid (Chlorzink in der zweifachen Gewichtsmenge Essigsäureanhydrid gelöst) soll nach Cross und Bevan¹⁾ ebenfalls Zellulose lösen. Czapek (Biochemie I, S. 526) und

Tschirch (Handbuch II, S. 242) geben (irrtümlicherweise) an, daß sich Zellulose in Chlorzinksalzsäure (1+2) lösen soll. Nachprüfungen an Baumwolle und an Geweben ergaben, daß Chlorzink weder mit Essigsäureanhydrid noch mit Salzsäure mikrochemisch Vorteile bietet. Hanausek²⁾ hat eine Lösung mit Salzsäure-Essigsäureanhydrid nicht erzielen können, hält das Reagens aber für geeignet, um die feineren Strukturverhältnisse der Membran hervortreten zu lassen.

Die während der Lösung auftretenden Bilder sind recht charakteristisch; selbst die feinsten plasmatischen Reste (Plasmabeläge der Bastfasern und Gefäße) werden sichtbar (Fig. 123). Zum Studium der Lösungsvorgänge diente auch Schwefelsäure in Verbindung mit Jod oder mit Kaliumdichromat. Die Chromatschwefelsäure (S. 98 u. 454)

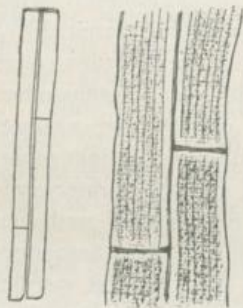


Fig. 123. Bastfaser, vor und während der Einwirkung von konz. Schwefelsäure; Plasmaschlauch und Tüpfelfüllungen treten hervor (Tunmann).

¹⁾ Cross und Bevan, Chem. News, LXIII, S. 66.

²⁾ T. F. Hanausek, Kleine Mitteilungen IV, Lösungsmittel der Zellulose Chem. Ztg., 1894, XVIII, S. 441.

hat Hanausek¹⁾ zur Unterscheidung der Lein- und Hanffaser benutzt. Bei Linum tritt der Plasmaschlauch wellenförmig und unregelmäßig gewunden hervor, bei Cannabis erscheint er mit geradem Verlauf. Die sekundären Verdickungsschichten von Cannabis bleiben weit länger erhalten als die von Linum. Nur der Hanffaser ist an der Außenseite eine bräunliche sekretartige Masse aufgelagert, die sehr resistent ist. Bekannt sind die Lösungserscheinungen in Kupferoxydammoniak, welche die mit kutinisierten und verholzten Außenmembranen versehenen Trichome und Fasern zeigen. Das Reagens kann auf die inneren zellulosehaltigen Schichten nur an den verletzten Stellen der Kutikula und der primären Membran einwirken; an diesen Stellen tritt die Zellulose bei der Lösung blasenförmig heraus und preßt die nicht angreifbaren äußeren Schichten beiseite. Gleichzeitig wird der Plasmaschlauch gut sichtbar (Fig. 124).

Von verd. und konz. Alkalien, verd. und konz. Salpetersäure, von Schultzeschem Gemisch wird Zellulose nicht gelöst, doch erfolgt Quellung, wodurch feinere Strukturverhältnisse besser sichtbar werden. Verd. und konz. Salzsäure löst (selbst beim Aufkochen) nicht; dadurch unterscheidet sich die Zellulose von den Hemizellulosen (s. d.).

Reine Zellulose färbt sich mit Jodjodkalium oder mit alkoholischer Jodlösung gelblich bis schwach braun. Durch mäßig verd. Schwefelsäure (70—95 %) wird Zellulose unter Gallertbildung in Hydrozellulose übergeführt und diese wird von Jodreagentien gebläut. Hierauf beruht der beste mikrochemische Nachweis der Zellulose mit **Jod-Schwefelsäure**, der 1838 von Schleiden angegeben wurde, nachdem Gmelin²⁾ vorher (1830) die gleiche Reaktion mit Papier ausgeführt hatte. Man benutzt eine jodarme Jodjodkaliumlösung (0.3 J, 1.5 KJ, 100.0 Wasser) und eine mäßig verd. Schwefelsäure (3 + 1 Wasser). Bei Verwendung konzentrierterer Lösungen treten störende Jodausscheidungen auf und die Präparate lösen sich zu schnell in der Säure. Die Schnitte werden mit der Jodlösung gut durchtränkt, bleiben einige Zeit liegen, dann wird ein kleiner Tropfen Wasser und schließ-

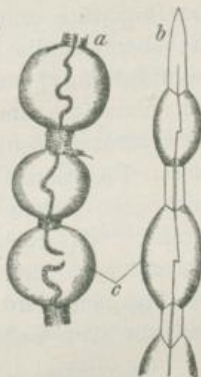


Fig. 124. Einwirkung von Kupferoxydammoniak auf *Gossypium* (a) und *Cinnamomum camphora* (b); blasenartiges Hervorquellen der Zellulose bei c (Tunmann).

¹⁾ T. F. Hanausek, Eine neue Methode zur Unterscheidung der Flachs- und Hanffaser, Ztschr. f. Farbenind., 1908, Heft 7, Sep.

²⁾ J. M. Schleiden, Pogg. Ann. 1838, XLIII, S. 391 u.: Gmelin, Schweigg. Journ., 1830, LVIII, S. 374.

lich die Säure zugefügt. Unter Quellung und Gallertbildung nehmen alle Zellulosemembranen eine starke Blaufärbung an. Schließlich, besonders bei Gegenwart von viel konz. Säure, findet völlige Lösung und Entfärbung statt. Bei der Reaktion mit Jodschwefelsäure sowie bei den im folgenden angeführten Jodreaktionen darf nun nicht vergessen werden, daß sich außer Zellulose auch verschiedene Hemizellulosen (nicht sämtliche) ebenfalls blau färben. Bei diesen tritt meist die Blaufärbung mit Jod bereits bei Gegenwart einer sehr stark verd. Säure ein (zuweilen genügt die Anwesenheit von viel Jodwasserstoffsäure). Reine Zellulose beansprucht zur Jodschwefelsäurereaktion eine mindestens 50% Säure (1 + 1 Wasser), gebraucht wird meist eine 75%.

Um den Nachteil der Jod-Schwefelsäure-Reaktion, das Auflösen der Präparate, zu beheben, sind weitere Reaktionen eingeführt worden, die ebenfalls die Zellulose mehr oder weniger vollständig in Hydrozellulose überführen und letztere durch Jod färben. Man benutzt Phosphorsäure und Chlormetalle mit Jodzusatz, so daß Überführung in Hydrozellulose und Färbung gleichzeitig ausgeführt wird. Von diesen Reaktionen hat sich in erster Linie die mit **Chlorzinkjod** eingebürgert, welche Schultze¹⁾ zuerst auffand. Die Präparate werden direkt in das Reagens eingetragen. Zellulosemembranen färben sich, oft erst nach längerer Zeit, mehr oder weniger violett. Die Wirkung des Reagens wird wesentlich modifiziert von dem Alter der Lösung und von dem Gehalt an Chlorzink.

Chlorzinkjod ist, in brauner Glasstöpselflasche aufbewahrt, mehrere Jahre brauchbar. 20.0 g Chlorzink, 6.5 g KJ, 1.3 g J, 10.5 g Wasser. Ein nach dieser Vorschrift (W. Behrens, Tabellen) bereitetes Reagens enthält etwa 52% Chlorzink. Besser wirkt folgende Lösung: 25.0 g Chlorzink, 8.0 g KJ, 1.5 g J, 8.0 g Wasser; sie enthält ungefähr 60% Chlorzink. Man kann schließlich 2 getrennte Lösungen vorrätig halten²⁾. Die Schnitte kommen auf wenige Sekunden in Lösung I (Jodjodkalium, 1 + 1 + 100) und werden in einen großen Tropfen Lösung II (Zinkchlorid 2, Wasser 1) übertragen. Bei zu schwacher Färbung muß nochmals Jodjodkalium zugesetzt werden.

Weitere Jodreagentien auf Zellulose hat Mangin³⁾ empfohlen. Allgemeiner in Aufnahme ist Jodphosphorsäure gekommen. Die Schnitte gelangen direkt in das Reagens, reine Zellulosemembranen werden kräftig violett gefärbt. Präparate, die zuvor in Wasser ge-

¹⁾ Nach L. Radlkofer, Liebig Ann., 1855, XCIV, S. 332.

²⁾ J. Nowopokrowsky, Über die Chlorzinkjodreaktion der Zellulose, Bull. Jard. imp. bot. St. Pétersbourg, 1911, XI, S. 109.

³⁾ L. Mangin, Sur les réactifs jodés de la cellulose, Bull. Soc. bot. de France, 1888, XXXV, S. 421 u.: Observat. s. l. développement du pollen, Bull. Soc. bot. de France, 1889, XXXVI, S. 274.

legen haben, werden durch Betupfen mit Fließpapier abgetrocknet. Man gebraucht eine möglichst konz. Phosphorsäure, die sich aus der Handelsware durch Eindampfen auf dem Wasserbade leicht herstellen läßt. Die Säure muß wenigstens 50% Orthophosphorsäure enthalten; sie hat dann Sirupkonsistenz (20 ccm Säure, 0.5 KJ, 0.2 J, ein Erwärmen zwecks völliger Lösung ist nicht nötig, ein Überschuß an Jod nicht schädlich). Die Säure kann auch während der Reaktion verstärkt werden. Man bringt die Schnitte in Jodphosphorsäure und bedeckt sie mit einem Kristall kristallinischer Phosphorsäure. Der Kristall löst sich langsam auf, die Zellulosewände treten, besonders wenn sie vorher mit verd. Eau de Javelle gereinigt wurden, dunkelblau hervor.

Nach Grüss (Stud. üb. Reservezellulose, Bot. Centrbl., 1897, LXX, S. 242) läßt sich Jodphosphorsäure aus der in Stangenform erhältlichen Phosphorsäure bereiten, die man bis zur Sirupkonsistenz in Wasser löst; die Lösung wird mit einigen Körnchen Jodkalium und Jod versetzt. Das Reagens ist in kurzer Zeit gelbbraun.

Chlorkalzium-Jodlösung gibt gute Erfolge und färbt reine Zellulosewände erst rosenrot, später violett. Das Reagens wird (Zimmermann, Mikrot. S. 138) hergestellt aus 10 ccm konz. Chlorkalziumlösung, 0.5 g KJ, 0.1 g J. Durch schwaches Erwärmen wird ein Teil Jod gelöst und die Lösung durch Glaswolle vom überschüssigen Jod abfiltriert. Nach angestellten Nachprüfungen schadet aber das überschüssige Jod im Reagens nicht, die Lösung war nach einem Jahre noch wirksam (Lichtabschluß).

Schneller als Chlorzinkjod soll nach Mangin Aluminiumchlorür und Jod wirken, die Färbung soll sich einige Tage halten. Metallisches Aluminium wird in Salzsäure gelöst, die Lösung bis zur Sirupkonsistenz eingedampft und mit 1% J und 0.5% KJ versetzt. Färbt dunkelblau bis violett. Eine himmelblaue Färbung soll Jodzinnchlorid geben. Spiritus fumans Libavii (gewonnen durch Überleiten von Chlor über erwärmtes Zinn oder Zinnchlorür) wird durch möglichst wenig Wasser zersetzt, dann mehr Wasser zugefügt, ohne daß es zur Lösung kommt, und schließlich werden einige Tropfen einer Lösung von Jod und Chlorkalium in Wasser zugefügt. Die Reaktion gelingt nicht gut.

Zur Reinigung der Zellulosemembranen benutzt van Wisselingh Glycerin. Die Schnitte kommen in kleine Glasröhrchen mit Glycerin, die Röhrchen werden zugeschmolzen und bis auf 300° erhitzt, was innerhalb $\frac{1}{2}$ Stunde ausgeführt werden kann (Ausführung s. Chitin). Reine Zellulose wird nicht angegriffen, wohl aber werden sehr viele Bestandteile entfernt (nicht gelöst, sondern zersetzt). Hauptsächlich Hemizellulosen (Amyloid) widerstehen aber ebenfalls der Glycerineinwirkung. Das Reinigungsverfahren, das auch durch Maze-

ration mit verd. Alkalien und Eau de Javelle ausgeführt werden kann, dient besonders zur Erzielung guter Jodfärbungen und zum Nachweis von Zellulose neben anderen Membranstoffen.

Färbungen mit Farbstoffen treten ganz allgemein beim Nachweis der Zellulose sehr zurück. Farbstoffe, die lediglich Zellulose färben, gibt es gegenwärtig nicht. Die Intensität der Farbstoffspeicherung hängt keineswegs von dem größeren oder geringeren Gehalt der Membran an Zellulose ab. Hat doch van Wisselingh¹⁾ gezeigt, daß sich die Haare von Gossypium mit Kongorot nur schwach färben, während nach kurzer Vorbehandlung mit Kupferoxydammoniak und nach gutem Auswaschen eine stärkere Färbung mit Kongorot erzielt wird. Zellulosearme Wände können sich stärker färben als zellulosereiche. Denn bei der Farbstoffaufnahme sind physikalische Faktoren (Dichte der Membran) hervorragend beteiligt. Immerhin lassen sich als Hilfsreaktionen auch Färbungen heranziehen, die besonders für Dauerpräparate geeignet sind. Am meisten benutzt werden Kongorot und Hämatoxylin.

Für Kongorot, welches Klebs²⁾ als Reagens auf Zellulose bei Algen und Flagellaten bezeichnete, hat Heinricher³⁾ gefunden, daß der Farbstoff auch Hemizellulosen und Schleime färbt. Die Ergebnisse der Färbung sind verschieden, je nachdem eine wässrige oder eine alkoholische Lösung benutzt wird. Bei Benutzung einer alkoholischen Lösung werden auch verholzte Elemente gefärbt. In der konz. wässr. Lösung bleiben die Schnitte einen Tag, werden in Alkohol abgespült und in Kanadabalsam eingeschlossen.

Hämatoxylin färbt außer Zellkern und plasmatischen Teilen auch unverholzte und unverkorkte Wände. Reine Zellulosemembranen werden violett gefärbt, verholzte, verkorkte und kutinisierte Wände bleiben ungefärbt oder werden nur gelb bis braun. Die Hämatoxylinfärbung der Zellulose betrachtet Giltay⁴⁾ als spezifisches Zellulose-reagens, welches in sehr vielen Fällen der Chlorzinkjodreaktion vorzuziehen sei. Es sei bemerkt, daß der Torus durch Hämatoxylin (S. 453) gefärbt und auch von Phloroglucinsalzsäure gerötet wird.

¹⁾ C. van Wisselingh, Mikrochem. Untersuch. über die Zellwand d. Fungi, Jahrb. f. wiss. Bot., 1898, XXXI, S. 619.

²⁾ G. Klebs, Organisation d. Gallerte bei Algen u. Flagellaten, Unt. bot. Inst. Tübingen, 1886, II, S. 369.

³⁾ E. Heinricher, Ist das Kongorot als Reagens auf Zellulose brauchbar? Ztschr. f. wiss. Mikr., 1888, V, S. 343.

⁴⁾ E. Giltay, Über das Verhalten von Hämatoxylin gegen Pflanzenmembranen, Ak. Wet. Amsterdam, 27. X. 1883, S. 2.

Zelluloseführende Membranen, die mehr oder weniger große Anteile an Hemizellulosen führen und nicht verholzt sind (Zellulosemembran schlechthin), speichern die verschiedensten Farben. Selbstverständlich können diese Färbungen ebenso wenig als typische Zellulosereaktionen angesehen werden, wie die vorher angeführten. Chalon¹⁾ spricht allerdings Methylenblau als typischen Zellulosefarbstoff an. Porsch benutzt zum Zellulosenachweis essigsäures Anilinblau, Lagerheim Brillantblau. Eine Unzahl Farbstoffe färbt Zellulose, ohne daß eine Beize nötig ist (substantiv). Vorbehandlung mit Säuren oder Alkalien verstärkt die Färbung. Man benutzt daher bei vielen Farben saure (bei Orseillerot, Naphtholschwarz, Azorubin u. a.) oder alkoholische (bei Brillantpurpurin, Benzopurpurin, Benzoazurin u. a.) Bäder. Zuweilen wird in neutralem Bade gefärbt, die gespeicherten Farben werden nachher durch Säuren weiter differenziert.

Doppelfärbungen.

Das Färbungsvermögen ist nicht auf Zellulose (und Hemizellulose) beschränkt. Es färben sich alle Membranen, auch die verholzten (s. d.) und die verkorkten (s. d.) mit bestimmten Farbstoffen. Man behandelt daher die Schnitte mit Farbstoffgemischen oder nacheinander mit verschiedenen Farben und erzielt Doppelfärbungen, welche, da sie haltbar sind, sich für Dauerpräparate zu Demonstrationszwecken eignen. Auch bei histologischen Untersuchungen, besonders bei zarten Geweben (Vegetationspunkten, Samenknospen) werden Färbungen benutzt. Doch lassen sich aus den Färbungen allein nur annähernde Schlüsse auf die chemische Zusammensetzung einer Membran ziehen. Überwiegend wird mit Anilinfarben gefärbt, zuweilen wird die Metallspeicherung herangezogen. Die Zeitdauer der Einwirkung der Farbstoffe ist abhängig von den Präparaten, ihrer Vorbehandlung (Fixierung), von der Konzentration der Farblösungen und vielen anderen Faktoren. Teils wird überfärbt (die Präparate gelangen in konz. Lösungen) und dann wird gut ausgewaschen, teils läßt man verd. Lösungen längere Zeit einwirken. Zuweilen erfolgt eine Nachbehandlung zur Erzielung weiterer Farbentöne. Die gefärbten Schnitte werden entwässert und in Kanadabalsam eingebettet oder gelangen über Glyzerin in Glyzeringelatine. Aus der Unzahl der vorgeschlagenen Doppelfärbungen seien nur einige Methoden angeführt. Es gibt noch weit mehr brauchbare Methoden (zum Teil sind sie an anderen Stellen dieses Buches angeführt); ein jeder kann sich dergl. durch passende

¹⁾ I. Chalon, Coloration des parois cellulaires, Bull. Soc. roy. Bot. Belg., 1898, XXXVI, S. 12 u. XXXVII, S. 59.

Vereinigung von Farbstoffen, die Holz, Kork und Zellulose färben, leicht selbst ausarbeiten.

Chodat benutzt eine schwach ammoniakalische 1% Lösung von Kongorot, der 1% Chrysoidin zugefügt ist (Holz strohgelb, Kork goldgelb, Zellulose kirschrot). Eine Doppelfärbung, bei der Holz blau, Zellulose rot wird, läßt sich durch konz. alkoholische Cyaninlösung mit 5% Zusatz einer ammoniakalischen Kongorotlösung erzielen (Roulet¹⁾). Mit Hämalan und Naphthylamingelb färbt Pfeiffer²⁾ (Holz gelb, unverholzte Membran violett). Man kann auch die Schnitte nacheinander in die beiden Farblösungen bringen, zuerst auf eine Stunde in Hämatoxylin und dann in eine Lösung von Anilinblau, Methylblau oder Bismarckbraun. Die Schnitte werden mit Alkohol ausgewaschen und in Kanadabalsam eingebettet (Holz rot, Zellulose violett bis blau). Das Lagerheimsche³⁾ Farbstoffgemisch besteht aus Sudan III, Brillantblau und Chloranilin. In einer Lösung von Jodgrün und Grenachers Alauncarmin wird Zellulose rot, Holz und Kork grün. Arcangeli⁴⁾ verwendet zur haltbaren Färbung 4 Teile einer 0.5% Methylgrünlösung und 1 Teil einer 5% Fuchsinlösung. Chalon (Lit. S. 553, 1) benutzt Preußischblau-Safranin oder Anilinblau-Magentarot. Persico (Orseillefarbstoff)-Essigsäure in konz. Lösung färbt Zellulose nur sehr schwach⁵⁾, Bast und Sklerenchym stark rotviolett (Chromatophoren und Zellkern braunpurpurn), die Färbung ist haltbar in Glycerin, gesättigtem Kaliumazetat und in venetianischem Terpentin. Persico-Essigsäure wird ferner empfohlen in Verbindung mit Kernschwarz oder Nigrosin (Kollenchym schwarzviolett), mit Methylgrün-essigsäure (Sklerenchym und Kollenchym fleischrot, Glycerineinbettung), mit Gentianaviolett (Plasma, Zellkern rotbraun, Membran blauviolett, Terpentineinbettung).

Zum Färben der jüngsten Zellwände (Vegetationsspitzen) empfehlen van Leeuwen-Reijnvaan⁶⁾ eine Kernschwarz-Methode. Mikrotomschnitte kommen auf 1½ Stunden in Kernschwarz (Grübler)

¹⁾ Ch. Roulet, Nouv. proc. de double-col. d. membr., Arch. d. sc. phys. et nat. Genève, 1893, XXIX, S. 100.

²⁾ H. Pfeiffer, Neue Doppelf. für Gewebe mit teilweise verholzten Membr., Ztschr. f. wiss. Mikr., 1897, XIV, S. 202.

³⁾ G. Lagerheim, Techn. Mitt., Zschr. wiss. Mikr., 1897, XIV, S. 350.

⁴⁾ A. Arcangeli, Studi dello Czapek sui tess. lignif., Bull. S. Bot. ital., 1899, S. 167.

⁵⁾ G. Beck von Mannagetta, Über d. Verwend. d. Persico-Essigsäure z. mikr. Tinktionen, Sitzb. Lotos, 1904, Nr. 7.

⁶⁾ W. u. J. van Leeuwen-Reijnvaan, Färben d. j. Zellwände in Vegetationsp., Ber. d. bot. Ges., 1907, XXV, S. 470.

und dann auf 1—2 Tage in Safranin (1 g Safr., 100 ccm abs. Alkohol, 200 ccm Wasser) und werden mit salzsäurehaltigem Alkohol differenziert (Kernchromatin schwarz, Nukleolen rot, Plasma rosa, Zellwände hellrot). Die Färbung ist jahrelang haltbar. — Man kann auch mit Hämatoxylin (3—10 Minuten) und dann mit Lichtgrün (4—6 Minuten) färben (0.1 g Lichtgrün, 100 T. Wasser, 4 T. Formalin 40%) und mit 70% Alkohol abspülen. Zum Studium der Samenknospen dient Safranin-erlenaviolett. Zusatz von Orange G läßt die Pollenschläuche hervortreten¹⁾.

Die Schließhaut der Hoftüpfel und der Torus lassen sich mit Hämatoxylin färben. Zimmermann (Mikrot., S. 139) benutzte Alkoholmaterial. Die Präparate (Versuchsobjekt Coniferenholz) kommen auf 15 Min. in Hämatoxylin (Böhmer), werden in Wasser abgeschwenkt, dann folgt Alkohol, Nelkenöl, Kanadabalsam. Innerhalb 5 Min. färbt das Hämatoxylin nur Zellkerne und die Schließhäute. Kowallik²⁾ gibt folgendes Verfahren: Die Schnitte (Alkoholmaterial, Pinus) werden auf dem Objektträger 1 Min. in 1% wässer. Anilingrün (Brillantgrün? P. Wolff, Posen) erhitzt, mit Wasser abgespült und mit Chrysoidin (1% in 95% Alkohol, ev. mit Wasser verdünnt, 1 + 1) differenziert (1—2 Min.). Dann folgt, nach kurzem Umschwenken in 95% Alkohol, Färbung mit 1% Fuchsin S (Rubin S in 95% Alkohol, 1 Min.), abs. Alkohol (1 Min.), Xylol (5 Min.), Kanadabalsam. Tracheiden gelb, Hof grün, Torus glänzend rot.

Die Metallspeicherung wird zur Membran- und Doppelfärbung selten benutzt. Schon Mohl³⁾ färbte Schnitte mit Blutlaugensalz und Säure, wollte aber dadurch, im Anschluß an einen Vorschlag von Boucherie, Nutzholz widerstandsfähiger machen. Strasburger⁴⁾ färbte mit Berlinerblau-Oxalsäure (1.0 Berlinerblau, 0.25 Oxalsäure in 100.0 Wasser). Devaux (s. Pektinm.) färbt mit Berlinerblau und dann die verholzten Membranen mit Safranin oder Jodgrün. Die Speicherung der Metalle soll nicht der Zellulose, sondern den Pektinen zukommen. Zur Erlangung starker Färbungen muß man die Präparate zuerst mit Kalilauge behandeln. Petit⁵⁾ wendet Bleiacetat und Kaliumdichromat an (die dünnen Wände werden gelb, ebenso färbt Eisenchlorid und Ammoniumsulfat), dann folgt Alkannafärbung (Kork, Kutikula rot) und schließlich Behandlung mit verd. wässer. Jodgrün (Holz grün).

¹⁾ Shattuck, Morph. stud. of Ulmus, Bot. Gaz., XL, S. 209.

²⁾ G. Kowallik, Dauerfärbung der Hoftüpfel, Ztschr. f. wiss. Mikr., 1911, XXVIII, S. 26.

³⁾ H. v. Mohl, Bot. Ztg., 1843, I, S. 114.

⁴⁾ Ed. Strasburger, Bot. Prakt., 1887, 1. Aufl., S. 622.

⁵⁾ L. Petit, Ztschr. f. wiss. Mikr., 1903, XX, S. 380

Tompa¹⁾ färbt mit Goldsalz. Die Reaktion benutzt die Reduktionsfähigkeit (Zinnchlorür auf Goldlösung). Die Präparate von Alkoholmaterial (von frischem nach zweitägiger Alkoholbehandlung) kommen auf 24 Std. in schwache Zinnchlorürlösung (0.5 ccm konz. Lösung²⁾ in 10 ccm Wasser), werden mit durch verd. Salzsäure schwach angesäuertem Wasser abgespült und dann auf 10–30 Sek. in eine 0.1% wässer., mit verd. Salzsäure angesäuerte und auf 25° erwärmte Lösung von Aurum chloratum flavum gebracht. Nun folgt Abspülen mit schwach saurem Wasser, Glyzerinwasser (1 Tag), Alkohol steigender Konzentration, Chloroform, Chloroformbalsam. Unverholzte Membranen nehmen Purpurfarbe an. — Bei der Färbung mit Saflor-Berlinerblau-Alkanna wird gleichfalls Alkoholmaterial (d. i. von Gerbstoff befreites) benutzt. Die Schnitte kommen in Saflortinktur³⁾ (aus *Crocus officinalis* L. bereitet, gemeint ist wohl *C. sativus* L.), dann nach dem Abwaschen mit Wasser auf 15–30 Sek. in 0.25% wässer. Eisenchlorid und nach leichtem Abspülen mit dest. Wasser in 0.5% wässer. gelbes Blutlaugensalz; nun folgt Abwaschen mit angesäuertem Wasser, Einlegen in heiße Alkannalös. (einige Sek.), Abspülen, wässer. Glyzerin, Glyzeringelatine. Kork, Kutikula rot, dickwandige und verholzte Wände gelb, dünne Membranen blau.

Callose.

Callose findet sich in den Callusplatten der Siebröhren, in Cystolithen (Grundsubstanz, S. 121), in mit kohlensaurem Kalk inkrustierten Wänden (bes. der Trichome), in Pollenkörnern (zwischen Intine und Exine bei Conif., Cyperac., Juncac., Lit. S. 121, u. S. 550, 3), Pollenschläuchen (innerste Lamelle) und in vielen Pilzen (Peronosporaeen). Sie ist stickstofffrei (im Gegensatz zum Chitin) und bildet in reinem Zustande (aus *Bornetia corium*) voluminöse Massen von der Zusammensetzung der Zellulose (Arnaud). Es gibt verschiedene Polymerisationsprodukte, zu denen zählt Tanrets Fongose.

Die Callose (Mangin⁴⁾) unterscheidet sich von der Zellulose durch ihre Unlöslichkeit in Kupferoxydammoniak, von der Zellulose

¹⁾ A. v. Tompa, Zwei botanische Tinktionsmittel, Ztschr. f. wiss. Mikr., 1903, XX, S. 24.

²⁾ Zinnmetall (bleihaltige Stanniolfolien können ebenfalls benutzt werden) im Überschuß wird mehrere Stunden in verd. Salzsäure gekocht; die Lösung nebst Bodensatz, in gut schließendem Glase aufbewahrt, ist lange Zeit haltbar.

³⁾ Die Bezeichnung gibt zur Verwechslung Anlaß. Unter Saflor versteht der Handel *Flores Carthami* (*Carthamus tinctorius*).

⁴⁾ L. Mangin, Observ. s. présence de la callose chez les Phanerogames, Bull. Soc. bot. d. France 1892, 260 u.: Nouv. obs. s. callose, Compt. rend., 1910, CLI, 279.

und vom Chitin durch ihre leichte Löslichkeit in Glyzerin bei 280°; bei 250° bleibt sie noch ungelöst (van Wisselingh, Lit. S. 552, 1). Von den verschiedenen Modifikationen der Callose gibt die eine ohne Vorbehandlung charakteristische Reaktionen, die andere erfordert eine Vorbehandlung mit Alkalien oder Oxydationsmittel. Callose ist amorph, farblos, unlöslich in Wasser, Alkohol, Kupferoxydammoniak (auch nach Vorbehandlung mit Säuren), sowie in der Kälte in Alkalikarbonaten und Ammoniak; in den letzten Reagentien quillt sie auf. Sie löst sich leicht in konz. Schwefelsäure, kalter 1% Kali- und Natronlauge, in Chlorkalzium und Zinnchlorid.

Beim Nachweis stehen Färbungen in erster Reihe. Die Calloseplatten der Siebröhren sind ohne Färbungen bei getrocknetem Material zuweilen nur schwer herauszufinden. Jodlösungen färben je nach ihrem Jodgehalt gelb bis rotbraun¹⁾, Chlorzinkjod rotbraun, Chlorkalziumjod rosa (Lecomte²⁾). Russow (Lit. S. 524, 1) empfahl Anilinblau. Die Schnitte verweilen längere Zeit (20—40 Min.) in verd. wässer. Anilinblau und werden mit Glyzerin ausgewaschen. Man kann mit wässer. Eosin (einige Min.) nachfärben (Siebröhreninhalt und Plasmodesmien rot, Calloseplatten blau). Die Färbungen halten sich in Glyzerin, Glyzeringelatine und Kanadabalsam. Vielfach benutzt wird Corallin-Soda (Szyczyłowicz [Bot. Centralbl., XII, 113], Corallin in konz. wässer. Natriumkarbonatlösung); der Farbstoff färbt in kurzer Zeit oder man überfärbt und wäscht mit 5% Soda aus, wodurch Entfärbung eintritt und nur die Callose gefärbt bleibt (nicht haltbar).

Hier sei eingefügt die Fixierung des Inhalts lebender Siebröhren. Bei Präparation lebenden Materials wird der Inhalt der Siebröhren aus den mit relativ großen Öffnungen kommunizierenden Röhren zum Teil herausgepreßt; es entstehen Kunstprodukte, meist erscheint nur an einer Seite der Siebplatte der Inhalt als sog. „Schlauchkopf“. Um den lebenden Zustand zur Anschauung zu bringen, taucht man (A. Fischer, Inhalt d. Siebröhren in unverletzten Pfl., Ber. d. bot. Ges., 1885, III, 230) lebende Pflanzen oder größere unverletzte Zweige in siedendes Wasser (2 bis 5 Min.). Der Siebröhreninhalt gerinnt. Zur besseren Präparation läßt man die abgebrühten Pflanzen, in kleinere Stücke zerschnitten, einige Stunden in Alkohol-Glyzerin liegen. Fischer unterscheidet verschiedene Modifikationen des Inhaltes: Siebröhren: a) mit gerinnbarem Saft (Cucurb., ein schwacher protoplasmatischer Wandbelag umschließt einen klaren, in der Hitze gerinnenden Saft); b) mit Schleim (Humulus, ein zarter, schleimführender Wand-

¹⁾ Die Angabe von Moore (Reactions of callus and paracallus, Journ. Linn. Soc. 1891, XXVII, S. 501), daß die Callose der Siebröhren (Cucurbitac.) Eiweißreaktionen gibt, ist fraglich.

²⁾ H. Lecomte, Contribution à l'étude du liber des Angiospermes, Ann. d. sc. nat. Bot., Sér. 7, X, S. 193.

belag umschließt den klaren, nicht gerinnenden Inhalt); c) mit Stärkekörnern (Coleus, der Wandbelag führt nur geringe Schleimmengen, im klaren, nicht gerinnenden Inhalt kleine Stärkekörnchen).

Azofarbstoffe, die in neutralem oder schwach saurem Bade die Zellulose stark färben, lassen die Callose ungefärbt (Orseillin BB, Azorubin, Naphtholschwarz, Crocein). Hingegen wird die Callose von Farbstoffen der Benzidinreihe (Kongorot, Deltapurpurin, Brillantpurpurin, Benzopurpurine, Heliotrop, Benzoazurin) in neutralem oder schwach alkalischem Bade kräftig gefärbt (ebenso Zellulose¹⁾). Für Blätter wird nachstehendes Verfahren gegeben: Zentimeterbreite Stücke werden zur Verjagung der Luft einige Min. in Alkohol gekocht und nach dem Erkalten auf einige Zeit in Salpetersäure gebracht, so daß sie völlig von der Säure bedeckt sind; dann werden sie mit Wasser ausgewaschen, zur Vertreibung der Luft mit Alkohol erwärmt und 2—3 mal mit schwachem Ammoniak übergossen, bis das Gewebe farblos und durchsichtig geworden ist. Nun folgt Neutralisation mit 3% Essigsäure und Färbung mit einem Gemisch von Brillantblau, Anilinblau (oder einem anderen blauen, wasserlöslichen, von trisulfoierten Triphenylrosanilinen abstammenden Farbstoff) und mit Bismarckbraun in 3% Essigsäure oder in 3% Ameisensäure (stickstoffhaltige Körper und Kutikula braun, Callose grünblau).

Die Lichtzone.

Die Palisaden vieler Samen (die Zellen der Palisadenschicht, Prismen-, Hart-schicht) zeigen dicht (*Pisum*, *Abrus*) oder doch nahe der Kutikula (*Trigonella*, Fig. 125) eine in gleicher Höhe verlaufende Querzone, die das Licht stärker durch-

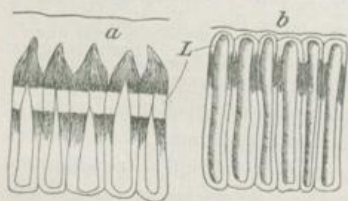


Fig. 125. Lichtzone (L) der Samenpalisaden, a) von *Trigonella foenum graecum*, b) von *Pisum sativum* (Tunmann).

läßt und sich scharf von der benachbarten dunkler erscheinenden Membran abhebt. Diese Lichtlinie (besser Lichtzone, Tschirch), die nicht an Querschnitten sichtbar ist (Junovicz²⁾), findet sich bei Samen der Legumin., Malvac., Geraniac., Cannac., Tiliac., Sterculiac., Cucurbit., Labiaten, Mimosen, Convolvul., Bixaceen u. a. (Lit. S. 102, 15). Zuweilen sind 2 Lichtzonen vorhanden (Junovicz, Russow). Trotz-

dem die Lichtzone schon von Malpighi (1675) beobachtet und von Schleiden (1838) abgebildet worden ist, wurde sie

¹⁾ L. Mangin, Sur les réactifs colorants des substances fondamentales de la membrane, Compt. rend., 1890, CXI, 120.

²⁾ R. Junovicz, Die Lichtlinien in den Prismenzellen der Samenschalen, Sitzber. Wien. Ak. 1878, LXXVI, 335.

noch von Hanstein (1866) völlig verkannt, und auch jetzt sind wir nicht genügend über sie unterrichtet.

Die Lichtzone wurde von Russow¹⁾ auf physikalische Ursachen zurückgeführt, die Membran sollte dort „dichter, wasserärmer“ sein. Nur zum Teil schließen sich ihm hierin Lohde (Lit. S. 102, ¹⁴) u. a. an, während Wettstein²⁾, Sempolowski³⁾, Tschirch (Anat. Atl. S. 208) u. a. einen verschiedenen Wassergehalt verneinen. Nach Junovicz ist die Lichtzone auf eine „für starke Lichtbrechung günstige Molekularzusammensetzung zurückzuführen“. Für chemische Ursachen trat Lohde ein (seine Angabe über die Kutikularisierung der Zone ist aber unrichtig). Wahrscheinlich liegen morphologische und chemische Gründe vor.

In anatomisch-physiologischen Arbeiten wird die Lichtzone oft erwähnt, aber nicht näher untersucht. Mehrfach finden sich Hinweise auf Befunde von Pfaefflin⁴⁾. Dieser sagt aber nur, daß sie „besonders deutlich hervortritt, wenn man Schnitte kurze Zeit in Farbstofflösungen legt, wodurch die Lichtlinie sich als ungefärbt von der umgrenzenden gefärbten Partie abhebt“. Beweiskräftiger für einen besonderen Chemismus der Lichtzone sind die Reaktionen mit Jodschwefelsäure und Chlorzinkjod, die von Sempolowski, Junovicz, Tschirch u. a. übereinstimmend erhalten wurden. Während die nicht lichtbrechenden Teile sofort blau oder violett werden, bleibt die Lichtzone zunächst ungefärbt, wird dann langsam gelb und bläut sich erst nach längerer Zeit. Sie verschwindet „nach längerem Kochen in Kalilauge“ (Sempolowski). Bei der Säurehydrolyse habe ich keine Veränderung bemerkt, so daß ich, da Hemizellulosen nicht vorliegen, einen Gehalt an Pektin oder an calloseartigen Stoffen anzunehmen geneigt bin. Bei Einwirkung starker Reagentien (Salpeter-, Chrom-, Schwefelsäure) wird zuerst die Lichtzone gelöst, der darüberliegende Teil der Prismenzellen hebt sich ab.

Des weiteren ist die Lichtzone „sowohl von der Molekularzusammensetzung, als auch vom anatomischen Bau der Zelle und von der Art der Zellwandverdickung abhängig“ (Junovicz) und schon Russow fand, daß die Verdickung der Wand an dieser Stelle zuerst einsetzt (Entstehung stark lichtbrechender Wülste).

¹⁾ E. Russow, Mém. de l'Ac. St. Pétersb., 1873, 7, XIX, S. 33.

²⁾ R. v. Wettstein, Verh. zool.-bot. Ges. Wien, 1888, XXXVIII, S. 41.

³⁾ A. Sempolowski, Bau d. Samenschale, Diss. Leipzig, S. 11.

⁴⁾ P. Pfaefflin, Entw., Bau u. Funktion d. Nabelspalte usw. praktisch wichtiger Papilionaceen-Samen, Diss. Bern, 1897, S. 35.

Hemizellulosen.

Hemizellulosen sind Polysaccharide, die (im Gegensatz zur Zellulose) sich leicht mit verd. Säuren hydrolysieren lassen und hierbei verschiedene Zucker (Mannose, Galaktose u. a.) liefern (E. Schulze)¹⁾. Zu den Hemizellulosen gehören Galaktane, Mannane, Arabane, Amyloid²⁾ (Galaktoaraban), ferner Pentosane, Methylpentosane, Xylane. Während die letztgenannten 3 Gruppen Gerüstsubstanzen darstellen, werden die übrigen in der Membran vielfach als Reservestoffe aufgespeichert und bilden, wahrscheinlich als Mischkohlehydrate, die starken, unverholzten Wände. Die Reservestoff-Hemizellulosen verleihen dem Endosperm die bekannte harte Konsistenz und treten häufig in Gemeinschaft mit Zellulosen auf; teils überwiegen Hemizellulosen, teils Zellulosen. Wir finden sie in Samen (Gramin., Palmen, Liliac., Oleaceen, Loganiac., Papilionac., Plantag. u. a.), in den sekundären Membranen mechanischer Elemente, des Leptoms und Parenchyms. Die innere Verdickungsschicht der Fasern (die Gallert- oder Knorpelschicht Sanios, Lit. S. 38,1) besteht bei unseren Sträuchern und Bäumen meist aus Hemizellulosen (Leguminos., Gnetac., Sterculiac., Urticac., Dipterocarp., Thymelac., Tiliac. u. a., Aisslinger, Lit. S. 540,5), ebenso im Leptom und im Grundparenchym vieler Knospen (Schaar)³⁾, selbst im Wurzelstock (*Plantago alpina* u. *montana*, Schellenberg)⁴⁾.

Die in den Membranen aufgespeicherten Hemizellulosen werden im Herbst aus Amylum gebildet (A. Fischer, Lit. S. 184,2), die der Samen aus zugeführten Hexosen. In den vegetativen Teilen kann die Hemizellulose nur in jenen Zellen gelöst und nutzbar gemacht werden, die noch einen lebensfähigen Plasmakörper besitzen. Die Lösung geschieht auf enzymatischem Wege. Im Libriform wurde Auflösung von Hemizellulosen beobachtet in Weidenstecklingen (Leclerc du Sablon⁵⁾), bei *Vitis vinifera* und *Robinia*, nicht aber bei *Fagus*, *Quercus*, *Fraxinus*, *Corylus*, *Alnus*, Schellenberg), ferner im Gewebe der Knospen bei *Fraxinus excelsior* (Schaar), *Betula*, *Alnus*, *Aesculus*, *Corylus* (Schellenberg). In den Bastfasern sind sie meist Baustoffe (Tilia),

¹⁾ E. Schulze in zahlreichen Arbeiten seit 1889 in Ber. chem. Ges., Ztschr. phys. Chem. u. Ber. bot. Ges. Pilze und Bakterien lösen ebenfalls die Hemizellulosen auf, M. C. Potter, On the Occurrence of Cellulose in the Xylem of Woody Stems, Ann. of Bot., 1904.

²⁾ J. M. Schleiden, Über das Amyloid, eine neue Pflanzensubstanz, Beitr. z. Bot., 1844. Von Reiss wurde noch die Zugehörigkeit des Amyloids zu den Hemizellulosen verneint (Landw. Jahrb., 1889, XVIII, S. 711).

³⁾ F. Schaar, Reservestoffbehälter der Knospen von *Fraxinus excelsior* L., Sitzb. Wien. Ak., 1890, XCIX, Sep.

⁴⁾ H. C. Schellenberg, Über Hemizellulosen als Reservestoffe bei unseren Waldbäumen, Ber. deutsch. bot. Ges., 1905, XXIII, S. 36.

⁵⁾ Leclerc du Sablon, Rech. phys. sur les matières de réserve des arbres, Rev. gén. de Bot. 1904 u. Compt. rend. 1898, CXXVII, 968.

bei *Ficus coronata* Reservestoffe (Aisslinger). Bei der Keimung der Samen wird im Endosperm oft die gesamte Membran durch Oxydasen gelöst, während im Keimling nur die Verdickungsschichten abschmelzen.

Ist schon in makrochemischer Hinsicht unsere Kenntnis der Hemizellulosen noch unzureichend, so sind wir in der Mikrochemie nur auf wenige Reaktionen angewiesen. Reiss gab noch an, daß die von ihm aus *Phoenix dactylifera*, *Phytelephas* und anderen Samen isolierten Reservezellulosen sich mikrochemisch nicht von Zellulose unterscheiden lassen. Wir bezeichnen derzeit alle nicht verkorkten und nicht verholzten Membranen, die sich durch Kochen mit verd. Säuren hydrolysieren lassen, als Hemizellulosen (s. unt.). Konzentration der Säure und Dauer der Einwirkung muß von Fall zu Fall erprobt werden. Meist genügt ein $\frac{1}{2}$ —1stündiges Kochen mit 5% Salzsäure oder ein $2\frac{1}{2}$ stündiges Kochen mit $2\frac{1}{2}$ % Schwefelsäure. Grüss (Lit. S. 427, 1) hydrolysiert (Libriform der Amygdalaceen) durch 12stündiges (und längeres) Kochen bei nur 70—75° in einem mit dem Rückflußkühler versehenen Kolben mit verd. Schwefelsäure (1.5 ccm Säure, 100 ccm Wasser). Auch geeignete Enzyme kann man benutzen, so löst die im Kirschgummi enthaltene Cytase (S. 427) das Galaktan des Libriforms der Amygdalaceen. Durch Prüfen der Kochflüssigkeit mit Fehling kann festgestellt werden, daß beim Kochen mit der verd. Säure die Hemizellulosen in Zucker übergeführt wurden. Zu diesem Zwecke müssen aber aus den Präparaten vor der Hydrolyse die Zellinhalte entfernt werden. Vorteilhaft wählt man stärke- und glykosidfreie Gewebe oder man trennt auf mechanischem Wege die betreffenden Elemente ab, was bei Fasern ausführbar ist. Bei Samen genügt in vielen Fällen (*Strychnos*) zur Hydrolyse ein kürzeres Aufkochen (3—5 Min.) in verd. Säure unter Deckglas.

Nach dem Kochen und dem Auswaschen der Präparate wird die Wirkung der Hydrolyse festgestellt. Die Membranen sind teils abgeschmolzen, teils zeigen sie Risse und Sprünge. Bei starker Hydrolyse erfolgt auch ein körniger Zerfall. Bei anderen Objekten erscheinen die Membranen in ihrer ursprünglichen Stärke, besonders wenn die Hemizellulosen mit Zellulose oder mit „Holz“ verestert sind. Bei Heranziehung von Vergleichspräparaten findet man dann oft, daß die Membran hyalin und ihr Lichtbrechungsvermögen ein anderes geworden ist. Die durch die Hydrolyse bewirkten Veränderungen gleichen denen, die in der Pflanze durch Enzyme bei der Mobilmachung der Reservestoffe stattfinden. Doch muß in allen Fällen die Herauslösung der Hemizellulose durch mikrochemische Reagentien festgestellt werden. Optische Betrachtung und Messen der Wandstärke allein können nicht immer einen sicheren Aufschluß geben.

Die Membranen werden vor und nach der Hydrolyse mit Jodreagentien, Kupferoxydammoniak und mit Farbstoffen geprüft. Da verschiedene Hemizellulosen vorliegen, so werden die Reaktionen verschieden ausfallen. Einige werden von Jodjodkalium oder Chlorzinkjod gefärbt (selbst vor der Hydrolyse), andere wiederum nicht. Seit langem bekannt ist die Blaufärbung des Amyloids sowie der Galaktane und Mannane mit Jodreagentien. Die Jodreaktionen hängen nicht nur von der Beschaffenheit der Membran, sondern auch von der der Reagentien ab. Oft reagieren die Membranen erst nach längerer Einwirkung (mehrere Tage). Auch das Alter der Reagentien ist von Einfluß (ihr Gehalt an Jodwasserstoffsäure). Im allgemeinen färbt eine mehrere Jahre alte Chlorzinkjodlösung (mit überschüssigem Jod) stärker und schneller als eine frisch bereitete Lösung. Nicht mit Chlorzinkjod reagiert die Hemizellulose im Samen von *Plantago*. Nach Schellenberg (Lit. S. 486, ¹) besteht die Membran im *Plantago*-Samen aus $\frac{2}{3}$ Hemizellulose und $\frac{1}{3}$ Zellulose. Wahrscheinlich liegt eine esterartige Bindung beider Körper vor. Die Membran nimmt während der Keimung an Stärke nicht ab, verliert jedoch ihr Lichtbrechungsvermögen und ändert ihr reaktionelles Verhalten. Im ruhenden Samen wird die Membran von Jodlösung nicht, von Chlorzinkjod nur sehr schwach violett gefärbt. Während der Keimung werden die Hemizellulosen gelöst und die Chlorzinkjodreaktion tritt nun um so schärfer ein, je mehr Hemizellulosen herausgelöst wurden. Den gleichen Effekt erzielt man durch Kochen mit 5% Salzsäure. Die in den Fasern von *Daphne pendula* mit Holzsubstanz veresterte Hemizellulose färbt sich mit Chlorzinkjod (Aisslinger). Die Fasern geben mit Chlorzinkjod eine rotviolette Färbung und gleichzeitig schwache Verholungsreaktion. Nach dem Kochen mit der Säure gibt Chlorzinkjod nur Gelbfärbung, die Phloroglucinreaktion tritt schärfer ein. Ein gleiches Verhalten zeigt die Jutefaser. Die Haare, welche die verkümmerten Samen von *Musa* einschließen, färben sich nur schwach mit Chlorzinkjod, kräftig mit verd. und starker Jodjodkaliumlösung. Nach der Hydrolyse färbt Jod schwach blau, Chlorzinkjod schwach rötlich (Jähkel¹⁾). Die Reservezellulose der Kerne der Dattel besteht vorzugsweise aus Galaktomannan; dieses wird von Chlorzinkjod blauviolett, von Jodphosphorsäure gelb, von Kongorot hellrot gefärbt. Ein gleichzeitig auftretendes β -Mannan bleibt in Chlorzinkjod farblos. Die Galaktan-Natur der Librifformverdickungen der *Prunaceen* kann durch Bildung von Schleimsäure ermittelt werden. „Die dünnen Späne wurden mit Wasser, Alkohol

¹⁾ P. Jähkel, Über Anatomie u. Mikrochemie der Bananenfrucht und ihre Reifungserscheinungen, Kieler Dissert., 1909, S. 23.

und Äther gereinigt, mit der zwölffachen Menge Salpetersäure (spez. Gew. 1,15) erhitzt und auf ein Drittel des Volumens eingedampft. Nach 24 Stunden fielen aus der filtrierten Lösung die charakteristischen Kristalle von Schleimsäure nieder“ (Grüss, Bot. Centrbl., 1887, LXX, 242).

Kupferoxydammoniak wirkt verschieden, Araban und Xylan wird gelöst, meist auch Amyloid. Über die Aufnahme von Farbstoffen liegen Erfahrungen von Grüss (Bibl. bot., 1896 Heft 49) vor. Heinricher (Lit. S. 552, 3) fand, daß amyloidhaltige Membranen (Samen von *Impatiens*), die sich nicht mit Chlorzinkjod färbten, Kongorot aus wässriger Lösung speicherten. Hingegen widerstehen viele Hemicellulosen nicht heißem Glyzerin bei 300° (eine Ausnahme bildet Amyloid, van Wisselingh, Lit. S. 552, 1).

Lichenin.

Lichenin (Flechtenstärke) wurde von Berzelius der gallertbildende Stoff von *Cetraria islandica* genannt. Lichenin besteht aus 2 isomeren Körpern ($C_6H_{10}O_5$)_n, von denen der eine sich mit kaltem Wasser ausziehen läßt und sich mit Jod bläut (Dextro- oder Isolichenin), während der andere, nicht mit Jod reagierende erst mit heißem Wasser ausziehbar ist¹⁾.

Zum Nachweis von Lichenin dienen Jodjodkalium und Rutheniumrot. Nach Tschirch²⁾ findet sich Lichenin nur in der Membran und zwar vorzugsweise in der Mittelschicht. Diese „ist es in erster Linie, die sich mit Jod direkt blau färbt und beim Kochen mit Wasser sich löst bzw. in eine Gallerte übergeführt wird. Die Färbung mit Jod, die stets nur an den Wänden auftritt, bleibt auch bei alter Droge nur selten aus, wenn man den Schnitt in Jod-Jodkaliumlösung einlegt und dann mit Wasser auswäscht“. Andererseits tritt nach Knop und Schnedermann (Lib. Ann. 1845) die Licheninreaktion auch im Inhalt und zwischen den Hyphen ein und in neuerer Zeit hat Tobler (Lit. S. 201, 3) die Reaktion zwar auch zunächst in der Mittelschicht beobachtet, doch „wurde zuerst der Inhalt der Zellen blau“, später bläuten sich die Zellwände des ganzen Thallus mit Ausnahme der Gonidien-schicht und der alleräußersten Schichten. Um den Eintritt der Jodreaktion zu beschleunigen, setzt man dem mit alkoholischer Jodlösung behandelten Schnitte Milchsäure zu. Derart hergestellte Präparate behalten die Färbung bis 6 Monate³⁾. Rutheniumrot gibt Rotfärbung in

¹⁾ Th. Berg, Z. Kenntn. d. in *Cetraria islandica* vork. Lichenins u. jodbläuen-den Stoffes, Dorpater Diss., 1872 u.: Pharm. Ztschr. f. Rußland, 1873, XII, S. 129.

²⁾ A. Tschirch, Handb. d. Pharmakogn., 1912, II, S. 266.

³⁾ F. Tobler, Mitt. üb. Verw. v. Milchsäure zur Beschleunigung u. Verbesserung gewisser Jodreakt., Ztschr. f. wiss. Mikr., 1910, XXVII, S. 366.

den Präparaten und färbt auch sofort den isolierten Körper (Isolichenin, Zopf) rot. Lichenin quillt in Wasser und löst sich leicht in Kupferoxydammoniak und in Alkalien.

Pektinmembranen.

Die bei der Zellteilung entstehende Zellplatte (S. 539) spaltet sich in 2 Lamellen, zwischen denen die sog. Mittellamelle zur Ausbildung gelangt (Treub, 1878, Strasburger, 1898 u. a.). Die Mittellamelle (primäre Membran) verbindet (verkittet) die benachbarten Zellen; sie wurde daher von Mohl (Üb. d. Verb. d. Zellen untereinander, Diss., 1835) Interzellulärsubstanz genannt. Diese Mittellamelle ist in vielen Fällen in steter Veränderung begriffen¹⁾. Bei der Bildung der Interzellulären spaltet sie sich und überzieht die Interzelluläräume als sog. Auskleidungen (S. 440). Da die Mittellamelle ein Produkt zweier Lamellen ist, so ist ihre Spaltung erklärlich. Größere Gewebelücken entstehen durch Auflösung der Mittellamelle und viele Schleime verdanken ihr ihre Entstehung. Ebenso geht die resinogene Schicht bestimmter Sekretbehälter und die melanogene Schicht aus der Mittellamelle hervor. Auch dort, wo die Zellen in innigem Verbands verbleiben, läßt sich vielfach eine Veränderung der Mittellamelle feststellen (sie verkorkt im Kork, Tilia), die sich mikrochemisch nur dadurch ermitteln läßt, daß die für die Mittellamelle eigenen Reaktionen nicht mehr eintreten (Sklerenchym, Pteris, Tilia).

Seit Mulder (1838) wurden die Mittellamellen und ihre Umwandlungsprodukte in Beziehung zu den von Payen aufgefundenen Pektinen gebracht. Die Pektine führen neben Pentosen und Hexosen wahrscheinlich noch Glykonsäuren im Molekül, stehen den Kohlehydraten zwar sehr nahe, geben aber im Gegensatz zu diesen mit Salpetersäure nicht Oxal-, sondern Schleimsäure. Die nähere Kenntnis der Pektine ist noch mangelhaft, zumal den makrochemischen Analysen offenbar nicht immer nur Produkte der Mittellamelle, sondern auch solche der sekundären Membran, selbst Zellinhalte, zugrunde liegen. Nach Mangin soll in der jugendlichen Zellwand Zellulose und Pektose vorliegen. Die Pektose löst sich in Kupferoxydammoniak erst nach Vorbehandlung mit verd. Alkalien oder verd. Salzsäure. Sie geht bei weiterem Wachstum der Membran in Pektinsäure über, die als Kalziumpektat die Mittellamelle der Gewebe bildet. Die sekundäre Membran soll aus Zellulose und Pektinen bestehen, die tertiäre Membran Zellulose sein. Von anderer Seite (s. unt.) wird Pektose als Bestandteil der Mittellamelle angenommen. Nach Allen liegen die Pektine in reinster Form in kräftig wachsenden Zellen und in jugendlichen Holzmembranen vor. Schroeder stellt die Pektine zu den Mucinen.

¹⁾ Ch. E. Allen, On the origin and nature of the middle lamella, Bot. Gazette, 1901, XXXII, S. 1.

Mucorarten lösen die Mittellamelle, daher vertritt Schellenberg¹⁾ die Ansicht, daß sie zum größten Teile aus Hemizellulosen besteht.

Viele Pektine gehen, wie die Entwicklungsgeschichte lehrt, aus der Membran hervor, doch verneint Pfeffer, daß sie sämtlich durch Metamorphose der Zellwand entstehen (Pflanzenphys., 1901, I, S. 476). Tschirch²⁾ verlegt ihre Bildung ausschließlich in die Mittellamelle.

Im polarisiertem Lichte tritt die Mittellamelle deutlich hervor; sie zeigt bei gekreuzten Nicols drei scharf getrennte Lamellen, die mittlere erscheint dunkel, die beiden äußeren, den Zellwänden anliegenden, sind hell (Dippel, Lit. S. 39, 5). — Die Mikrochemie der Mittellamelle und ihrer Umwandlungsprodukte ist gegenwärtig noch überwiegend auf Färbungen beschränkt.

Rutheniumrot wird vielfach benutzt (wässer. Lösung, 1 : 5000 bis 10000, bei Lichtschutz haltbar [es löst sich auch in Alaun- und Chlorkalziumlösung, nicht in Alkohol, Glycerin, Nelkenöl]). Ein Spezialreagens, das nur Pektine färbt, ist es nicht. Von den Inhaltsstoffen werden stickstoffhaltige Substanzen mitgefärbt. Körnerplasma, Chromatin, Zellkern färben sich (namentlich nach Vorbehandlung mit Alaun, Säurealkohol u. a.), dann Volutin (A. Meyer, S. 423, 4), Glykogen und Isolichenin (Tobler, Lit. S. 201, 3). Mehr ins Gewicht fällt, daß auch weitere Membranen höherer Pflanzen den Farbstoff speichern. Bei Gegenwart von Alkalien werden verholzte Wände mehr oder weniger rötlich gefärbt. Doch bietet Rutheniumrot bei kritischer Benutzung mannigfache Vorteile. Die Färbungen halten sich in Kanadabalsam und in Glyzeringelatine (im Gegensatz zu den übrigen Pektinfärbungen). In der Wirkung schließt es sich den basischen Farbstoffen an, die mit Zellulose und Callose nicht reagieren. Nach Mangin³⁾ färben sich die Pektine der Mittellamelle, sowie alle aus den Pektinen hervorgegangenen Körper (Pektinschleime und -gummi), so daß sich die Reaktion bei entwicklungsgeschichtlichen Studien als wertvoll erweist. Als geeignetes Versuchsobjekt empfiehlt Chalon (Lit. S. 553, 1) Kiefernholz (mindestens 3jährig), das zuvor 24 Std. in Salzsäure-Alkohol (1 + 3) und ebensolange in Ammoniak gelegen hat.

Dem Rutheniumrot schließen sich als Pektinfarbstoffe im Manginschen Sinne⁴⁾ Safranin, Methylenblau, Naphthylblau R an.

¹⁾ H. C. Schellenberg, Unters. üb. d. Verhalten einig. Pilze gegen Hemizellulosen, Flora, 1908, XCVIII, S. 257.

²⁾ A. Tschirch, Über Pektin und Protopektin, Ber. deutsch. pharm. Ges., 1907, XVII, S. 237.

³⁾ L. Mangin, Sur l'emploi du rouge de ruthénium en anatomie végétale, Compt. rend., 1893, CXVI, S. 653.

⁴⁾ L. Mangin, S. l. présence d. composés pectiques d. l. végétaux, Compt.

Diese Färbungen sind nicht haltbar (nur in 2% Borsäure einige Monate, Deckglasumrandung mit Vaseline-Paraffin). Zarte Schnitte gelangen entweder direkt in die Farblösungen oder sie werden zuvor einige Zeit mit Eau de Javelle behandelt, gut mit Wasser ausgewaschen und sodann mit 1,5% Essigsäure neutralisiert. Safranin färbt Pektinsubstanzen orangegelb (Kork und Holz kirschrot), Methylenblau violett (andere Zellbestandteile rein blau). Die Pektinfärbungen verschwinden beim Auswaschen mit schwach verd. Essigsäure oder Milchsäure, die übrigen Färbungen bleiben erhalten. Doppelfärbungen erhält man mit Naphthylblau R und Säuregrün JEEE (in 100 g Wasser je 1 g von den beiden Farbstoffen). Plasma, Kork, Holz grün, Pektine violett. Naphthylblau kann durch Neutralrot ersetzt werden. Nach Chalon werden Pektine außerdem noch von Hämatoxylin, Magdalarot, Corallin und Kongorot gefärbt.

Daß die angeführten Färbungen den Pektinen zukommen, läßt sich dadurch beweisen, daß aus den Schnitten entweder die Pektinstoffe oder die Zellulosen entfernt werden. Zur Entfernung der Zellulose werden zartere Schnitte 3 bis 4 Tage lang in einem niedrigen, gut verschlossenen Schälchen mit frischem Kupferoxydammoniak mazeriert, die Lösung wird einigemal erneuert. Bei verholzten Geweben muß die Mazeration bis mehrere Wochen dauern. Ist die Zellulose herausgelöst, dann wird die Lösung vorsichtig abgegossen, das Präparatenglas nebst den Präparaten in eine größere Porzellanschale gestellt und mit Wasser aufgefüllt. Die Schnitte lassen sich nun, ohne daß man sie zu berühren braucht, ins Wasser überführen, das einigemal erneuert und schließlich durch 3–5% Essigsäure ersetzt wird. In den vorsichtig auf den Objektträger gebrachten Schnitten tritt nach Befeuchten mit Jodlösung weder bei Zusatz von Phosphorsäure noch von Chlorzink die Zellulosereaktion ein; hingegen erhält man die oben genannten Pektinfärbungen. Nach Mangin werden die Pektine durch Kupferoxydammoniak¹⁾ in Pektinsäure übergeführt, die sich in Ammonoxalat und in verd. Ammoniak vollständig auflöst. Zum Gegenbeweis lassen sich die Pektine entfernen, so daß nur die Zelluloseanteile in den Schnitten zurückbleiben. Zu dieser Nachweise werden die Schnitte in 2% Salzsäure 1/2 Std. lang gekocht, gut mit Wasser ausgewaschen, dann in 2% Kalilauge oder Ammoniak gekocht und nochmals gründ-

rend., 1889, CIX, 579 und: Propriétés et réactions d. comp. pectiques, Journ. de Bot., 1892, VI, S. 206, 235, 363; Bull. Soc. Bot. d. France, 1894, XLI, S. 40.

¹⁾ Nach Kabsch sollte Kupferoxydammoniak ein Reagens auf Pektose sein, die dadurch in pektinsaures Kupfer übergeführt würde, Jahrb. f. wiss. Bot. 1863, III, S. 357.

lich ausgewaschen. Es ist empfehlenswert, die ganze Prozedur in einer Porzellanschale vorzunehmen, so daß ein Übertragen der Schnitte mit Nadeln fortfällt, aus Reagenzgläsern lassen sich die Schnitte nicht so leicht entfernen. Die zurückbleibenden Wände geben jetzt Zelloserereaktionen, färben sich aber nicht mit Pektinfarbstoffen.

Das Pektin der Mittellamelle soll pektinsaurer Kalk sein, weil, wie Mangin meint, zur Lösung Salzsäure nötig sei. Zur Isolierung der Zellen werden kleine Gewebestücke in Salzsäurealkohol (1 konz. Salzsäure + 3 Alkohol) mazeriert. Dadurch wird die Pektinsäure in Freiheit gesetzt. Die überschüssige Salzsäure und das gebildete Chlorkalzium werden mit Wasser entfernt. Die Pektinsäure ist unlöslich in Wasser und bleibt im Gewebe, die Zellen noch zusammenhaltend. Erst bei Zusatz von verd. Kalilauge, Natronlauge, Ammoniak oder von schwachen Lösungen von Alkalikarbonaten oder -phosphaten erfolgt Lösung der Pektinsäure und die einzelnen Zellen werden durch leichten Druck isoliert. Für die Anwesenheit von Pektinsäuren spricht ferner der Befund, daß die mit Salzsäurealkohol behandelten, gut ausgewaschenen Schnitte nicht zerfallen, wenn man sie in Kalk- oder Barytwasser taucht, da alsdann unlösliche pektinsäure Kalk- oder Barytsalze entstehen, die die Zellen von neuem zusammenkitten¹⁾. Will man die Pektinsäure zur Anschauung bringen, dann muß man die mit Salzsäurealkohol mazerierten Schnitte nach dem Auswaschen mit Wasser färben (Phenosafranin, Methylenblau). Die Pektinsäure erscheint stark gefärbt zwischen den Zellen als dünne Lamelle, während sie an den Interzellularen punkt- und knopfförmige, regellos angeordnete Verdickungen bildet (Blätter von Iris, Helleborus niger, Yucca).

Wille²⁾ tritt ebenfalls für Kalkpektat ein, da die Mittellamelle der Laminarien sich nach Vorbehandlung mit verd. Salzsäure in Natriumkarbonat auflöst. Bekannt ist das Auftreten von Kalzium in der Mittellamelle, doch fehlt der Beweis, daß das Kalzium an Pektinsäure gebunden ist, daß überhaupt Pektinsäure vorliegt. Gegen Pektinsäure sprechen die Erfahrungen bei der Mazeration (mit Ammoniak und anderen Alkalien, S. 39). Zudem soll sich nach Devaux³⁾ die Mittellamelle in alkoholischer Salzsäure (1. Säure, 4. Alkohol)⁴⁾ allein lösen. Dies dürfte, wenn ein Kalziumpektat vorläge, nicht eintreten, denn durch

¹⁾ L. Mangin, Substance intercell., Compt. rend., 1890, CX, S. 295.

²⁾ N. Wille, Physiol. Anat. d. Laminar., Christiania 1897.

³⁾ H. Devaux, Structure de la lamelle moyenne dans les tissus mous, Mém. Soc. de Bordeaux, 1903, III, S. 89.

⁴⁾ Die Schnitte werden 20 Min. mit der Säure mazeriert, dann aufgekocht (5–10 Min., die Zeit ist bei den verschiedenen Pflanzen erst auszuprobieren), mit Alkohol abgewaschen und in Wasser gelegt.

die Salzsäure würde das Kalziumpektat in Chlorkalzium und Pektinsäure zerlegt werden und die Pektinsäure ist in Wasser fast unlöslich. Nimmt man jedoch Pektose an, so würde sich der Zerfall der Schnitte nach der Behandlung mit alkoholischer Salzsäure erklären lassen. Durch die Säure wird Pektose in Pektin übergeführt und dieses ist in Wasser leicht löslich. Devaux findet ferner, daß Schnitte, die mit alkoholischer Salzsäure behandelt waren, vor dem Zerfall durch Eintragen in Alkalien bewahrt werden. Durch die Säure wird Pektose in Pektin verwandelt und letzteres durch Alkalien in Pektinsäure übergeführt, die in Wasser unlöslich ist, so daß die Schnitte nicht zerfallen. — Es bleibt somit strittig, ob Pektinsäure oder Pektose in der Mittellamelle vorliegt.

Die Fähigkeit der Membran Metalle zu speichern kommt nach Devaux¹⁾ den Pektinen zu. Die Schnitte kommen auf einige Augenblicke in Eisensulfat und werden mit destilliertem, dann mit, durch Essigsäure schwach angesäuertem Wasser ausgewaschen; sie färben sich nach Einwirkung von Ferrocyankalium blau. Die Blaufärbung, die sich durch Salzsäure verstärken läßt, hält sich in Gelatine und in Kanadabalsam. Zarte Membranen färben sich am stärksten. Schnitte, aus denen die Pektine zuvor entfernt wurden, färben sich nicht, Holzmembranen bleiben nach Vorbehandlung mit stark verd. Säuren farblos.

Die Zugehörigkeit der Pektine zu den tierischen Mucinen (S. 564) begründet Schroeder²⁾ mit den Angaben von Ishii³⁾. Dieser hat aus *Dioscorea japonica* und *batatas* einen Körper isoliert, der mit dem tierischen Mucin übereinstimmen soll. Beide Substanzen geben Biuret-, Xanthoprotein- und die Millonsche Reaktion. Beiden gemeinsam ist ihre Unlöslichkeit oder doch hohe Resistenz gegenüber Säuren, ihre Löslichkeit in verd. Alkalien, ihre Fällbarkeit durch gewisse Körper. „Auf Essigsäurezusatz zur alkalischen Lösung der Mucine erfolgt in gleicher Weise wie bei den Pektinen ein Niederschlag in Form einer schleimig zähen Masse. Auch das Mucin wird wie das Pektin von Alkohol bei Gegenwart einer hinreichenden Menge von Neutralsalzen gefällt. Pektoseschleime gerinnen durch Bleiazetat und Sublimat. Mucine werden gefällt.“

¹⁾ M. Devaux, Sur les réactifs colorants des substances pectiques. — Sur la coloration des composés pectiques, Procès-verb. de la Soc. Linnéenne de Bordeaux 1901.

²⁾ B. Schroeder, Chem. Verwandtschaft der tierischen Mucine mit den pflanzl. Pektinen, Bot. Centrbl., Beih., 1901, X, S. 122.

³⁾ Ishii, Imp. Un. Coll. Agric. Bull., 1894, II, S. 97. Mucin wird auch für die Aleuronkörner von *Fraxinus* angegeben (Lit. S. 490, 3).

Die **Pektine der Früchte**, die zur Auflockerung der Gewebe, zur Isolierung der Samen dienen, sind nach Tschirch (Lit. S. 563, ²) ausschließlich Produkte der Mittellamelle und lösen sich in konz. Rohrzuckerlösung. Zuckerlösung läßt sich somit zur Unterscheidung der unveränderten Mittellamelle von der in Pektinmetamorphose begriffenen benutzen. Mangin¹⁾ gebrauchte 1893 Zuckerlösung, um gehärtete Pektinschleime zur schnelleren Quellung und Lösung zu bringen. Rosenberg²⁾ benutzte bei einigen Früchten 35–65 % Rohrzuckerlösungen, in welchen er die Schnitte frischen Materials aufkochte und zwar nicht unter Deckglas, sondern „es ist Bedingung, die Präparate mit einer großen Menge Zuckerlösung längere Zeit im Reagenzglas zu kochen“. Die Versuche sind nicht einwandfrei. Bei den Pektinen der Umbelliferenwurzeln hat Tunmann³⁾ folgenden Weg eingeschlagen: Behandlung der Schnitte mit Methylenblau-Zuckerlösung in der Kälte und Feststellung der Quellung. Auch hiergegen lassen sich Einwände erheben; daher wurde stets „ein Vergleichspräparat vor der Behandlung mit Zuckerlösung erst mit Bleiazetat gehärtet“. Bei der Nachprüfung hielten diese Angaben einer Kritik nicht stand. Kocht man nämlich Schnitte (*Pirus malus*, *Ribes rubrum* u. a.) mit Wasser allein, so erhält man die gleichen Bilder wie mit Zuckerlösung. Wie es scheint, erfolgt die Lösung nicht durch das Wasser allein, sondern durch die im Gewebe befindlichen Säuren, an denen gerade Früchte bekanntlich sehr reich sind. Der Makrochemie zufolge sind übrigens viele Fruchtpektine mehr oder weniger leicht und vollständig in Wasser löslich. Ohne den Wert der Zuckerreaktion in Frage zu stellen, erscheint es doch unbedingt erforderlich, die Pektine in den Schnitten zu härten und die gehärteten Schnitte von den Säuren durch Wässern zu befreien und zwar vor der Zuckerreaktion, die unter Deckglas unter ständiger mikroskopischer Kontrolle auszuführen ist. Hällström (Lit. S. 381, ³) hat die Pektinmembranen von *Tamarindus indica* (reife Frucht) mit Zuckerlösung nicht zur Lösung bringen können. — Um die Pektinbildung entwicklungsgeschichtlich zu verfolgen, wird man bei Früchten verschiedene Reifestadien konservieren müssen; in Betracht kommen Alkoholdampf, verd. Alkohol, 1–3 % Formol (aber nicht 0,1 % Formol [Rosenberg], in dem Früchte bald faulen); systematische Untersuchungen hierüber liegen nicht vor.

Färbungen führen bei der Unterscheidung der unveränderten und

¹⁾ L. Mangin, Bull. d. l. soc. bot. d. France, 1893, XL, S. 119.

²⁾ E. Rosenberg, Über die Pektinmetamorphose, Berner Diss., 1908, S. 23.

³⁾ O. Tunmann, Bildung d. Luftlücken b. Wurzeln d. Umbelliferen, Pharm. Zentrbl., 1907, XLVIII, S. 885.

der in Pektinmetamorphose begriffenen Mittellamelle nicht zum Ziel, da beide mit gleicher Stärke Farbstoffe speichern. Die Pektine der Früchte färben sich ebenfalls mit allen Pektinfarbstoffen. Einen Fall, bei dem die Pektinbildung aus der Mittellamelle ohne weiteres aus der mikroskopischen Betrachtung hervorgeht (Verdickung und Verquellung), hat Tschirch (Anat. Atlas, S. 45) bei *Sambucus nigra* gefunden. Im allgemeinen bleibt aber nach meinen Befunden die Mittellamelle (*P. malus*, *P. cydonia*) bis zur Auflösung ungemein zart. Ähnliche Ergebnisse erhielt Jähkel (S. 39 der S. 562, ¹ ang. Diss.) bei Banane und Mispel: „da alle Zellen in den reifen Früchten locker nebeneinander liegen, läßt sich vermuten, daß die Mittellamellen der einzelnen Zellen irgendwie aufgelöst werden. Die Zellwände sind aber so dünn, daß eine Mittellamelle auch in unreifen Früchten nicht sicher zu erkennen ist. Als Färbemittel wurden Methylenblau und Rutheniumrot benutzt. Sowohl in harten wie in weichen Früchten färbten sich die Zellwände völlig gleichmäßig. In reifen weichen Früchten erscheinen höchstens die Wände nach innen (!) minder scharf begrenzt als bei unreifen“.

Der Trichomdeckel der Saugschuppen der Tillandsien besteht aus einem Zellulosegerüst mit reichlichen Pektinmassen, die nach Mez (Phys. Bromeliaceen-Stud., Jahrb. f. wiss. Bot. 1904, XL, S. 157) die Quellung bewirken. Chlorzinkjod färbt den Deckel, der sich nicht in Kupferoxydammoniak löst, schwach gelblich, Phloroglucinsalzsäure grünlichgelb; auch Rutheniumrot und Methylenblau färben ihn intensiv. Nach Vorbehandlung mit 5% Salzsäure und Kalilauge ruft Chlorzinkjod violette Färbung hervor.

Über Pektinschleime s. Schleime.

Die resinogene Schicht.

Das harzig-ölige Sekret sämtlicher Sekretbehälter und Drüsen entsteht nach Tschirch (Harze und Harzbehälter) in einer zu den Membranen der Sezernierungszellen gehörigen resinogenen Schicht. Eine Mitwirkung von Plasma bei der Sekretbildung ist ausgeschlossen (s. interzell. Plasma, S. 440 u. Plasmodesm., S. 522). Die mikroskopische Betrachtung zeigt, daß die resinogene Schicht der schizogenen Gänge und der sog. Zwischenwanddrüsen in Beziehung zu der Mittellamelle steht. Bei den Epidermaldrüsen und den Drüsenflecken wird die Schicht aus der unter der Kutikula gelegenen Lamelle der äußeren Drüsenwand hervorgehen. Die Ölzellen zeigen auch hier eine Abweichung (s. S. 220 ob.), da bei ihnen die Schicht der inneren Zelluloselamelle der Zelle aufgelagert sein muß.

Tschirch und Bécheraz¹⁾ studierten die Schicht der schizogenen Gänge, bei denen die Verhältnisse am deutlichsten zutage treten. Das Material wurde allmählich bis auf 100° im Trocken-

¹⁾ A. Bécheraz, Sekretbild. i. d. schiz. Gängen, Diss. Bern., 1893, S. 16 u. A. Tschirch, Harze u. Harzbeh. 1906.

schränke getrocknet. Aus dem Trockenmaterial wurden Schnitte hergestellt und das harzige Sekret durch Alkohol steigender Konzentration gelöst. Die resinogene Schicht tritt hervor, ihr sind Körnchen aufgelagert; sie ist nach innen von einer Haut („innere Haut“) abgegrenzt. Die Schicht wird mit Jodreagentien und Eisenchlorid gelb, quillt in Kalilauge, reagiert nicht mit Millon, löst sich nicht in Schwefelsäure und in Salzsäure, ist aber beim Erwärmen in Kaliumchlorat-Salpetersäure löslich, wobei „Körnchen und Leisten“ unverändert zurückbleiben. Farbenreaktionen wurden nicht erhalten. Der inneren Haut und der Schicht muß „jedenfalls die reine Zellulosenatur abgesprochen werden“. Später erhielt Tunmann¹⁾ aber Färbungen und zwar nur mit Pektin-farbstoffen, wodurch im Verein mit den Jodreaktionen die chemischen Beziehungen der Schicht der Gänge mit der Mittellamelle sichergestellt wurden. Gute Färbungen gaben Rutheniumrot sowie Bismarckbraun, Naphthylblau, Safranin und Methylenblau in konz. Rohrzuckerlösung. Die Färbungen mit den Rohrzuckerlösungen konnten Rosenthaler und Stadler²⁾ bestätigen.

Bei den Epidermaldrüsen und den Drüsenflächen ist die resinogene Schicht im allgemeinen schwerer sichtbar zu machen.

Tschirch beobachtete sie bei *Mentha* „in Gestalt eines der Kutikula anliegenden Netzes“ (Anat. Atl. S. 74) und Mitlacher (Ztschr. öst. Ap. Ver., 1908, LII, Nr. 1) fand sie derart bei getrocknetem Material nach vorsichtiger Behandlung mit Alkohol (unter Deckglas). Auch durch alkoholisches Chloralhydrat läßt sich die Schicht in dieser Form, die Tunmann (Lit. S. 34, 1) als Vakuolentyp bezeichnete, sichtbar machen (Fig. 126). Die im folgenden mitgeteilten Nachprüfungen zeigen aber, daß diese Vakuolenform ein Kunstprodukt ist und in Parallele gestellt werden muß mit jenen Schaumstrukturen, die Longo bei Schleimen (s. d.), Boresch bei Gummi (s. d.), Molisch bei Milch-

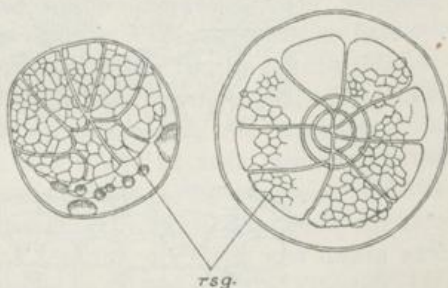


Fig. 126. Labiendrüsen, Trockenmaterial mit alkohol. Chloralhydrat behandelt. Der Schleim (rsg. = resinog. Schicht) hat sich in Netzstruktur (Kunstprodukt) ausgeschieden (Tunmann).

¹⁾ O. Tunmann, Über d. resin. Schicht. d. Sekretb. d. Umbelliferen, Ber. deutsch. pharm. Ges., 1907, XVII, S. 456.

²⁾ L. Rosenthaler u. P. Stadler, Ein Beitr. z. Anat. v. *Cnicus benedictus* L., Arch. d. Pharm., 1908, CCXLVI, S. 462.

säften beobachteten, und mit den „künstlichen Zellen“, die Beijerinck (Centrbl. Bakt., 1896, II, S. 697) aus Gelatine und löslicher Stärke erhalten hat. Bei den gleichen Objekten erhalten wir statt der Schaumstruktur die Schicht in „membranartiger Form“ auf folgende Weise: Wir schneiden mit der Schere vom Blattrande oder vom Nerven einen feinen Streifen ab und wählen eine Drüse, deren Sekret ausgetreten, breitgelaufen und mehr oder weniger eingetrocknet ist. Das Öl wird vorsichtig herausgelöst, wozu sich bei harzigen und fetthaltigen Sekreten auch Ammoniak eignet (Fig. 127). Nach dem Lösen der Öle und Harze zeigt sich eine Haut, die die gleiche Ausdehnung und die gleichen Umrisse besitzt, wie die ausgetretene Sekretmasse. Zuweilen ist eine

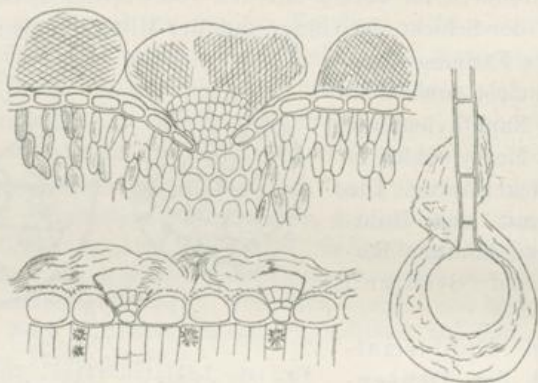


Fig. 127. Drüsen nach vollständiger Lösung der „harzigen“ Sekretanteile, der Schleim (resinog. Schicht) hat sich in membranartiger Form abgeschieden (Kunstprodukt); *Grindelia* (links ob., Kalilauge), *Eriodictyon* (unt., abs. Alkohol), *Salvia glutinosa* (rechts, Ammoniak, Alkohol, Äther) (Tunmann).

Streifung sichtbar, ebenfalls ein Kunstprodukt (Fig. 127). Bei künstlich entleerten Drüsen treten die Erscheinungen auch, doch nicht so gut, hervor.

Wir müssen daher annehmen, daß der Schleim (die resinogene Schicht) in den lebenden Sekretbehältern in flüssiger Form vorliegt und mit den Balsamanteilen des Sekretes eine Emulsion bildet. Nur dann, wenn die Schleimproduktion größer wird oder die Balsambildung übertrifft (schizogene Gänge, Umbelliferen, Kolleteren), ist der Schleim als Schicht vorhanden. Balsam- und Schleimbildung sind aber in der gleichen Pflanze im Laufe der Entwicklung nicht konstant. Am Ende der Vegetationsperiode überwiegt oft die Schleimproduktion. Außerdem zeigt der resinogene Schleim nicht in allen Stadien der Vegetation die gleiche Zusammensetzung. Bei Kompositen, Umbelliferen, Kolleteren

und Drüsenflächen wird er in jugendlichen Organen nach Reinigung mit Alkalien durch Jodreagentien blau, seltener blauviolett; wahrscheinlich gehen Zelluloseanteile später in Pektine über. Bei Labiaten erhielt ich nur Pektinreaktionen. — Bei den schizolysigenen Behältern bilden sich an den Außenwänden der den jungen Interzellularraum begrenzenden Zellen sog. Zellkappen, die nach Sieck¹⁾ „starke Quelfähigkeit“ zeigen (Chloralhydrat, abwechselnde Einwirkung von Wasser und Alkohol, Färbungen mißlingen). In den Zellkappen sollen Hohlräume sichtbar sein, in denen sich „eine hyaline gelbliche Flüssigkeit mit kleinen Körnchen abgeschieden“ hat, die durch „stark verdünnte Überosmiumsäure“ schwach braun gefärbt wird.

Die resinogene Schicht der Ölzellen ist noch strittig. Die Befunde Biermanns (Arch. d. Pharm. 1898) finden sich bei Tschirch. Nach eigenen Befunden wird die weitere Forschung hier unbedingt von Mikrotomschnitten ausgehen müssen. Vergleiche von fixiertem und lebendem Material sind erforderlich. Der von Berthold, Haberlandt u. a. (Lit. S. 222, 2) aufgefundenen, das Sekret umhüllende Beutel, welcher an der Wand befestigt ist, kommt für die Entstehung des Sekretes nicht in Betracht. Die Hauptfrage ist auch hier: sind in den Ölzellen mit Sicherheit schleimige Anteile (d. i. die resinogene Schicht) nachweisbar? In der ausgewachsenen lebenden Zelle fand ich stets nur einen großen Öltropfen im Zentrum der Zelle und diesen auch in Wurzeln mit einer Hülle umgeben. Diese Hülle (Beutel) hält Berthold für Zellulose, Müller für „eine stofflich umgewandelte Vakuolenwand“. Bei Aristolochiaceen fand ich sie resistent gegen Säuren, Alkalien und Kupferoxydammoniak; wahrscheinlich kommt ihr nur der Charakter einer „Grenzhaut“ zu. Der trichterförmige Stiel (Napf), der den Beutel mit der Membran verbindet, ist oft, doch nicht immer (Wurzeln) vorhanden. Bei weiteren Studien wäre die Frage zu prüfen, ob dieser Napf einen funktionslos gewordenen Entleerungsapparat darstellt.

Bei den Umbelliferen sind die Gänge vielfach durch Membranen ausgekleidet und zuweilen auch gefächert²⁾, welche sich erst im Laufe der Vegetation bilden. Diese Auskleidungen betrachtet Tschirch (Harze, S. 1129) als Reste der resinogenen Schicht, während A. Meyer (Lit. S. 221, 3) sie zu den „amorphen“ Membranen rechnet. Sie sind

¹⁾ W. Sieck, Die schizolysig. Sekretbehälter, Jahrb. wiss. Bot., 1895, XXVII, S. 197, Bern. Diss., 1895, S. 16.

²⁾ Auskleidungen und Querwände finden sich auch in den vegetativen Teilen der Umbelliferen; die Bildung ist eine Alterserscheinung (Tunmann, Lit. S. 217, 1), bei *Ferula* sind die Querwände sicher Ausscheidungen des Sekretes.

unlöslich in Schwefelsäure, Chromsäure, Kalilauge, Eisessig, Chloroform, Terpentinöl. Durch Salpetersäure und Kaliumchlorat werden sie gebleicht, sie lassen sich frei präparieren, wenn man die mit Ammoniak gekochten Früchte bis zum Zerfall der Perikarprien mit Kaliumchlorat-Salpetersäure erhitzt. van Wisselingh¹⁾ nannte die Substanz Vittin; die Vittinlamellen sollen keine Zellulosen führen; sie werden von verd. Chromsäure gelöst, geben die Cerinreaktion (s. Kork). Sie enthalten Pektinsubstanzen, da sie sich nach Vorbehandlung mit verd. Chromsäure mit angesäuerter Methylenblaulösung und mit Rutheniumrot färben. Außerdem soll aber, besonders in den mittleren Partien der Querwände, noch eine in Kalilauge leicht lösliche Substanz auftreten, die die Cerinreaktion nicht gibt. — Bei *Astrantia major* bestehen die Auskleidungen aus einer korkartigen Lamelle, die jedoch keine Phellonsäurereaktion zeigt, sowie aus einer verholzten Lamelle.

Phytomelane.

Phytomelane sind amorphe, schwarze, stickstofffreie Körper, deren Wasserstoff und Sauerstoff in annähernd gleichem Verhältnis wie bei den Kohlehydraten zugegen ist, deren Kohlenstoffgehalt (67—76%) ungemein hoch ist. Kompositenfrüchte führen 0.7 (*Zinnia elegans*) bis 6.9% (*Carthamus tinctorius*) Phytomelane. Sie werden durch mehrtägige Mazeration der Pflanzenteile mit Chrom-Schwefelsäure gewonnen, der Rückstand besteht aus Phytomelanen²⁾. In den Früchten bilden sie möglicherweise einen Schutz gegen Austrocknung, tierische Feinde u. a. Hanausek hat auf die Wechselbeziehungen zwischen Phytomelanen und Sekreten oder Oxalaten hingewiesen. Wo Phytomelane auftreten, fehlen Sekrete und kommen nur wenig Oxalate vor.

Bisher sind Phytomelane nur in Kompositen beobachtet worden. In Wurzeln (*Perezia*) fanden sie Th. Greenish (Pharm. Journ. 1884) und C. Hartwich (Chem. Ztg. 1885, IX, 1298), der ihre große Widerstandsfähigkeit gegen Reagentien erkannte; H. Kraemer und M. Sollenberger beschreiben sie in *Echinacea angust.* (Am. Drugg. a. Pharm. Rec., 1911, 23). Nach H. Solereder kommen sie (nach F. Ebert, Beitr. z. Kenntn. d. chin. Arzneisch., Diss. Zürich 1907, 97) „in den vegetativen Teilen der Tubulifloren nicht selten vor“. In Früchten, in denen sie sich zur Reife hin stark vermehren, so daß die reifen Achänen braunschwarz aussehen, wurden sie gefunden von: C. O. Harz (Samenkunde, 1885, II, 851) in *Helianthus*, R. Pfister (Ölliefernd. Kompositenfr., Landw. Versuchsst., 1894, XLIII) in *Carthamus*, A. Tschirch (Atlas 1900, 273) in *Arnica*, T. F. Hanausek in *Helianthus annuus* (Ber. d. bot. Ges., 1902, XX, 449), C. L.

¹⁾ C. van Wisselingh, S. les bandelettes d. Ombellif., Arch. Néerl. 1895, XXIX, S. 199.

²⁾ F. W. Dafert u. R. Miklausz, Unters. üb. d. kohleähnliche Masse der Kompositen, Denkschr. Wien. Ak., 1911, LXXXVII, Sep.

Gerdts (Bau u. Entw. d. Kompositenfr., Diss. Bern 1905, 55) in Rudbeckia und Coreopsis und Ebert in Xanthium, (Carthamus) und Silybum.

Die Phytomelane stehen entwicklungsgeschichtlich mit der Mittellamelle in Beziehung, die nach Hanausek zur „melanogenen Schicht“ wird. Ihre Entstehung erfolgt: 1. „an den Bastfasern mit Bildung einer primären erst farblosen, dann braunen Haut“ (in den meisten Fällen, dann als zusammenhängendes Netz mit Reagentien isolierbar), 2. „an den Bastfasern ohne Bildung einer primären Haut“ (selten, Arnica, dendritische Massen, Bidens, Xanthium), 3. „innerhalb des Sklerenchyms (sklerosierten Parenchyms)“, in Sclerocarpus und in Heliopsis und in Wurzeln.

Nach den umfassenden Untersuchungen von Hanausek¹⁾, der 600 Arten untersuchte, kommen Phytomelane in vielen Kompositenfrüchten vor; in Veronien, Astereen, Anthemideen, Calenduleen, Arcotideen sind sie bisher noch nicht gefunden; den Cichorieen fehlen sie. Die braunschwarzen Massen²⁾ wurden für eingetrockneten Milchsaft (Greenish) und Farbstoff (Harz, Pfister) angesprochen oder kurz als Sekret bezeichnet (Hartwich). Hanausek bringt zuerst ihr mikrochemisches Verhalten in Zusammenhang mit Kohle, Gerdts tritt für reine Kohle ein, was Ebert bezweifelt. Die makrochemische Analyse hat den hohen Kohlenstoffgehalt bestätigt.

Zum Studium dienen bei Wurzeln und Früchten dickere Epidermis- und Tangentialschnitte, die nach Behandlung mit stärkeren Aufhellungs- und Mazerationismitteln die schwarzbraunen Massen gut erkennen lassen. Die Massen sind unlöslich in Wasser, Glyzerin, Chloralhydrat, Salzsäure, Kalilauge, Ammoniak, Alkohol, Äther, Essigäther, Amylalkohol, Benzol, Anilin, Toluol, Chloroform, Azeton, Schwefelkohlenstoff, Petroläther, Terpentinöl u. dergl. Königswasser, Schwefelsäure, Salpetersäure sind ohne sichtbare Einwirkung, selbst beim Kochen. Daher benutzt man zur Isolierung Kaliumchlorat-Salpetersäure oder Chromschwefelsäure (S. 98 u. 454). Kieselsäure fehlt, doch hat Ebert beim Erhitzen auf dem Platinblech Schrumpfungen beobachtet und nach Gerdts löste sich ein Teil der veraschten Substanz in Säuren unter Kohlensäureentwicklung. Beide Angaben finden durch die jetzt ermittelte Zusammensetzung nur zum Teil ihre Erklärung. Ebert hat bei Xanthium und Coreopsis nach der Veraschung Eisenreaktion erhalten, läßt es aber fraglich sein,

¹⁾ T. F. Hanausek, Die „Kohleschicht“ im Perikarp der Kompos., Sitzb. Wien. Ak., 1907, CXVI, 1; S. 3; Neue Mitt. über d. sog. Kohleschicht der Kompos., Wiesner Festschr., 1908, S. 139; Unters. über die kohleähnliche Masse d. Kompos., Denkschr. Wien. Ak., 1911, LXXXVII, S. 93.

²⁾ O. Heineck (Z. Kenntn. d. fein. Baues d. Kompos., Diss. Gießen, 1890, S. 13) betrachtet sie fälschlicherweise als Kutikula.

ob das Eisen aus dem benachbarten Gewebe oder aus den schwarzen Massen stammt. Im Gewebe werden die Phytomelane wohl nicht in chemisch reiner Form vorliegen, so daß Beimengungen von Eisen in verschiedenen Fällen nicht ausgeschlossen sind (Fig. 128).

Die große Widerstandsfähigkeit der Phytomelane gegen Reagentien besitzen die Kerngummimassen (S. 238), besonders die der Farbhölzer und der Ebenhölzer. Die Entstehungsweise dieser Sub-

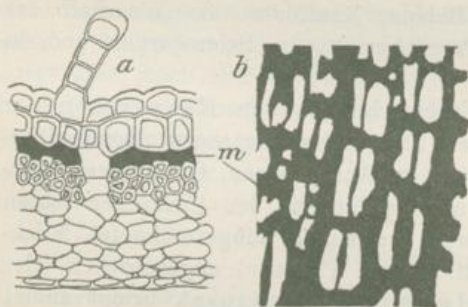


Fig. 128. Phytomelane (m), a) *Arnica montana* (Fruchtwand, Querschnitt), b) nach Ebert ein isoliertes Stück von *Xanthium strumarium* (Flächenansicht).

stanzen ist noch nicht aufgeklärt. Überwiegend wird, in neuerer Zeit auch von Tschirch (Lit. S. 238, 2), eine Bildung aus dem Plasma angenommen. Doch scheint sich auch die Membran, wenn auch nur sekundär, daran zu beteiligen. „Die Librifibrillen (bei Diospyros) sind dickwandig; je mehr Gummi sie im Lumen aufspeichern, umso dünnwandiger werden sie“ sagt Molisch¹⁾, der ebenso wie Belohoubek²⁾ die Füllmassen der Ebenhölzer für Humussäuren und Humuskohle deutet, was Praël (Lit. S. 98) und Will (Lit. S. 238, 3) verneinen. Im reaktionellen Verhalten bestehen zwischen den Phytomelanen der Kompositen und den Ebenholzmassen Unterschiede. Die Ebenholzmassen werden durch Kaliumchlorat-Salzsäure entfärbt und sind dann in Alkohol löslich. Den Phytomelanen wird eine Entstehung aus Zellulosen durch regressive Stoffmetamorphose zugeschrieben; hierbei können verschiedene Glieder einer Reihe entstehen.

Schleimmembran.

In chemischer Hinsicht sind die Schleime Hemizellulosen (S. 560), meist Galakto-Arabane; sie geben bei der Hydrolyse Galaktose sowie vergärbare Zuckerarten; es kommen ganz verschiedene Hexosen in Betracht, in vielen Fällen auch Pentosen; außerdem liefern sie bei der Salpetersäure-Oxydation Schleimsäure. Da unsere Kenntnis über die Pflanzenschleime noch in vieler Hinsicht lückenhaft ist, so empfiehlt Ruhland³⁾, als Schleime nur alle quellbaren, nicht fadenziehenden,

¹⁾ H. Molisch, Vergl. Anatom. d. Holzes d. Ebenaceen u. ihrer Verwandten, Sitzb. Wien. Ak., 1879, LXXVIII, Sep. S. 14.

²⁾ Belohoubek, Sitzb. böhm. Ak., Prag 1883, S. 384.

³⁾ W. Ruhland, Ber. deutsch. bot. Ges., 1906, XXIV, S. 393.

membranbildenden Polysaccharide zusammenzufassen. Zur Einteilung der Schleime benutzt schon Frank¹⁾ die Entwicklungsgeschichte und unterscheidet Schleime (und Gummis), die im Inhalt von Interzellularkanälen auftreten (Cycadeen, Marattiaceen), im Zellinhalt (Orchis), sowie aus der „Zellhaut“ (sekundäre Membran) entstehen (Linum, Plantago, Malvaceen). Ihm schließt sich in neuerer Zeit Tschirch²⁾ an, der ebenfalls Schleime der sekundären Membran und der Mittellamelle unterscheidet.

Die Pflanzenschleime sind fast ausschließlich Membransubstanzen. Sie entstehen sehr frühzeitig, zum Teil durch Umwandlung bereits vorhandener Membranen (Interzellularschleime höherer Pflanzen und der Algen aus der Mittellamelle). Die meisten Schleime werden direkt als Schleimmembran angelegt, dann ist die sekundäre Membran eine Schleimschicht. Bereits Naegeli und Cramer³⁾ faßten die Schleime aller Samen, der Wurzeln und der Cacteen als Verdickungsschichten

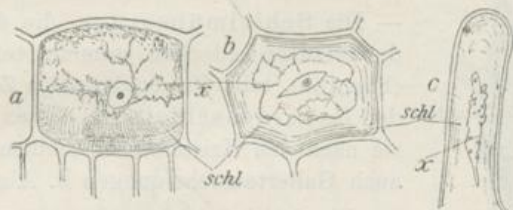


Fig. 129. Schleimbildung (lebendes Material, Alkohol-Pikrinsäure), a) *Cassia angustifolia* (Blatt, junge Epidermiszelle, Beziehung des Zellkernes zur Schleimbildung?), b) *Althaea officinalis* (Blatt, Epidermiszelle, Flächenansicht), c) *Helianthemum spec.* (Epidermis d. Samen, Amylodextrinkörner im Protoplasten); x = Protoplast, schl = Schleim (Tunmann).

auf und brachten sie in Gegensatz zum Gummi. Werden die sekundären Schleimschichten nur auf einer Seite der Zellen angelagert, dann sind sie zuweilen durch eine feine Zelluloselamelle von dem Zelllumen abgegrenzt (epidermale Schleimzellen der Blätter, *Cassia*, *Tilia*). Nach einigen Autoren wird der Schleim von *Althaea* (Hartwich⁴⁾) und anderer Malvaceen, der Tiliaceen, Sterculiaceen, Rhamnaceen u. a. (Lauterbach⁵⁾, Trécul⁶⁾) innerhalb des Plasmaschlauches gebildet;

¹⁾ A. B. Frank, Über die anatomische Bedeutung der vegetabilischen Schleime, *Jahrb. f. wiss. Bot.*, 1867, V, S. 198.

²⁾ A. Tschirch, *Ang. Anat.* 1889, S. 193 u. *Handb. d. Pharm.*, 1912, II, 280.

³⁾ C. Naegeli u. Craemer, *Phys. Unters.*, Zürich, Fr. Schultess, 1885.

⁴⁾ C. Hartwich, Schleimzellen v. *Althaea*, *Pharm. Centralh.* 1891, XXXII, S. 586 und: *Nat. Vers. Halle*.

⁵⁾ Lauterbach, Bau u. Entwickl. der Sekretbehälter der Cacteen, *Bot. Centralbl.*, 1889, XXXVII, S. 371.

⁶⁾ A. Trécul, Des mucilages chez les Malv., Sterculiac., Cact. et Orchid. indigènes, 1862, S. 314.

Frank und Wigand¹⁾ bezeichneten ihn als Membranschleim; nach de Bary (Vergl. Anat. S. 151) ist diese Schleimmasse „ihrer Entstehung und morphologischen Bedeutung nach nichts anderes als eine auf Kosten des Innenraumes stark verdickte Zellwand“; ihnen schließen sich Tschirch und Walliczek (Lit. 176, 2) an. Nach diesen Autoren entstehen die Membranschleime „durch Ausscheiden einer Schleimlösung seitens des Plasmas zwischen der primären Zellmembran und dem Plasma“ (Fig. 129). Die Orchisschleime sollen nach Frank (a. a. O. S. 161), A. Meyer²⁾ und Hartwich³⁾ innerhalb des Plasmaschlauches entstehen. Die Endospermschleime treten nach Frank, Tschirch und Nadelmann⁴⁾ zuerst ebenfalls in den Vakuolen des Plasmas auf und werden dann der Wand angelagert. Auch der Schleim der Marchantiaceen ist nach Prescher⁵⁾ eine Absonderung des Protoplasten und wird als Membranschleim abgelagert. — Die Schleimüberzüge, die die Oberfläche der Pflanzen bedecken, stammen teils aus Drüsen (Fig. 130), teils aus epidermalen Zellen. — Von den Raphidenschleimen wissen wir nur, daß sie nach den Kristallen erscheinen (s. S. 585 u. auch Gallertausscheidungen d. Algen).

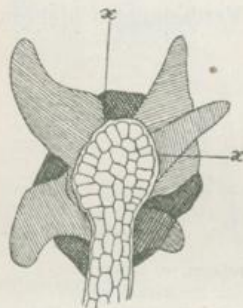


Fig. 130. Schleimdrüsen von *Viola* mit mehreren Schleimergüssen; bei x ist die Kutikula gesprengt (Tunmann).

studiert (Bull. Soc. bot., 1910, LVII, S. 399).

Die Schleime dienen als Schutzmittel, Samenschleime zum Keimungsschutz (Festkleben am Substrat, Schutz gegen Austrocknen, Quellungsmechanismus), Knospenschleime als Transpirationsschutz, Inhaltsschleime zur Wasserspeicherung und nach W. Peyer (Biolog. Unt. üb. Schutzstoffe, Flora 1911, CIII, S. 441) zum Schutz gegen Tiere (*Althaea*, *Symphytum*). Orchisschleim nimmt hier ebenfalls

¹⁾ A. Wigand, Über die Deorganisation der Pflanzenzelle, *Jahrb. f. wiss. Bot.*, 1864–65, III, S. 149.

²⁾ A. Meyer, Die Knollen der einheimischen Orchideen, *Arch. d. Pharm.*, 1886, CCXXIV, S. 325.

³⁾ C. Hartwich, Über den Schleim der Salepknollen, *Arch. d. Pharm.*, 1890, CCXXVIII, S. 563.

⁴⁾ Nadelmann, Über die Schleimendosperme der Leguminosen, *Jahrb. f. wiss. Bot.*, 1890, XXI, S. 609.

⁵⁾ R. Prescher, Die Schleimorgane der Marchantiaceen, *Sitzber. Wien. Akad.*, 1882, LXXXVI, 1, S. 132.

eine Sonderstellung ein und ist Reservestoff. Auch die Endospermschleime sind Reservestoffe. Bei Zutritt größerer Wassermengen gelangt der Epidermalschleim der Samen durch Sprengung der Zellen und der Kutikula an die Oberfläche (Fig. 131), was beim Einlegen von Schnitten meist nicht der Fall ist. Bei Schleimdrüsen erfolgt der Austritt nur an einzelnen Stellen der Kutikula und kann wiederholt vor sich gehen, da die subkutikulare Schleimbildung andauert (Fig. 130).

Die Schleime sind stark lichtbrechend. Nach Mangin sollen nur Zelluloseschleime doppelbrechend sein. Nach eigenen Erfahrungen sind sämtliche Schleime doppelbrechend, wenn sie trocken unter Deckglas betrachtet werden oder wenn Alkoholmaterial vorliegt. Erst bei Wasserzufuhr, beim Lösen, schwindet die Doppelbrechung langsam. In Trockenpräparaten von *Linum* erscheint der Schleim bei gekreuzten

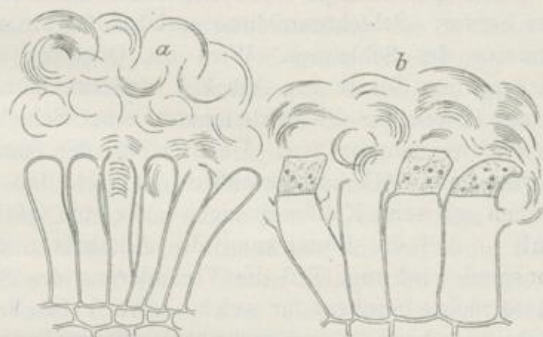


Fig. 131. Schleimentleerung der Samen bei starker Wasserzufuhr (mit Methylenblau), die Zellen zum Teil gesprengt und zerrissen; a) *Cydonia vulgaris*, b) *Linum usitatissimum*, die anhängenden Kutikulaefetzen zeigen Abdrücke der Stäbchen (Tunmann).

Nicols tiefgelb, bei Wasserzutritt grau; er verblaßt schließlich. Zuweilen ist ein dunkles Kreuz sichtbar (Handelspulver deutscher *Althaea* und bei *Orchis*)¹⁾.

Ohne Anwendung von Reagentien zeigen die Schleime nur in wenigen Fällen eine feinere Struktur²⁾. Diese tritt erst nach Behandlung mit Reagentien hervor. Es zeigen sich dann Schichten, zuweilen auch radiale Streifen, oder in den homogenen Massen radiale Risse, tüpfelartige Kanäle, ferner körnige Fällungen u. dergl. Selbst das Alter der betreffenden Organe kann von Einfluß auf die Struktur sein, so ist der Schleim jüngerer Samenhaare von *Lythrum salicaria* homogen, der älterer Haare strahlig radial und körnig³⁾.

¹⁾ Die Schleimballen von *Orchis* leuchten in den peripheren Teilen gelb, in den zentralen Teilen blaviolett im polarisierten Lichte.

²⁾ Die lebenden Schleimzellen der Zimtrinde zeigen Schichtung.

³⁾ Grütter, Über Bau und Entwicklung der Samenschleime einiger *Lythra-*rien, Bot. Ztg., 1893, LI, S. 1.

Die Schleime quellen in Wasser leicht auf, viele lösen sich sofort (zu den Ausnahmen zählt der Schleim von *Cinnamomum cassia*, der schwer wasserlöslich ist). Zum Studium muß die Quellung verzögert werden. Hierzu dient in erster Linie Alkohol. Daher wird meist Alkoholmaterial (absoluter Alkohol) oder getrocknetes und in feuchter Kammer erweichtes Material benutzt. Bei Objekten, bei denen im lebenden Zustande der Schleim beim Schneiden leicht ausfließt (*Orchis*, *Symphytum*) ist getrocknetes Material vorzuziehen. Alkohol fällt und härtet den Schleim, wobei er sich häufig gelb, selbst braun (*Marchantia*ceen, *Prescher*) färbt. Läßt man zu Alkoholpräparaten vorsichtig verd. Alkohol treten, den man durch Wasserzusatz weiter verdünnt, dann erfolgt Quellung (*Frank*). Gewöhnlich treten hierbei die Schichten deutlicher hervor. Schichtenbildung spricht oft (nicht immer) für die Membrannatur des Schleimes. Wird die Quellung unterbrochen und tritt bei erneutem Zusatz von Alkohol wiederum Kontraktion ein, so ist damit ein Beweis für die Schleimnatur einer Schichte erbracht. Doch kommen Abweichungen vor. Der Schleim der Samenhaare der *Lythrarieen* wird durch Alkohol dermaßen gehärtet, daß er sogar bei längerem Kochen mit verd. Kalilauge nicht mehr zum Quellen gebracht werden kann! — Auf die Einwirkung des Alkohols und auf seinen Konzentrationsgrad wird zum Teil die Veränderung des Schleimes der Haare der *Musafrüchte* beruhen, für welche *Jähkel* (*Lit. S. 562,1*) keine Erklärung beibringen kann. Durch mehrjährige Einwirkung von Alkohol war der Schleim knorpelig geworden, löste sich in heißem Wasser und quoll nicht in Kalilauge und Eau de Javelle. Nach zweitägiger Mazeration mit Salzsäure-Alkohol (1—3 T. Säure, 3—4 T. Alkohol) löste er sich leicht in Wasser. Reine Salzsäure und eine Mischung von 4 T. Salzsäure und 1 T. Alkohol waren wirkungslos. Der Schleim einer vor acht Jahren lebend in 90% Alkohol eingelegten *Althaeawurzel* ist unter Deckglas unlöslich in Wasser, Chloralhydrat und Kupferoxydammoniak. Es kommt offenbar nicht nur auf die Natur des Schleimes und auf den Alkohol allein an, sondern auch auf die anderen in der Pflanze befindlichen Körper (Säuren?). — Auch Strukturänderungen ruft der Alkohol hervor; im natürlichen Zustande homogene Schleime erhalten Schichtung, Cacteenschleime nach *Longo* (*Just Jahrb., 1896, I, 482*) Schwammstruktur.

Glyzerin kann oft Alkohol ersetzen, die Quellungserscheinungen sind ebenfalls von dem Konzentrationsgrad des Reagens abhängig. In konz. Glyzerin halten sich die Schleime augenscheinlich unverändert. Messungen zeigten, daß in geschlossenen Zellen bei *Orchis*- und *Althaeaschleimen* (gut verkittete Deckglaspräparate) nach 1 Monat nur geringe Quellungs Zunahme erfolgt war. In verd. Glyzerin tritt mehr

oder weniger rasch Verquellung ein. Konz. Rohrzuckerlösung leistet in vielen Fällen ebenfalls gute Dienste (Orchis, Scilla, Althaea, Sinapis u. a.). Walliczek, der gegenteiliger Ansicht ist, hat wahrscheinlich keine konzentrierte Lösung benutzt. Der Orchisschleim des Salep-pulvers wird selbst nach mehreren Tagen wenig angegriffen.

Alkohol und Glycerin sind die Hauptreagentien und wurden früher fast ausschließlich benutzt¹⁾. Als weitere Beobachtungsflüssigkeit empfiehlt Walliczek Rizinusöl-Alkohol (1 + 1). Die Schichtung des Alkoholmaterials bleibt erhalten, Quellung erfolgt nicht, die Präparate werden aufgeheilt. Zu Dauerpräparaten läßt man unter Deckglas den Alkohol des Gemisches verdunsten und schließt dann ein. Ohne Antiseptikum finde ich die Präparate nur kurze Zeit haltbar. Rizinusöl erschwert eine Weiterbehandlung der Schnitte. Vielfach ist Bleiessig (Orchis, A. Meyer) ein gutes Gerinnungs- und Härtungsmittel. Alkoholmaterial, mit Bleiessig behandelt, gestattet zuweilen Entfernung der Stärke. Cacteen-, Barosma-, Cassiaschleim quillt auch in Bleiessig (Walliczek). Mangin (Lit. S. 564, 4) hat ferner Eisenvitriol, Quecksilberchlorid und -azetat, Alaun und Chromalaun zur Gerinnung herangezogen. Doch stehen alle diese Mittel insofern dem Alkohol nach, als sie nur für bestimmte Fälle brauchbar sind, bei anderen versagen. Alaun bringt den Schleim des gewöhnlichen Leins zum Gerinnen, aber nicht den des großblumigen. Zudem kann bei Alkoholhärtung mit allen Farben gefärbt werden, während man bei der Wahl der anderen Härtungsmittel gleich die später anzuwendenden Farbstoffe berücksichtigen muß.

Zum Färben der Schleime bediente man sich anfangs ausschließlich der Jodreagentien. Jodjodkalium färbt die Schleime nur sehr schwach gelb (Cydonia rötlich), während das (eiweißhaltige) Plasma weit kräftiger gefärbt wird, doch kommt gleichzeitig der Schleim zum Quellen. Bessere Erfolge geben Jodglyzerin, alkoholische Jodlösung mit nachfolgendem Glycerinzusatz oder Jodzuckerlösung.

Der Schleim mancher Bakterien, der wahrscheinlich durch Verquellung der äußeren Membranschichten entsteht, färbt sich bei *B. Pasteurianum* und *B. Kützingianum* hellblau mit wenig Jodjodkalium (A. Meyer, Chlamydosp. u. Zellmembr. b. Bakt., Ber. bot. Ges., 1901, XIX, 428). Die Schleimfäden der Bakterien in den Wurzelknöllchen der Papilionaceen werden mit Chlorzinkjod in ihrer ganzen Dicke blau, die eingeschlossenen Bakterien nehmen dabei gelbbraune Färbung an (W. Beijerinck, Nat. d. Fäden d. Papilionaceenknöllchen, Centrbl. Bakt., 1894, XV, 728). Auch die Schleimschicht in den Drüsenflecken von *Populus nigra* wird durch Jodjodkalium gebläut (Tunmann, Lit. S. 222, 3).

¹⁾ Auch von Flückiger, Buccubl., Schw. Wehschr. Ch. u. Ph., 1873, XI, 435.

Mit Jodschwefelsäure (Ausführung S. 549) färben sich einige Schleime blau bis violett (*Salvia*, Hofmeister, 1858, *Cydonia*, Kützing, 1852, Cruciferen¹⁾, Cramer, 1855), die meisten werden nur gelb oder bleiben farblos (*Marchantiaceen*, *Orchis*, *Trigonella*, *Althaea*, *Linum*). Erstere wurden von Tschirch (Anat., S. 193) als Zelluloseschleime, letztere als echte Schleime bezeichnet. Die Reaktion läßt aber keine sichere Deutung zu. Denn gerade bei *Linum*, *Salep* u. a., die mit Jodschwefelsäure gelb werden, also echte Schleime wären, hat die makrochemische Analyse (Tollens) einen Zellulosegehalt ergeben. Überdies treten beide Färbungen sogar an dem gleichen Objekte auf. Nach Schaar²⁾ werden die Schleimschichten der Antheridien von *Polytrichum* mit Jodschwefelsäure zunächst gelbbraun, später erst blau. Die Reaktion tritt in der Mittellamelle zuerst und am stärksten auf. Außerdem ist bei Samen das Entwicklungsstadium von Einfluß. Bei *Magonia glabrata* (O. Rosenberg, Lit. S. 508) wird der Schleim noch kurz vor völliger Reife der Samen mit Chlorzinkjod intensiv blau (Stärke fehlt), während bei vollständig ausgereiften Samen der Schleim sich mit Jodreagentien nicht mehr färbt. Die Gummischleimmembran im Perikarp der Tarihülsen wird blaugrau (Hanausek, Lit. S. 379, 2). Der Schleim der *Scilla maritima* wird mit Jodschwefelsäure rötlich (Hartwich, 1889). Hingegen sind die Jodreagentien geeignet, um „plasmatische“ Fäden, die den Schleim durchsetzen (und die in älteren Schleimzellen deutlicher ausgebildet sind als in jungen), besser sichtbar zu machen (*Orchis*, *Aloe*).

Zuweilen (Pektinschleim der Mittellamelle) hat den Jodreaktionen eine Vorbehandlung der Schnitte mit verd. Kalilauge (bis mehrere Tage) voranzugehen. Die Interzellularschleime der Algen, die mit Jod meist nur gelb werden, zeigen nach der Reinigung mit Kalilauge Zellulose- und Hemizellulosereaktionen. — Soll Jodschwefelsäure zur Ermittlung von Zellulose in Schleimen dienen, dann muß die Reaktion an „gereinigten Schleimen“ vorgenommen werden. Die Reinigung wird oft schwierig sein. Der Schleim müßte zuvor derart gehärtet werden, daß eine Alkalibehandlung durchführbar wäre.

Kupferoxydammoniak löst viele (*Symphytum*, *Plantago*), doch nicht alle Schleime, oft mit intensiv blauer Farbe (*Trigonella*); andere Schleime quellen sehr stark auf (*Orchis*). Der Schleim von *Althaea* wird nicht gelöst, der von *Linum* bildet eine feste Gallerte.

¹⁾ d'Arbaumont, Nouv. observ. s. les cellules à mucilage des graines d. Crucifères, Ann. sc. nat. Bot., 1889, II, S. 125.

²⁾ F. Schaar, Bau u. Art der Entleerung der reifen Antheridien bei *Polytrichum*, Ber. deutsch. bot. Ges., 1897, XV, S. 479

Bei der Reaktion mit Kupfersulfat-Kalilauge (A. Meyer) werden die Schnitte einige Min. in konz. wässer. Kupfersulfat belassen (nur aus den angeschnittenen Zellen quillt der Schleim heraus) und dann in Ätzkali (50%) übertragen. Die Schleime von Orchis (A. Meyer), und der Malvaceen (Nestler) werden blau, der Parenchymschleim von Urginea wird grünlich (Hartwich).

Seit Hanstein (Lit. S. 221, 1) werden Anilinfarben zur Charakteristik herangezogen. Mangin teilt die Schleime in verschiedene Gruppen: Zelluloseschleime (sind selten, Orchis) werden durch Salzsäure-Alkohol völlig unlöslich und durch Jodreagentien kaum verändert; sie sind doppelbrechend und färben sich in saurem Bade mit Orseillin BB, Azorubin, Naphtholschwarz u. a., in alkalischem Bade mit Kongorot, Deltapurpurin, Benzopurpurin. Pektoseschleime (Malvac., Rosac., Tiliac., Cycadeen u. a.) geben fadenziehende Lösungen, werden durch Bleiazetat, Sublimat, Alaun und Eisenvitriol zur Gerinnung gebracht, durch Jodreagentien gelb gefärbt. Sie färben sich in neutralem Bade mit Bismarckbraun, Methylenblau, Methylgrün, Hämatoxylin¹⁾, Neutralrot. Diese Färbungen sind nur in 1–2% Borsäure einige Zeit haltbar und schwinden schnell in Alkohol, Glyzerin und Säuren. Hingegen gibt Rutheniumrot haltbare Färbungen; man läßt die gefärbten Schnitte an der Luft eintrocknen und schließt sie in Kanadabalsam ein (Linum, Plantago Psyllium, Cydonia, Cruciferen, Malvaceen). Nach Mangin sollen diese Schleime optisch inaktiv sein (s. S. 579). Callooseschleime (finden sich in Geweben, die der Auflösung entgegengehen) sind optisch inaktiv, lösen sich ohne Quellung in verd. Natron- und Kalilauge, quellen auf ohne sich zu lösen in alkalischen Karbonaten und Ammoniak. Sie färben sich in saurem Bade (Essigsäure) mit Anilinblau, in alkalischem Bade mit Rosazurin. Auch Corallin-Soda färbt. Diesen „einfachen“ Schleimen stellt Mangin „gemischte“ Schleime gegenüber; besonders verbreitet sind Gemische von Zellulose- und Pektoseschleime.

Es wird meist schwer sein, auf Grund von Färbungen die Natur eines Schleimes bestimmen zu können, wahrscheinlich, weil überwiegend Mischschleime auftreten. So färbt wässer. Kongorot (Heinricher, Lit. S. 552, 3) dunkelorange die Schleime von Althaea, Linum, Plantago Psyllium, Cydonia, Lepidium sativum, Orchis (lebendes und Alkoholmaterial). Der Schleim der Meerzwiebel wird von wässer. Kongorot orange (Hartwich) gefärbt, ebenso der Antheridienschleim von

¹⁾ A. Giraud, Du développement et de la localisation des mucilages chez les Malvacées officinales, Toulouse, Thèse, 1894, S. 6. Die Färbungen mit Hämatoxylin sind violett (Cydonia) bis blau (Malvaceen).

Polytrichum (Schaar). Eine Lösung in 70% Alkohol färbt Cacteen-schleim, nicht aber den von *Tilia* (Walliczek). Der Schleim der Drüsen von *Gunnera magellanica* speichert Methylenblau und Bismarckbraun, nicht aber Kongorot und Jodreagentien¹⁾. Der Schleim der Haare der *Acanthaceensamen* färbt sich mit Methylgrün, Methylviolett, Kongorot und Safranin²⁾. Die *Malvaceenschleime* werden mit alkohol. Safranin orange, mit Alkanna stahlblau, mit alkohol. Methylenblau³⁾. Hansteins Anilingemisch (S. 236) färbt den Schleim von *Orchis* rötlichgelb, von *Scilla maritima* violett (Hartwich), der Cacteen rötlich (Walliczek) und gibt bei *Malvaceen*, *Urticaceen*, *Linum*, *Plantago*, *Cinnamomum cassia*, *Trigonella* violettrote Färbungen (Tunmann). Corallin (S. 557) färbt *Orchis* orangerot, *Scilla* karminrot (Hartwich), *Endospermschleime* schlecht (Nadelmann). Rutheniumrot färbt *Cycadeen*, *Linum*, *Cydonia*, *Malvaceen*, *Cruciferen*, *Plantago*, aber nicht *Orchisschleime*. — Bei Färbungen von lebendem oder Alkohol-Material muß der Farbstoff entweder in wässriger oder in verd. alkoholischer Lösung (50—70% Alkohol) angewandt werden. Farblösungen, die mit konz. Alkohol hergestellt sind, färben meist nicht. Bei entwicklungsgeschichtlichen Studien muß man den Schleim vom Plasma unterscheiden. Diese Differentialdiagnose ist nicht leicht. Selbstverständlich muß man zur Beobachtung nur intakte Zellen wählen. Am schwierigsten ist die Feststellung des Hyaloplasmas. Ob die Plasmahaut stets mit Sicherheit identifiziert wurde, bleibt fraglich. Hierzu werden Doppelfärbungen empfohlen (Mangin). Bei Pektose-schleimen färbt ein Gemisch von Naphthylenblau und Säuregrün JEEE Plasma grün, Schleim blau, bei Calloeschleimen ein Gemisch von Anilinblau und Bismarckbraun Plasma violett-schwarz, Schleim blau. Walliczek legt die mit Eosin oder Nigrosin in (70% Alkohol) gefärbten Schnitte in absoluten Alkohol bis sich der Schleim entfärbt hat, „während der Plasmakörper durch den gehärteten Schleim verhindert wird, seine Farbe abzugeben.“ Meist wurden aber die Untersuchungen an Alkoholmaterial ausgeführt und nähere Angaben über die Konservierung (Stärke des Alkohols) nicht gemacht; hierdurch können schwerwiegende Irrtümer entstehen. Ganze Orchisknollen, die längere Zeit in 80% Alkohol gelegen hatten, zeigten eine „zentrale Höhlung“ im Schleime, die bekanntlich für Membranschleim charakteristisch ist.

¹⁾ J. Reimnitz, *Morph. u. Anat. v. Gunnera magell.*, Diss., Kiel, 1909.

²⁾ E. Schaffnit, *Beitr. z. Anat. der Acanthaceensamen*, Bot. Centralbl., Beih., 1906, XIX, S. 453.

³⁾ A. Nestler, *Die Schleimzellen der Laubblätter der Malvaceen*, Öster. bot. Ztschr., 1898, XLVIII, Nr. 3. Sep.

Erforderlich sind stets Nachprüfungen an lebendem Material. Ausgedehnte Verwendung verdiente die an lebenden Zellen ausgeführte Plasmolyse (Neutralsalzen) mit nachfolgendem Fixieren, sowie in einigen Fällen polarisiertes Licht.

Der **Raphidenschleim**, der als sackartige, homogene oder vakuolige Hülle die Raphiden einschließt (Fig. 26, S. 107), ist in chemischer Hinsicht ganz unbekannt. In seinem reaktionellen Verhalten weicht er meist von den Membranschleimen ab und steht den Pektinschleimen am nächsten. Zellulose führt er niemals. Er ist optisch inaktiv, quillt in Wasser unter Lösung langsam auf, schrumpft in Alkohol, bleibt in Jodzuckerlösung und Jodglyzerin sehr lange erhalten. Mit Jodreagentien färbt er sich im allgemeinen weit stärker als die Membranschleime, wird zuweilen (*Urginea*) mit Jodschwefelsäure rötlich. Die mit Kongorot und Corallin erhaltenen Färbungen weichen ebenfalls von den der Membranschleime ab. Methylgrünessigsäure, Gentianaviolett, Eosin färben oft nicht. Hierher zählen auch jene Schleime, die in den sog. „unvollkommenen Raphidenschläuchen“ (ohne Raphiden) bei verschiedenen Rubiaceen, Ampelideen, Onagrarien u. a. vorkommen.

Ein eigenartiges Verhalten zeigt der Schleim der Schleimhyphen mancher Pilze (*Polyporus* off.)¹⁾ und Flechtenpilze (in der Flechte *Physma dalmaticum*)²⁾, der der Membran entstammt. Hyphenäste und -enden oder bestimmte Strecken von Hyphen verdicken sich und nehmen dabei häufig wulstige und bizarre Formen an; ein Zelllumen ist nicht zu erkennen (Fig. 132). Die Schleimhyphen sind farblos, stark lichtbrechend, zuweilen (besonders im Alter) geschichtet, bis 250 μ groß und sehr widerstandsfähig. Sie sind unlöslich in konz. Mineralsäuren und in verd. Alkalien, quellen sehr wenig in Kupferoxydammoniak, nach längerer Zeit etwas in Chloralhydrat und in Wasser erst nach Wochen. Jodreagentien färben gelblich. Zellulosereaktionen sind auch nach Behandlung mit Alkalien und verd. Säuren nicht zu erhalten. Hierher zählen jedenfalls die von Buchholz (Lit. S. 237, 3) aufgefundenen Bildungen. Bei *Hymenogaster decorus* „erscheinen sie

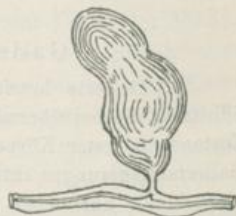


Fig. 132.
Polyporus officinalis,
Schleimhyphne (Tunmann).

¹⁾ Hier scheinen Beziehungen zwischen Schleim- und Harzhyphen zu bestehen, wie diese Tschirch bei den Schleim- und Ölzellen der Laurineen auffand (O. Tunmann, Lit. S. 94, 2 u. 217, 1).

²⁾ Em. Senft, Üb. eigentüml. Gebilde i. Thallus d. Flechte *Physma dalmaticum*, Sitzb. Wien. Akad., 1907, CXVI, 1, S. 429.

wie massive Glasstäbe, hin und her gewunden, scheinbar ohne Inhalt, jedoch in Wirklichkeit ganz mit einer lichtbrechenden Substanz erfüllt“.

Schließlich seien die Befunde von Sorauer (Ber. bot. Ges., 1912, XXX, 42) über die Schleimkrankheit von *Cyathea medullaris* erwähnt. Dort entstehen im Grundgewebe Schleimlakunen. Die dem Verschleimungsprozeß anheimfallenden Zellen vergrößern sich und zeigen ein durch freie Zellbildung entstandenes Maschennetz. Bei Färbung mit Methylgrün-Eosin wird das gesunde Gewebe leuchtend rosenrot, das erkrankte grün. Eisensulfat schwärzt alle Membranen, „um so intensiver, je erkrankter dieselben sind.“ Chlorzinkjod (frisch bereitet) färbt gesundes Parenchym tiefblau, die erkrankten Gewebe und die Schleimmasse braungelb. Bei den eben erwähnten Maschenzellen wird die Membran der Mutterzelle blau, die der Tochterzellen gelbbraun. Alizarin zeigt bei nachfolgendem Auswaschen alle erkrankten Teile und die Schleimmasse rot, das gesunde Gewebe ist entfärbt. Die Endprodukte des Verschleimungsprozesses erstarren nach dem Austritt aus der Pflanze nicht, im Gegensatz zum Gummi der *Amygdalaceen*. Erstere werden mit Salzsäure rot, letzterer gelb.

Gallertausscheidungen der Algen.

Als Gallerte bezeichnen wir den physikalischen Zustand einer schleimigen Substanz, die bei übermäßiger Wasserzufuhr so stark verquellen kann, „daß ihr Zustand als fester Körper zu weichen anfängt“ (F. Schütt, Lit. S. 441, 1). Die Gallertaufagerungen enthalten keine Zellulose (Jodschwefels. u. Chlorzinkjod färben nicht blau), überziehen die ganzen Pflanzen (*Zygnemaceen*) oder nur bestimmte Teile (*Desmidiaceen*) und bilden einen Schutz gegen Reibung (des Wassers u. a., W. Hunger, Funkt. d. oberflächl. Schleimbild., Diss. Jena, 1899). Sie werden vom Plasma teils durch Poren (Schütt), teils durch feine Kanäle aus schizogenen Gängen (*Laminarien*, Guignard) nach außen abgeschieden.

Die Gallerthüllen fallen in Wasserpräparaten nur wenig auf, da ihr Brechungsindex kaum von dem des Wassers abweicht. Bei starker Vergrößerung und abgestelltem Lichte sind sie besser sichtbar. Zur Sichtbarmachung bei schwacher Vergrößerung benutzt man Tuschepräparate (Errera, Einlegen der Objekte in einen Tropfen Wasser, in dem man etwas chinesische Tusche bis zur dunkelgrauen Färbung verrieben hat) oder trägt in Dahlia, Neutralrot, Karbolfuchsin, Safranin ein. Man kann auch den Tuschepräparaten wässer. Lösungen von Thionin oder Gentianaviolett zusetzen (Schroeder)¹⁾.

Die Gallertscheiden der *Zygnemaceen* bestehen aus einer Grundsubstanz und aus Einlagerungen (Klebs, Lit. S. 552, 2). Die Grundsubstanz ist zart, sehr schwach lichtbrechend, nicht quellungsfähig, in

¹⁾ L. Errera, S. l'empoli de l'encre de Chine en micr., Bull. Soc. belge d. Micr., 1884, X, S. 478. — B. Schroeder, Gallertbild. d. Alg., Verh. nat.-med. Ver. Heidelberg, 1902, VII, Heft 2 u.: Planktonpflanzen aus Seen v. Westpreußen, Ber. d. bot. Ges., 1899, XVII, S. 156.

heißem Wasser unlöslich, schwer und kaum färbbar und löst sich nur in stärkeren Säuren. Die Einlagerungen treten erst nach Behandlung mit Alkohol und nach Färbung mit nicht zu verd. wässrigen Lösungen¹⁾ von Methylenblau, Methylviolett, gerbsaurem Vesuvin und Fuchsin in Gestalt kleiner Stäbchen hervor, die sich nahe der Zellwand zuweilen zu einem feinen Netzwerk vereinigen. Sie bilden die Hauptmasse der Gallertsubstanz, lösen sich in Chlorzinkjod auf und können mit heißem Wasser ausgezogen werden. Die Scheiden nehmen in einer Lösung von 1% Glykose und 0.5% Pepton an Dichtigkeit zu. Die Ursache dieser Erscheinung ist nicht aufgeklärt. Klebs bringt sie mit dem Stickstoffgehalt und der leimartigen Natur der Einlagerung in Beziehung.

Charakteristisch ist die Fähigkeit der Gallerte nach Einlagerung gewisser Niederschläge den in Wasser löslichen, stäbchenförmigen Bestandteil der Scheide zu verquellen und abzustößen. Die Wirksamkeit der Niederschläge hängt von der Größe und der Form der Niederschlagsteilchen ab (Klebs). Deutlich kristallinische und grobkörnige Niederschläge bewirken keine Verquellung. Geeignet sind einige Eisen- und Chromverbindungen. Eine Anzahl Algen, die man in der Mitte mit einem Faden zusammenbindet, werden in 0.25% milchsaurem Eisenoxydul umgeschwenkt (1–2 Min.), auf einen Augenblick durch frisches Wasser gezogen und in 0.25% Ferricyankalium gebracht (Turnbulls Blau). Durch Wiederholung der Reaktion gelingt es die Scheiden tiefblau zu färben, ohne daß die Lebenstätigkeit der Algen leidet, die in reinem Wasser weiter kultiviert werden können. In gleicher Weise kann man 0.25% Kaliumchromat und 0.25% Bleiazetat benutzen. Bei den Niederschlägen geht die Abstoßung um so schneller vor sich, je weniger Turnbulls Blau oder Chromgelb eingelagert ist. Bei starker Einlagerung vollzieht sie sich erst innerhalb einiger Tage.

Bei den **Desmidiaceen** sitzen den Zellwandporen kugelige Gallertkappen auf²⁾, welche in Diastase (5 Min. bei 30–35°)³⁾ stark aufquellen. Man setzt den unter Deckglas liegenden lebenden Desmidiaceen anfangs sehr verd., allmählich konz. Lösungen von Gentianaviolett, Fuchsin, Methylenblau, Neutralrot, ferner Methylviolett oder Safranin zu und

¹⁾ Verd. Lösungen färben die Scheiden homogen, konz. bedingen Kontraktion der Scheiden.

²⁾ P. Hauptfleisch, Zellm. u. Hüßgall. d. Desmidiaceen, Diss. Greifswald, 1888, O. Müller, Kammern u. Poren in der Zellwand der Bacillariaceen, Ber. deutsch. bot. Ges., 1898, XVII, S. 400 u.: J. Lütkenmüller, Zellm. d. Desmidiaceen, Cohns Beitr., 1902, VIII, S. 347.

³⁾ A. Andreesen, Beitr. zur Kenntnis der Desmidiaceen, Flora 1902, XCIX, S. 373.

beobachtet die Einwirkung der Farbstoffe, die unter Wasserentziehung kontrahierend auf die Gallertmassen wirken. Bei in Alkohol gehärtetem Material läßt sich die Gallerte von der Membran durch plötzlichen starken Stoß auf das Deckglas trennen.

Bei **Protocoiden** ist zur dauernden Färbung gerbsaures Vesuvin geeignet. Die Gallerte von *Coelastrum reticulatum* widersteht der Schwefelsäure-Einwirkung, nimmt Farbstoffe schwer auf, Fuchsin färbt vorübergehend nach Vorbehandlung mit Chloralhydrat. Bei *Dictyosphaerium pulchellum* Wood. zeigt die Gallerte nach Färbung deutliche radiale Streifung. Mit Kaliumchromat-Bleiazetat entsteht ein Niederschlag von Bleichromat, doch findet hierbei keine Abstoßung statt (s. ob.). *Oocardium stratum* Naegeli zeigt eine relativ dünne Stäbchenschicht, die nach Färbung (gerbs. Vesuvin, wässer. Anilinblau) scharf hervortritt und eine strukturelose amorphe Gallerte (Senn)¹⁾. — Die Gallertmembran von *Volvox tertius* erscheint deutlich geschichtet, wenn man nach Färbung mit verd. Methylenblaulösung eine schwache Jodjodkaliumlösung zufließen läßt. Bei dieser Methode wird die Gallerte bei *V. aureus* und *V. globator* nur körnig (Lit. S. 525, 3).

Den Färbungen der Gallertscheiden kommt bei verschiedenen Gattungen ein diagnostischer Wert zu (F. Brand, Charakt. Algen-Tinktionen, Ber. d. bot. Ges., 1907, XXV, 497). Exsikkate werden zuvor 1 Tag lang in schwach essigsäurehaltigem Wasser aufgeweicht und dann auf 24 Stunden in eine verd. Farblösung gelegt (R. Chodat, Bull. Boissier, 1897, 302).

Die Gallertaufagerungen der **Phaeophyceen** und **Florideen** haften den Algen so fest an, so daß sie selbst bei Drogen noch erhalten sind, auch wenn diese längere Zeit gewässert haben. Sie verhindern oft den Eintritt von Farbstofflösungen ins Gewebe. Zur Sichtbarmachung bei Drogen eignen sich Methylenblau (violett) und Safranin (orange). Beim Erwärmen unter Deckglas ballen sich die Gallerthäute zusammen, ohne sich zu entfärben, durch Jodreagentien werden sie mehr oder weniger gelb, Kupferoxydammoniak löst sie (*Chondrus*) nicht (Tunmann, Lit. S. 509).

Hier seien die von Bruns (Lit. S. 510, 2) beobachteten Leuchtkörper erwähnt, die sich bei Florideen in der Gallertschicht in den Winkeln von zwei oder drei zusammenstoßenden Epidermiszellen finden. Es sollen solide, rundliche oder ovale Körper sein, die bei starkem Druck Risse und Spalten erhalten; sie leuchten nur im auffallenden Lichte auf, sind unlöslich in Wasser, Kalilauge, Salz- und Schwefelsäure, färben sich mit Jodlösungen blau und speichern Methylenblau

¹⁾ G. Senn, Über einige koloniebildende einzellige Algen, Bot. Ztg., 1899, LVII, S. 39.

und Bismarckbraun. Osmiumsäure läßt sie unverändert (Bonnemaisonia asparagoides) oder färbt nur etwas dunkel (Antithamnion cruciatum).

Gummi.

Als Pflanzengummi fassen wir klebrige, fadenziehende Polysaccharide zusammen, die ganz überwiegend der Membran entstammen. Es sind Körpergemische, die neben anorganischen Substanzen (Kalzium, Magnesium, Kalium u. a.), Enzymen, Methylpentosanen u. a. hauptsächlich aus Arabanen und Galaktanen (in wechselnder Zusammensetzung) bestehen. Denn die Gummis liefern bei der Hydrolyse meist neben nicht näher erforschten Methylpentosen vorzüglich Galaktose und Arabinose, jedoch keine (im Gegensatz zu den Schleimen) vergärbare Zuckerarten (Hexosen). Näher bekannte Bestandteile der Gummiarten sind Arabin (wasserlöslich, im Gummiarabikum), Cerasin (metarabinsaurer Kalk, quellbar, im Kirschgummi) und Bassorin (quellbar, im Bromeliaceengummi und im Tragant). Von einer ganzen Anzahl Gummiarten liegen Analysenbefunde vor. Doch muß bemerkt werden, daß die diesen Analysen zugrunde liegenden Gummis in ihren physikalischen und zum Teil in ihren chemischen Eigenschaften nicht völlig mit den im Gewebe auftretenden Gummimassen übereinstimmen.

Die Ansichten über die Gummibildung stimmen nicht überein. Nach vielen Autoren (u. a. Wigand [Lit. S. 578 1], Moeller¹⁾) setzt die Gummibildung in der primären Membran ein und schreitet von außen nach innen fort, nach Grüss (Lit. S. 427, 1) wird die sekundäre Membran hydrolytisch in Gummi übergeführt, welches die tertiäre Membran durchbricht und sich im Zelllumen ansammelt. Tschirch (Anat. S. 196 u. 210) sagt: „Die Vergummung scheint hier (Amygdalaceen) von der mittleren Membran auszugehen“, aber beim Kirschgummi „zuerst wird die primäre Membran und zuletzt werden die inneren Schichten von außen nach innen aufgelöst“. Nach Mikosch (Lit. S. 379, 1) beginnt die Bildung beim Kirschgummi jedoch „stets in den Verdickungsschichten und schreitet von hier nach außen hin fort; zuletzt werden die primären Membranen gelöst“. Bromeliaceengummi entsteht ausschließlich in der Mittellamelle (Boresch²⁾). Lutz³⁾ schließt sich der Ansicht von Mohls⁴⁾ über die Bildung des Tragants aus den Membranen des Markes und der Markstrahlen an. Nach Butler⁵⁾ beginnt bei Prunus und Citrus die Gummosis in den sekundären Lamellen und greift dann in die primäre Membran über. Den Gummifluß bei Steinobstbäumen hat Linsbauer (Verh. d. öst. Obstb.- u. pom. Ges. 1911) verfolgt. — Jedenfalls setzt die Gummibildung in der Membran ein und erhält die

¹⁾ J. Moeller, Acaciengum., Sitzb. Wien. Ak., 1875, LXXII, 1, 219.

²⁾ K. Boresch, Über Gummifluß bei Bromeliaceen, nebst Beitr. zu ihrer Anatom., Sitzb. Wien. Akad., 1908, CXIII, S. 1033.

³⁾ L. Lutz, Sur la mode de formation de la gomme adraganta, Bull. Soc. bot. France, 1910, LVII, S. 250.

⁴⁾ H. v. Mohl, Entstehungsw. d. Tragant, Bot. Ztg., 1857, XIV, S. 36.

⁵⁾ O. Butler, A study on gummosis of Prunus and Citrus usw., Ann. of Bot., 1911, XXV, S. 107.

Bildungsstoffe aus dem Zellinhalte¹⁾. Zwischen Gummi-, Schleim- und Harzbildung scheint im Pflanzenreiche völlige Übereinstimmung zu herrschen. Alle drei Prozesse scheinen nach gleichen Gesichtspunkten zu verlaufen. Legt doch Mikosch (Fig. 133) der Gummibildung den gleichen Vorgang zugrunde, den Tschirch für die Schleimbildung (*Althaea*) und für die Bildung des ätherischen Öles in Ölzellen angibt (Ausscheidung von gummibildenden Substanzen durch den Plasmaschlauch und Anlagerung dieser an die Zellwand). Wie bei den Schleimen wird man eine Gummibildung aus primärer und aus sekundärer Membran unterscheiden können; doch läßt sich hier die Genese nicht zur Einteilung benutzen, da beide Entstehungsweisen oft gleichzeitig erfolgen.

Die Gummosis wird meist als ein pathologischer Vorgang angesprochen, der auf Wundreizen (mechanische Verletzungen, Tiere, Mikroorganismen, Smith, Ruhland, Ber. d. bot. Ges., 1907, XXV, S. 302

u. a.) und auf enzymatischen Prozessen (auch Beijerinck, Rant, Rech. s. l. nécrobiose, Corbeil, 1905) beruht. Doch kommt normalerweise in nicht verletzten Organen Gummi vor (Gummigänge, im jungen Frühjahrsholz, Grüss). Nicht alles Gummi ist nutzloses Sekret. Nach Grüss verläuft bei der Gummosis ein normaler Vorgang nur „übernormal“. Zur Wundheilung scheint Gummi nicht in gleicher Weise wie Harz zu dienen. „Die, verschiedenen Bromeliaceen zugefügten Stichwunden heilten durch Korkbildung aus“ (Boresch). Der Gummifluß zeigt vielfache Übereinstimmung mit den von Tschirch für den Harzfluß ermittelten Gesetzen. Durch den Wundreiz wird vom Kambium ein gummierzeugendes Gewebe gebildet.

Gummibildung erfolgt in vielen Familien (Amygdalaceen, Leguminosen, Bromeliaceen, Aurantiaceen, Combretaceen, Meliaceen, Sterculiaceen, Anacardiaceen, Araliaceen u. a.).

Gummi läßt sich derzeit nur dann mit einiger Sicherheit im Gewebe nachweisen, wenn durch den makrochemischen Befund die Anwesenheit von Gummi sichergestellt ist. Dies ist beim Gummifluß der Fall, bei dem größere Gummimassen auftreten und man an der Oberfläche der Pflanzenteile ausgetretenes Gummi antrifft. Bei geringen Gummimengen ist der Nachweis nicht einwandfrei zu erbringen, besonders ist eine Unterscheidung von Gummi, Pektinmassen und Schleimen

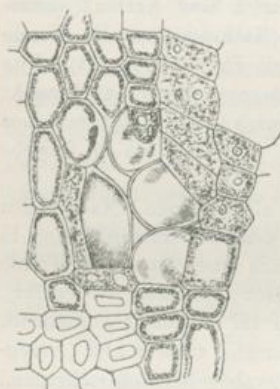


Fig. 133. *Prunus*, Gummibildung in den Zellkappen eines Interzellularraumes; mit Benutzung einer Zeichnung v. Mikosch u. Iltis.

¹⁾ Zu den bei der Gummibildung benutzten Zellstoffen zählen Phloroglykottannoide und Stärke, letztere läßt beim Kirschgummi enzymatische Einwirkung erkennen (mit Jod rotbraun), bei Bromeliaceen nicht (mit Jod nur blau); vergl. außerdem F. v. Höhnelt, Material, welches zur Bild. d. arab. Gum. in der Pfl. dient, Ber. d. bot. Ges., 1888, und J. Wiesner, Chem. Ztg., 1906 u. a.

ungemein schwierig. Bei einiger Vorsicht im Präparieren kann man lebendes Material anwenden. Die Schnittfläche wird von dem ausgeflossenen Gummi befreit, die ersten Schnitte werden verworfen. Unter den folgenden Schnitten finden sich meist einige brauchbare Präparate (Mikosch). Ob eine Übertragung der schmierigen Gummisubstanz auf andere Gewebe stattgefunden hat, läßt sich auf optischem Wege ermitteln. Ein allen Anforderungen genügendes Härtungsmittel ist nicht bekannt. Alkohol unter 50% härtet nicht und stärkerer Alkohol macht das Material für das Schneiden zu spröde und bewirkt in zartwandigen Elementen „Rißbildungen und Schrumpfungen, die auch bei nachherigem Wasserzutritt nicht mehr rückgängig gemacht werden können“. Bei längerem Liegen in Alkohol bildet Gummi zuweilen Wabenstrukturen (Bromeliaceen, Boresch, s. S. 589, 2). Brauchbar ist öfter Austrocknen des Materials. Kleinere Stücke werden bei mäßiger, langsam ansteigender Wärme getrocknet. Versuche mit Schleimhärtungsmitteln wären zu erproben. Die einzelnen Gummiarten werden naturgemäß verschiedene Härtungsmittel erfordern.

Bei Präparaten¹⁾ lebenden Materials dient das polarisierte Licht als brauchbares Hilfsmittel. Die Zellwände sind bekanntlich doppelbrechend, leuchten bei gekreuzten Nicols auf. Alle in Gummibildung begriffenen Wände haben diese Fähigkeit verloren, sind optisch isotrop (*Astragalus creticus*, *Prunus*, W. Hofmeister [Pflanzenzelle, S. 345], Mikosch). Liegt aber getrocknetes oder Alkoholmaterial vor, so werden die Gummimassen mehr oder weniger anisotrop und stimmen alsdann mit dem ebenfalls anisotropen Handelsgummi überein (Wiesner). Der diagnostische Wert der optischen Verhältnisse erfährt eine Einschränkung, denn nach eigenen Befunden zeigen viele in Schleimbildung sowie in Pektinmetamorphose befindlichen Wände das gleiche Verhalten. Im gewöhnlichen Lichte treten Gummimassen und Gummimembranen hell hervor und heben sich von den normalen Zellwänden durch ihr Lichtbrechungsvermögen ab.

Ein Spezialreagens für sämtliche Gummiarten gibt es nicht und kann es bei der wechselnden Zusammensetzung des Gummis nicht geben; man müßte denn ein gutes Reagens auf die stets anwesenden Galaktosen ermitteln. Dadurch sind ebenfalls die sich widersprechenden Befunde über Färbungen zu erklären. Man wird in erster Linie die Hauptbestandteile vieler Gummis nachzuweisen suchen. Da Gummi sich nicht so leicht wie viele Schleime im Wasser löst, oder bis zur Unkenntlichkeit verquillt, so kann man Wasserpräparate studieren. Auf

¹⁾ Von Kirschgummi lassen sich Halbdauerpräparate mit Rizinus-Alkohol (gleiche Teile) herstellen.

diese läßt man zunächst stark verd. Alkohol (20⁰/₀), allmählich konz. einwirken und stellt sofort die bei jedem erneuten Zusatz eintretenden Veränderungen fest.

Arabin, der wasserlösliche Anteil mancher Gummis (Kirschgummi) wird an der körnigen Fällung erkannt, die Alkohol, noch mehr angesäuerter Alkohol, hervorruft und die bei Wasserzutritt wieder verschwindet (nach Mikosch soll Arabin im Zellinhalt auftreten). Cerasin zeigt, wenn es in der Gummimasse überwiegt bei Alkoholzusatz keine Trübung, sondern wird homogen kontrahiert und ist in Kalkwasser löslich (Mikosch fand es in- und außerhalb der Zellen). Bassorin ist wasserunlöslich und steht möglicherweise den Pektinen nahe. Chloralhydratlösungen (20—40⁰/₀) werden sich ebenfalls diagnostisch verwerten lassen.

Des weiteren werden Färbungen ausgeführt. Vielfach ist man der Ansicht, daß die Färbungen wenig beweisen, doch geben die gefärbten Präparate einen besseren Einblick. Mangin benutzte Ruthe-niumrot (s. Pektine), wahrscheinlich sind Gummis, die sich mit Ruthe-niumrot färben, bassorinreich. Lutz¹⁾ wendet ferner an: Neutralrot (2.25 T. Casella Rot in 20 T. Alkohol, 90⁰/₀, und 30 T. destill. Wasser) und Säuregrün (10 T. in gleicher Lösung). Neutralrot färbt Gummi rosafarben und rot. Färbt man mit Säuregrün nach, so werden die Plasmakörper grünlichblau und die Membranen sollen nach Mikosch rotorange, nach Lutz grün werden. Hansteinsches Anilinviolett (S. 236) gab mir bei *Prunus* stark rosenrote Färbung. Boresch färbt Bromeliaceengummi mit Anilinblau und Gentianaviolett.

Gummimembranen (Amygdalaceen) färben sich mit Chlorzinkjod gelb und geben, falls sie verholzt waren, Phloroglucinsalzsäurereaktion. Die braunen Gummimassen von *Aechmea miniata* var. *discolor* führen einen (mit Eisensulfat grün werdenden Gerbstoff). Das Gummi von *Quesnelia roseo-marginata* wird mit Jodkalium oder Jodwasser grün (Boresch).

Frank (Ber. bot. Ges., 1884, II, 321) gibt Gummikörnchen an, die sich nicht in Wasser (auch nicht in warmem), Alkohol, Äther, Kalilauge, Schwefelsäure lösen, Fuchsin speichern, Phloroglucinsäurereaktion geben und beim Kochen mit Salpetersäure Oxalsäure und Schleimsäure liefern.

Eine Gummimembran gibt Heinricher (Lit. S. 94, 1) in der Schwellenschicht der Kapsel von *Lathraea clandestina* an (stark quellbar, unlöslich in Wasser und Alkohol, löslich in Eau de Javelle, nicht färbbar mit Kongorot, Corallinsoda und Jodreagentien). — Über die Bildung des Chagual-Gummi hat Hartwich berichtet (Ztschr. öst. Ap. Ver., 1896, XL, 565), über Moringa-Gummi machten Jadin und Boucher Angaben (Bull. sc. pharm. 1908, S. 247).

¹⁾ L. Lutz, Sur la marche de la gommose dans les Acacias, Bull. Soc. Bot. de France, 1895, LII, S. 467.

Holzmembran.

Die älteren Autoren faßten die Holzmembran als ein Gemenge von Zellulose und „Inkrusten“ (Frémy, Lignin [de Candolle]) auf. Die Inkrusten geben die für Holz typischen Reaktionen. Jetzt wird angenommen, daß in der Holzmembran eine einheitliche komplexe Verbindung vorliegt, eine esterartige Verbindung der Zellulose mit aromatischen Stoffen. Die Natur der aromatischen Substanzen ist noch strittig (Vanillin, Coniferin, Czapeks Hadromal). Sicher ist, daß sich unter den Abbauprodukten des Holzes Brenzkatechin und Protokatechusäure finden und daß sich aus den Sulfitlaugen Brenzkatechin, Vanillin und Methylfurfural gewinnen lassen. Die bei niedriger Temperatur ausgeführte Hydrolyse liefert Essigsäure und Ameisensäure; der aromatische Komplex führt demnach Formyl- und Azetylgruppen. Der Menge nach treten die aromatischen Anteile stark zurück. Viele Hölzer enthalten 80% an Zellulose und Hemizellulosen (Mannan, Galaktan, Xylan).

Über die physiologische Bedeutung der Verholzung sind die Ansichten geteilt. Nach Sachs bewirkt die Verholzung „Steigerung der Härte der Zellohaut, Verminderung ihrer Dehnbarkeit, leichte Durchdringlichkeit für Wasser ohne bedeutende Aufquellung“. Sonntag sagt, daß verholzte Membranen „eine große Duktilität zeigen, sie sind imstande, auch über die Elastizitätsgrenze hinaus auf sie wirkenden Kräften nachzugeben“, Schellenberg, „daß die verholzte Membran nicht mehr wachstumsfähig sein möchte“ (wird von Nathansohn, *Jahrb. wiss. Bot.*, 1898, XXXII, 671, verneint). Jedenfalls werden die mechanischen Eigenschaften einer Membran durch die Verholzung nicht verändert¹⁾.

Verholzte Membranen sind stärker lichtbrechend als die reinen Zellulosemembranen und leuchten im polarisierten Lichte auf, starke Wände zeigen hierbei ein dunkles Kreuz. Sie sind mehr oder weniger gelb. Bei ultramikroskopischer Betrachtung zeigen sie annähernd parallele Reihen stark leuchtender und großer Micellen, zwischen denen sich optisch leere Reihen finden (Gaidukov, *Lit.* S. 439).

Als verholzt wurde früher jede Membran angesprochen, die mit Jodreagentien keine Zellulosereaktion gab und sich mit Kalilauge gelb färbte. Auch Chlorzinkjod (jetzt noch zuweilen benutzt, gelb) ist kein Verholzungsreagens, da es in gleicher Weise mit Hemizellulosen und Pektinen reagiert. Schon 1834 fand Runge (*Pogg. Ann.*, XXXI, 65), daß ein Holzspan mit Phenol-salzsäure bei Belichtung blaugrün wird. Die Reaktion führten Tiemann u. Haarmann (*Ber. chem. Ges.*, 1874, VII, 608) auf Coniferin zurück. Der mikrochemische Nachweis wurde von Wiesner erbracht.

¹⁾ J. Sachs, *Lehrb. d. Bot.*, IV. Aufl., 21. — P. Sonntag, D. Beziehung zwisch. Verholzung, Festigkeit und Elastizität veg. Zellwände, *Landw. Jahrb.* (H. Thiel), 1892. — H. C. Schellenberg, *Beitr. z. Kenntn. d. verholzt. Zellmembran*, *Jahrb. f. wiss. Bot.*, 1896, XXIX, 237. — Warburg, *Ber. bot. Ges.*, 1893, XI, 425.

Anilinsulfat wurde, anknüpfend an die Befunde Schapringers, von Wiesner¹⁾ eingeführt. Die Schnitte werden auf dem Objektträger in Anilinsulfat gelegt (1. Anilins., 70. Wasser, 30. Alkohol, 3. Schwefels.). In gleicher Weise läßt sich salzsaures Anilin²⁾ benutzen. Der Säurezusatz verstärkt die Färbung (gelb), die sich in Dauerpräparaten hält. Da aber Oxalate von den Säuren nach längerer Zeit angegriffen werden, so ist für Dauerpräparate eine Lösung von 2 ccm Anilin, 4 ccm Essigsäure und 194 ccm 50% Alkohol anzuraten³⁾. Bei an sich stark gelb gefärbten Membranen tritt die Reaktion nicht augenfällig in Erscheinung.

v. Höhnel⁴⁾ fand, daß Kirschholzextraktlösung mit Salzsäure kräftig rotviolett färbt und nannte die wirksame Substanz Xylophilin. Wiesner⁵⁾ zeigte aber, daß ein Gemisch von Phloroglucin und Brenzcatechin vorliegt und führte die Phloroglucinsalzsäure-Reaktion ein. Die Schnitte kommen auf dem Objektträger in Phloroglucinalkohol (0.1 : 10.0, bei Lichtabschluß jahrelang haltbar), dann wird das Deckglas aufgelegt und nach einiger Zeit (wenn ein Teil der Lösung verdunstet ist) am Deckglasrande etwas Salzsäure zugefügt. Man kann auch eine Lösung aus 0.1 Phloroglucin, 6.0 Alkohol und 4.0 Salzsäure benutzen. Verholzte Membranen werden violettrot. In Dauerpräparaten ist die Färbung nicht haltbar, sie verblaßt und wird gelblich.

Einige Zeit war die Zuverlässigkeit der Phloroglucinsalzsäure in Frage gestellt. Mäule⁶⁾ fand, daß verschiedene Bastfasern, die sich mit Phloroglucinsalzsäure rot färben, in ihrem physikalischen Verhalten mit unverholzten Membranen übereinstimmen. Er führte als Verholungsreagens Kaliumpermanganat ein. Die Präparate gelangen auf 5 Min. in eine Schale mit 1% wässer. Permanganatlösung; sie färben sich braun. Nun werden sie ausgewaschen, indem man die Lösung abgießt und mit Wasser auffüllt. Alsdann werden die Schnitte 2 Min. lang mit verd. Salzsäure behandelt, abgewaschen und auf dem Objektträger mit Ammoniak versetzt oder Ammoniakdämpfen ausgesetzt (Ammoniakflasche). Die Reaktion ist etwas zeitraubend. Bei Objekten, die gerbstoffartige Körper enthalten, müssen zur Erzielung klarer

¹⁾ Schapringer, *Dingl. polyt. Journ.*, 1865, CLXXVI, 166 u.: J. Wiesner, *Karstens bot. Unt.*, 1866, I, 200.

²⁾ F. v. Höhnel, *Kork u. verk. Gew.*, Sitzb. Wien. Ak., 1865, LXXVII, 507.

³⁾ A. Falck, *Simarubarind.*, *Arch. d. Pharm.*, 1912, CCL, 45.

⁴⁾ F. v. Höhnel, *Histochemische Untersuchungen üb. d. Xylophilin und das Coniferin*, Sitzb. Wien. Ak., 1877, LXXVII, 1, 527.

⁵⁾ J. Wiesner, *Note über d. Verhalt. d. Phloroglucins u. einiger verw. Körper zur verholzten Zellmembran*, Sitzb. Wien. Ak., 1878, LXXVII, 1, 60.

⁶⁾ C. Mäule, *Verhalten verholzter Membranen gegen Kaliumpermanganat*, *Fünfstücks Jahrb.*, 1902.

Bilder dünne Präparate angewandt werden (Tunmann, Lit. S. 101, 1). — Mäule, v. Faber¹⁾ u. a. fanden nun, daß verschiedene Membranen sich mit Phloroglucinsalzsäure röten, mit Permanganat aber farblos bleiben (*Hippuris*, *Endodermis*, *Quercus*, Kork, *Anamirta*, *Hydathoden*, *Boehmeria platyphylla*, Fasern). Andererseits färben sich die Fasern von *Anamirta cocculus*, *Erythrina lithosperma* (Aisslinger) und viele primäre Fasern (Tunmann) mit Phloroglucin schwach, mit Kaliumpermanganat stark. Nach v. Faber sollte Phloroglucinsalzsäure ein Reagens auf Hadromal sein, das aber nicht in allen Holzmembranen vorkäme. Aisslinger hält Kaliumpermanganat zur technischen Prüfung der Fasern für geeignet, je brauner die Fasern werden, um so minderwertiger sind sie.

Die Differenzen klärte Gêneau de Lamarlière²⁾ auf. Bei der Reaktion läßt sich Kaliumpermanganat als Oxydationsmittel ersetzen durch rauchende Salpetersäure (Gelbfärbung, je länger die Säure einwirkt, um so schwächer ist die Färbung), durch Kaliumhypochlorid, mit etwas Kalilauge versetzt (Gelbfärbung) und durch 1 % bis 5 % wässer. Chrmsäure (Rotfärbung). Bei Gymnospermen und Gefäßkryptogamen muß das Permanganat unbedingt ersetzt werden durch gesättigte Kaliumchloratlösung und verd. Salzsäure. Die Salzsäure ist durch andere Säuren (Schwefelsäure, Phosphorsäure), der Ammoniak durch andere Alkalien ersetzbar. Die Manganat-Reaktion tritt um so stärker auf, je stärker die Oxydation war, während gleichzeitig die Phloroglucinreaktion an Stärke abnimmt. Die Manganatreaktion wird durch ein „Ligninoxyd“ hervorgerufen; tritt sie also nicht ein, wohl aber die Phloroglucinreaktion, so muß in der Membran ein „Lignin“ vorliegen.

Die Phloroglucinsalzsäure wird mit Recht am meisten benutzt³⁾. Die Reaktion ist die sicherste (färbt bereits sehr schwach verholzte Wände) und in der Ausführung die einfachste. Die Angabe Ihls, daß die Pyrrolreaktion (s. unt.) empfindlicher sei, trifft nach eigenen Befunden nicht zu. Irrtümer können nur dort unterlaufen, wo harzige Sekrete bestimmte Körper führen (Ferulasäure, Vanillin), welche die Membranen (bes. sezernierender Zellen) imprägnieren (vergl. S. 217 ob.). — Zuweilen bewirkt Salzsäure allein eine schwach rötliche oder violette Färbung. In diesen Fällen enthalten die Zellen des Präparates phloroglucidische Körper, welche die Reaktion hervorrufen.

¹⁾ v. Faber, Z. Verholzungsfr., Ber. d. bot. Ges., 1904, XXII, S. 167.

²⁾ L. Gêneau de Lamarlière, Recherches sur quelques réactions des membranes lignifiées, Rev. gén. de Bot., 1903, XV, S. 149.

³⁾ B. Korn, Unters. üb. techn.-mikr. Unterscheid. einiger Fasern, insbes. d. Leinen- u. Hanffaser, Diss. Dresden 1910.

Später wurden weitere Reaktionen bekannt, die aber sämtlich der Phloroglucinsalzsäure-Reaktion nachstehen.

Rote, violette und blauviolette Färbungen geben folgende Reaktionen: Resorcin (Wiesner, alk. Lös. + Salzs., violett), Orcin (Ihl, Chem. Ztg., 1885, IX, 266, alk. Lös. + Salzs., dunkelrot), Pyrrol (Ihl, Chem. Ztg., 1890, XIV, 1571), Methylheptenon (Erdmann, Ber. chem. Ges., 1899, XXXII, 1213), Dimethylparaphenylendiamin (Wurster, Ber. chem. Ges., 1887, XX, S. 808), Indol (Niggel, Flora 1881, LXIV, 545, wässer. Lös. + Schwefels. [1 + 4], kirschrot), Skatol (Mattiolo, konz. alk. Lös. + Salzs., violett), Carbazol (Mattiolo, Ztschr. wiss. Mikr., 1885, II, 354, konz. alk. Lös., Erwärmen + Säure [1 + 1] u. a. Auch Glieder der aliphatischen Reihe können benutzt werden. Amylalkohol (A. Kaiser, Chem. Ztg., 1902, XXVI, 335, gleiche Vol. furfurolfreier Amylalkohol u. konz. Schwefels., bis zur Gasentwicklung erwärmt, ein rotgelbes Gemisch, färbt rot bis blau), Isobutyl- u. Hexylalkohol (Grafe, Öst. bot. Ztschr., 1905, LV, 174), 2 Vol. + 1 Vol. Schwefels., 30 Min. Einwirkung, färbt rotviolett, beim Einlegen in Glycerin blau.

Von diesen Reaktionen beansprucht die mit Isobutylalkohol Beachtung, bei der sich Ferula- und Kaffeesäure nicht färben (bei Sekretbehältern u. a.).

Grüne bis blaue Färbungen geben: verschiedene Phenole in Verbindung mit Salzsäure. Auch Bromwasserstoffsäure färbt blaugrün (Grafe, Monatsh. Chem., 1904, 1029). Die Angabe H. Warnekes (Pharm. Ztg., 1888, XXXIII, 574), daß rauchende Salzsäure allein die Farben bedingt, trifft nicht für alle Hölzer zu, auch wird durch Phenol die Färbung verstärkt. Man benutzt: Phenol (v. Höhnelt, konz. wässer. Lös., mit Kaliumchlorat gesättigt + Salzs.), Pyrogallol (Wiesner), Kresol, Guajacol (Czapek, Ztschr. phys. Chem., 1899, XXVII, 141), Anisol, Anethol (Ihl), Naphthol, Thymol (Molisch, Ber. bot. Ges., 1886, V, 303, alkohol. Lös. + Kaliumchlorat + Salzs.). — Auch Thiophen (Ihl) gibt Grünfärbung.

Gelbe Färbungen geben: Diphenylamin (Ellram, Lit. S. 837), Lepidin (Ihl), α u. β Naphthylamin (Nickel, Lit. S. 1921), Paratoluidin (Singer, Sitzb. Wien. Ak., 1882, LXXXV, 345), Metaphenylendiamin (Molisch, Verh. zool. bot. Ges. Wien, 1887, 30) u. a.

Orange Färbungen geben: Toluilendiamin (R. Hegler, Flora, 1890, LXXXIII, 31, konz. wässer. Lös. + Salzs., färbt stärker als Anilinsulfat, haltbar in Gelatine, Schnitte zuvor gut mit Fließpapier abtrocknen), Thallinsulfat (konz. Lös. [Wasser + Alkohol, 1 + 1], färbt haltbar ohne Säure, wichtig für oxalatführende Dauerpräparate), Phenylhydrazin (färbt zuweilen, Lit. S. 1881).

Die angeführten „Ligninreaktionen“ sollen nach Wiesner, Singer, de Wèvre¹⁾, Hegler u. a. durch Vanillin-Coniferin hervorgerufen werden. Hegler wollte mit Thallin-Thymol die Mengenverhältnisse der beiden Stoffe ermitteln (0.5 Thallinsulfat, 1.0 Thymol, 2 ccm Wasser,

¹⁾ A. de Wèvre, La lignine, Bull. Soc. Belg. Micr., 1889, XV, S. 49.

26.5 ccm Alkohol, 0.5 Kaliumchlorat, vor Gebrauch + 1 Vol. Salzs.). Thallin reagiert nur mit Vanillin (gelb), Thymol nur mit Coniferin (blau)¹⁾. Überwiegt Vanillin (junge Holzwände), so wird die Färbung mehr gelb, überwiegt Coniferin (alte Holzmembranen), dann entsteht eine mehr blaue Färbung. Nach Nickel²⁾ sprechen die Reaktionen nur für aromatische Aldehyde (Anilinsulfat, reagiert auch mit Salicylaldehyd, reines Vanillin reagiert schwächer als Holz) und Seliwanoff³⁾ zeigte, daß Holz Aldehydreaktion mit Fuchsin-schwefl. Säure (violett, S. 230, 2) gibt; nach Vorbehandlung mit Hydroxylamin bleibt die Reaktion aus. Nach Czapek kommen die Reaktionen dem Hadromal (1-3-4-Substitutionsprodukt des Benzols) zu. — Durch Pilze (*Merulius*, *Armillaria* u. a.) werden die Ester der Holzsubstanz zerstört.

Verholzte Wände sind (im Gegensatz zur Zellulose) unlöslich in Kupferoxydammoniak, aber löslich in konz. Chromsäure (wie Zellulose und Hemizellulosen und im Gegensatz zu Kork und Kutikula). In konz. Schwefelsäure⁴⁾ löst sich Holz schwer, meist erst nach längerer Zeit; sehr stark verholzte Wände sind unter Deckglas zuweilen unlöslich.

Die aromatischen Anteile des Holzes werden entfernt⁵⁾ durch mehrtägige Mazeration mit Eau de Javelle, durch Kaliumchlorat-Salpetersäure und Bromwasser mit Nachbehandlung mit Ammoniak. Vorangehende Reinigung des Holzes mit verd. Salzsäure ist oft zweckmäßig. Derart behandelte Holzwände führen nur noch die Zellulosen (Jodreaktion). Mit Eau de Javelle behandelte Holzwände speichern Metalle (Kupfer, Eisen, Blei, Nickel, Kobalt, Kadmium, nicht Quecksilber, Gold, Platin)⁶⁾.

Die Farbstoffspeicherung des Holzes (S. 553) kommt wahrscheinlich Hemizellulosen und Pektinen (Devaux) oder nicht näher bekannten

¹⁾ Nach de Wèvre wird Coniferin Schuchard mit Phenolsalzs. nicht blau, nach Czapek Coniferin Merck mit Thymolsalzs. blauviolett, dann rot.

²⁾ E. Nickel, Farbenreaktion u. Aldehydnatur des Holzes, Bot. Centralbl., 1889, XXXVIII, S. 753.

³⁾ Seliwanoff, Holzstoff u. seine Reaktionen, Bot. Centralbl., 1891, XLV, S. 279.

⁴⁾ Durch verd. Schwefelsäure (2 + 1 Wasser) wird Coniferenholz gelb, grün, bei Wasserzusatz blaugrün; die Färbung ist nur makroskopisch benutzbar, O. Linde, Z. Kenntn. d. Verholz., Arch. d. Pharm., 1906, CCXLIV, S. 57.

⁵⁾ L. Mangin, S. l. reactifs jodés de la cellulose, Bull. Soc. bot. France, 1888, XXXV, 425. — A. Zimmermann, Mikrochem. Reakt. v. Kork u. Kutikula, Ztschr. wiss. Mikr., 1892, IX, 63. — K. Kroemer, Wurzelhaut, Hypodermis, Endodermis, Diss. Marburg, 1903, S. 8.

⁶⁾ M. Devaux, Généralité d. l. fixation d. métaux p. l. paroi cell., Soc. Linn. de Bordeaux, 1901.

Stickstoffsubstanzen des Holzes (Lamarlière) zu; schon Heinricher führte die Fuchsinfärbung auf „Holzgummi“ zurück. Behandelt man Holz (*Vitis*) mit Kaliumchlorat-Salzsäure, dann tritt keine Reaktion mit Phloroglucin ein, doch kräftige Färbung mit Jodgrün.

Kurz erwähnt sei die Reaktion von Combes¹⁾, die eine Rotfärbung gibt (Eau de Javelle, $\frac{1}{2}$ Std., Auswaschen, Kochen mit 1.0 Zinkoxyd (od. Bleioxyd) in 30.0 Wasser, 1 Std., Abwaschen, Schwefelwasserstoffwasser, 5 Min., Abwaschen, Einlegen auf dem Objektträger in konz. Schwefelsäure).

Kleine lichtbrechende Kügelchen fand Heinricher (Lit. S. 941) in lebenden Zellen der Haustorialköpfe von *Lathraea*, die sich bei Alkoholzusatz zu größeren vereinen und ihre Lichtbrechung einbüßen, mit Jodreagentien gelbbraun werden, in Äther unlöslich sind. Die nach der Behandlung mit Eau de Javelle zurückbleibenden Tröpfchen färben sich wie verholzte Membranen mit Fuchsin. Es soll eine aus den verholzten Membranen der Wirtspflanze stammende Substanz gummiartiger Natur vorliegen. Ligninkörper gibt Hartwich (Lit. S. 259a) in der Nahrungsschichte der Infectoriagalle an; es sind cystolithenartige Wucherungen der Zellwände, die auch bei anderen Gallen auftreten (Küstenmacher, Lit. S. 2542).

Kork und Kutikula.

Der Charakter von Kork (Suberin), Kutikula (Kutin) und kutinisierten Membranen wird von Fettsäuren bestimmt (Stearin-, Suberin-, Phloionsäure [Kügler, Gilson], besonders Phellonsäure; letztere ist eine hydrocyklische Verbindung, die bei Oxydation in die aliphatische Phellogensäure übergeht, v. Schmidt). Die Säuren kommen neben Cerin zum Teil als Glyzeride vor, der junge Kork enthält wahrscheinlich nur Glyzeride; die eigentliche Korksubstanz (Suberinlamelle) älterer Gewebe besteht aus Anhydrid- und Polymerisationsprodukten fester und flüssiger Fettsäuren. Im Kutin (Agaveblätter, Apfel) finden sich Stearo- (fest) und Oleokutinsäure (flüssig) sowie ein Gemenge beider (Kutose, Frémy u. Urbain, Phellonsäure fehlt, van Wisselingh). Zellulose fehlt in Kork und Kutikula und ist nur in den kutinisierten Membranen nachweisbar. Es scheinen Differenzen im Chemismus von Suberin und Kutin der gleichen Pflanze zu bestehen. Wahrscheinlich finden sich auch Abweichungen im Suberin und Kutin bei verschiedenen Pflanzen (Gilson fand Phloionsäure nur in *Quercus*, nicht in *Ulmus*).

Kork und Kutikula besitzen sehr geringe Durchlässigkeit für Wasser und Gase, schützen die Pflanzen vor zu starker Verdunstung. Im Innern der Gewebe regeln sie die Bahnen des Stofftransportes (Endodermis, Casparysche Streifen, A. Meyer, Kroemer) und ermöglichen einen relativen Abschluß der Sekrete (Öldrüsen und Sekretbehälter). Die Permeabilität hängt offenbar von verschie-

¹⁾ R. Combes, Nouv. groupe de réact. d. l. lignine et d. membranes lignifiées, Bull. Soc. pharmacol., 1906, XIII, S. 293.

denen Faktoren ab. Kork von *Beta* und die Kutikula von *Allium* ist für Salze impermeabel (W. Wächter, Lit. S. 447), die Kutikula von *Cynara* für Salzlösungen permeabel (J. K. Goebel, Diss., Leipzig, 1903, S. 20).

Über die Bildung der Kutikula sind wir im unklaren. Sie bedeckt bereits die jugendlichsten Organe als ein kontinuierliches Häutchen. Meist bleibt sie dauernd erhalten. Eine Auflösung (Enzyme) erfolgt zuweilen bei nachträglicher Verbindung von ursprünglich freigelegten Organen (Bild. d. Scheidewände d. Cruciferen, E. Hannig, Bot. Ztg., 1901, LIX, 207). Eine Regeneration nach künstlicher Abtragung hat Tittmann (Jahrb. f. wiss. Bot., 1897, XXX, 116) bei Agaven und bei Aloe festgestellt. Die von Hanstein (Lit. S. 221, 1) angegebene Regeneration bei den Epidermaldrüsen findet jedoch nicht statt (Tunmann, Lit. S. 222, 4). Es kommt nur (bei Schleimdrüsen, Fig. 134) zur Bildung sehr widerstandsfähiger, sog. Grenzhäutchen (auch bei H. Kraemer, Diss., Marburg, 1897). Hingegen findet sich Neubildung der Kutikula bei den sog. Doppelhaaren (Lit. S. 541, 1).

Bei ultramikroskopischer Betrachtung zeigen Korkmembranen das gleiche Bild wie verholzte Wände: annähernd parallele Reihen stark leuchtender und großer Micellen wechseln mit optisch leeren Reihen ab (Gaidukov, S. 439). Im polarisierten Lichte zeigen Kutikula und Kork ebenso wie reine Zellulosemembranen starke Doppelbrechung¹⁾, die, und dies ist das Charakteristische, beim Erhitzen der Membranen auf 100° verschwindet, um beim Erkalten wieder aufzutreten²⁾. Suberin und Kutin be-

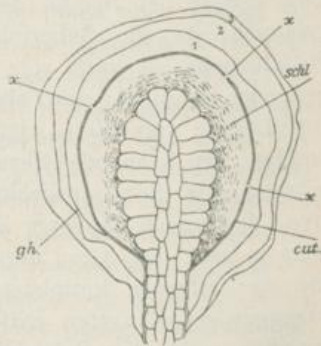


Fig. 134. Drüse von *Viola*, nach mehreren Schleimergüssen; nur eine Kutikula (*cut*), die bei *x* gesprengt ist, *gh* 1, 2, 3 sind Grenzhäutchen (Tunmann).

wirken eine, wenn auch geringe Erniedrigung der von der Zellulosemembran gegebenen Polarisationsfarben. Die eigentlichen Suberinlamellen sind meist zart. Bei den Korkzellen ist die Mittellamelle meist verholzt, der beiderseits Suberinlamellen anliegen, die wiederum von Zelluloseschichten eingefaßt werden; die letzteren können zuweilen ebenfalls mehr oder weniger verholzen (*Cytisus*).

Die Mikrochemie von Kork und Kutikula beruht auf Lösungs-

¹⁾ Im allgemeinen sind die optischen Achsen in den kutinisierten und verkorkten Membranen umgekehrt orientiert wie in den Zelluloselamellen; erstere zeigen Subtraktionsfarben, letztere Additionsfarben, wenn bei gekreuzten Nicols die Kutikula parallel zu der längeren Achse des Gipsplättchens verläuft. (A. Zimmermann, Molekularphys. Unters., Ber. d. bot. Ges., 1884, II, 124).

²⁾ H. Ambronn, Optisch. Verhalt. d. Kutikula u. d. verkorkt. Membranen, Ber. d. bot. Ges., 1888, VI, S. 226.

reaktionen, der Cerinreaktion und auf Färbungen. — Chromsäure, in größerem Maßstabe zuerst von v. Höhnel (Lit. S. 594, ²) benutzt, liefert in bequemer Weise sichere und für die Praxis oft genügende Ergebnisse. Man benutzt eine konz. Chromsäurelösung (50 %). In dieser löst sich das gesamte Gewebe bis auf Kork- und Kutinmembranen (u. verkieselte Membranen, S. 104). Bei größeren Präparaten erschwert die bei der Lösung eintretende Gasentwicklung eine Beobachtung während der Einwirkung, macht sie zuweilen unmöglich. Man unterbricht daher die Reaktion, indem man nach einigen Minuten Wasser durchsaugt und die Wirkung der Säure mikroskopisch feststellt. Das Verfahren (abwechselnder Zusatz von Säure und Wasser) wird bis zum gewünschten Erfolge fortgesetzt¹). Bei einiger Übung wird man bereits bei Beginn der Reagenseinwirkung zu einem Ergebnis gelangen, da die Suberinlamelle sich sowohl von der verholzten Mittellamelle als auch von der aufquellenden und schnell in Lösung gehenden Zellulose scharf abhebt. Von der Anwendung einer schwächeren Lösung (als 50 %) ist abzuraten, ebenso darf nicht erwärmt werden, da kochende Chromsäure Kork- und Kutinlamellen löst²). Übrigens ist die Unlöslichkeit in kalter Chromsäure nur eine relative, denn nach längerer Zeit (einige Tage) gehen Kork und Kutikula je nach dem Grad der Verkorkung und Kutinisierung in Lösung; die nur schwach kutinisierten Lamellen lösen sich weit leichter³). Weniger scharf treten Differenzen in der Löslichkeit zwischen der Kutikula und der Suberinlamelle hervor; Suberin scheint weniger widerstandsfähig zu sein. Erhitzt man die Präparate im zugeschmolzenen Röhrchen in Glyzerin auf 300°, dann gibt nachher Chromsäure mit der Suberinlamelle (im Gegensatz zur Kutikula) ein sehr leicht lösliches Zersetzungsprodukt⁴).

Kork- und Kutinlamellen sind unlöslich in konz. Schwefelsäure und in Kupferoxydammoniak. Diese beiden Reagentien (völlig konz. Säure, frisch bereitetes Cuoxam.) können zur Orientierung dienen. Sie liefern keine guten Bilder, Holz erscheint durch Kupferoxydammoniak bei mikroskopischer Betrachtung kaum verändert und wird durch Schwefelsäure nur sehr langsam gelöst.

Die v. Höhnelsche Cerinsäure-Reaktion ist recht charakteristisch, für praktische Zwecke aber etwas umständlich. Verkorkte

¹) C. Hartwich, Sarsaparill., Ber. pharm. Ges., 1907, XVII, S. 262.

²) F. v. Höhnel, Bemerk. üb. d. Kutikula, Öst. bot. Ztschr., 1878, XXVIII, S. 84.

³) Den Algen fehlt meist eine Kutikula; die Schleimoberhaut (Laminaria) ist in Chromsäure löslich.

⁴) C. v. Wisselingh, Cuticul. et cutine, Arch. Néerl., 1894, XXVIII, 373.

Lamellen widerstehen in der Kälte länger als andere Membranen Kaliumchlorat-Salpetersäure; kocht man jedoch einige Zeit, dann bilden sich kleine ölartige Tröpfchen, die, ähnlich wie die fetten Öle, ineinanderfließen und die sich in Äther, heißem Alkohol, Benzol, Chloroform und in verd. Kalilauge lösen, in Schwefelkohlenstoff unlöslich sind und bei 30–40° schmelzen. Diese Substanz wird Cerinsäure genannt.

3% alkoholische Kalilauge löst bei andauerndem Kochen die Suberinlamelle ohne Rückstand auf, während Zellulose bei dieser Behandlung nicht angegriffen wird. Hiermit ist erwiesen, daß in der Suberinlamelle Zellulose fehlt (Gilson). — Konz. Kalilauge bewirkt nach einiger Zeit deutliche Gelbfärbung. Beim Erwärmen tritt die Färbung schärfer hervor. Ähnlich verhalten sich verholzte Wände. Beim Aufkochen werden die verkorkten Membranen aber körnig, erscheinen mit feinen Tröpfchen bedeckt, die bei längerem Kochen in Gestalt größerer Tröpfchen hervortreten und hier und da ganz aus der Membran austreten. Es ist ratsam, die Reaktion nach dem Vorschlage Kroemers¹⁾ erst nach Mazeration der Präparate mit Eau de Javelle (s. unten) und Auswaschen derselben mit 1% Salzsäure vorzunehmen. Im allgemeinen soll nach van Wisselingh die Kutikula länger der Lauge widerstehen als Suberinlamellen. Die Kutikularschichten erweisen sich gegen Kalilauge sehr wenig widerstandsfähig.

Jod-Schwefelsäure und Chlorzinkjod färben Kork und Kutikula gelb, auch braun. Chlorzinkjod wurde früher vielfach benutzt. Die Reaktionen sind aber nicht eindeutig, da Holz, Hemizellulosen und verschleimte Membranen sich ebenso verhalten. Werden die Schnitte aber zuvor 1–2 Stunden mit Eau de Javelle behandelt, dann färbt Chlorzinkjod Holz schmutzig violett, Kork und Kutikula gelb.

Werden die Präparate mehrere Stunden mit 40% Natronlauge (Gilson)²⁾ mazeriert oder mit der Lauge kurz aufgeköcht, dann gibt nach gutem Auswaschen Chlorzinkjod (auch Jodjodkalium) mit Suberinlamellen eine rotviolette Färbung. Diese Färbung hat man früher auf einen Zellulosegehalt der betreffenden Membran zurückgeführt; sie wird durch Phellonsäure hervorgerufen und bleibt aus, wenn der Behandlung mit Chlorzinkjod eine Extraktion der Schnitte mit siedendem Alkohol vorangeht. Auch wird das Suberin zerstört, wenn man die Präparate in Glycerin auf 250–290° erhitzt; ein Zelluloserückstand ist dann nicht nachweisbar. In den kutinisierten Schichten läßt sich

¹⁾ K. Kroemer, Wurzelh., Hypodermis u. Endodermis, Diss., Marburg, 1903, S. 9 u. Bibl. bot. Heft 59.

²⁾ E. Gilson, La subérine et les cellules du liège, La Cellule, 1890, VI, S. 63–114.

aber nach Mazeration mit verd. Alkalien durch Jodreagentien eine zellulosehaltige Grundlage nachweisen (van Wisselingh¹⁾).

Kutikula und Korkmembranen einiger Pflanzen (*Nymphaea*, *Ranunculus*, *Helleborus*, *Convallaria*, *Ilex*, *Rosmarinus* u. a.) geben mit Fuchsin-schweflige Säure (S. 230) eine violette Färbung (Aldehyd, Gêneau de Lamarlière, Bull. Soc. bot. France, 1903, S. 268).

Färbungen sind für Kork und Kutikula charakteristisch. Da diese Membranen Fettsäuren enthalten, so benutzt man seit Correns²⁾ die sog. Fettfarbstoffe (S. 157). Da aber auch Holz die Farbstoffe annimmt, so wird das Färbungsvermögen des Holzes durch Eau de Javelle zerstört (Mangin, Lit. S. 597, 5, Zimmermann, Lit. S. 597, 5), während die Färbkraft von Kork und Kutikula selbst nach 60stünd. Einwirkung der Lauge, zuweilen nach wochenlanger Wirkung (Kroemer) nicht abnimmt. Die Präparate werden mit Eau de Javelle eine Stunde oder länger mazeriert (die Suberinlamellen treten dann scharf hervor, legen sich öfters in kleine Falten, Kroemer), gut mit 1 0/0 Salzsäure ausgewaschen und schließlich gefärbt. Die Färbung läßt sich auf dem Deckglase ausführen (bei zarten Objekten vorteilhaft). Die Farbstoffe, meist in 0.1—0.2 0/0 Lösungen benutzt, werden teils in Alkohol-Glyzerin (zu gleichen Teilen, Sudan III, Alkannin, Cyanin), teils in Alkohol gelöst (Chlorophyllgrün, Scharlach R, Sudan III). In der Kälte vollzieht sich die volle Färbung in einigen Stunden, durch Erwärmen wird sie sehr beschleunigt. Ausgewaschen wird mit Glyzerin-Wasser (oder Wasser), untersucht in Glyzerin. Nur die mit Eau de Javelle behandelten Präparate liefern diagnostisch einwandfreie Färbungen³⁾. Daher ist auf genügend lange Einwirkung der Lauge zu achten, die auch störende Gerb- und Farbstoffe (Phenole u. a.) entfernt.

Auch Anilinfarben können zur Färbung dienen. Tison⁴⁾ benutzt konz. alkohol. Lösungen von Gentianaviolett, Dahlia, Methylgrün, die durch Ammoniakzusatz entfärbt sind, auch Mangins Pektinfarbstoffe,

¹⁾ C. van Wisselingh, S. la paroi d. cellules subéreuses, Arch. Néerl., 1888, XXII u.: S. la lamelle subéreuse et la subérine, Arch. Néerl., 1892, XXVI, S. 305.

²⁾ C. E. Correns, Anat. u. Entw. extranuptialer Nekatrien v. Dioscorea, Sitzb. Wien. Ak., 1888, XCVII, 1, 658.

³⁾ Auch bei Doppelfärbungen (S. 553) werden Suberin- und Kutinmembranen gefärbt, gewöhnlich in nur wenig abweichender Farbe wie Holz, da ja bei Doppelfärbungen eine Vorbehandlung mit Eau de Javelle nicht stattfinden darf (um das Farbvermögen des Holzes nicht zu zerstören).

⁴⁾ A. Tison, Méthode nouvelle de coloration des tissus subéreux, Compt. rend., 1899, S. 454.

Säuregrün und Pariser Violett, Bäsecke¹⁾ Anilinrot, Fuchsin, Malachitgrün, Pyoktanin, Naphthylenblau u. a. Auch hier erfolgt Vorbehandlung mit Eau de Javelle, dann Färbung (einige Min.), Auswaschen mit 5–10% Salz-, Salpeter- oder Schwefelsäure und Einlegen in Glyzerin.

Dimethylamidoazobenzol färbt in nicht mit Eau de Javelle behandelten Schnitten zunächst nur die Suberinlamellen gelb, nach einiger Zeit aber auch verholzte Membranen. Zusatz eines Tropfens verdünnter Salzsäure gestattet beide Lamellen sofort zu unterscheiden, da nur die verholzten Lamellen rot werden (M. Plaut, Veränd. im anat. Bau d. Wurzel während des Winters, Jahrb. wiss. Bot., 1910, XLVIII, S. 151).

Prodigiosin färbt Kork, Kutikula und Fette stark rot; die schwache Färbung, die andere Zellinhalte und verholzte Membranen annehmen, schwindet sofort beim Auswaschen mit Alkohol. Zu Doppelfärbungen dient alkohol. Malachitgrün. Prodigiosin, ein Bakterienfarbstoff, wird von *Bact. prodigiosum* (Bezugsquelle: Králs Labor., Prag) gewonnen, der sich auf Kartoffelscheiben in feuchter Kammer bei 25° in 3–4 Tagen in genügender Menge ziehen läßt. 5 g Bakterienmasse mit 30 ccm 95% Alkohol verrieben gibt filtriert das Reagens (ziegelrote Flüssigkeit), das sich vor Licht geschützt, einige Monate hält (O. Rosenberg, Verwend. v. Prodigiosin in d. bot. Mikrotechnik, Ztschr. f. wiss. Mikr., 1898, XV, 56).

Die Natur der **Casparyschen Streifen** ist nicht ganz geklärt. Kroemer hält sie im Jugendstadium für verholzt. Im Sekundärzustand sind ihnen beiderseits Suberinlamellen angelagert. Rutheniumrot färbt die Streifen der Angiospermen, nicht die der Gymnospermen und Pteridophyten (Grund unbekannt²⁾). Zur besseren Sichtbarmachung der Streifen dient: Phloroglucinsalzsäure (rot), Chlorzinkjod (braun), Sudan (rötlich), Kalilauge (gelblich), ferner Chloralphenol, Methylgrün-essigsäure, Anilinblau, Fuchsinjodgrün, Hämalan³⁾ und Dimethylamidoazobenzol (Plaut). Nach Vorbehandlung mit Eau de Javelle wird der Streifen durch Phloroglucinsalzsäure, Sudan, Chlorzinkjod u. a. nicht mehr gefärbt. Chromsäure und Schwefelsäure lösen.

Wachs.

Membranwachs, Wachsüberzüge werden mit de Bary (Wachsüberzüge d. Epid., Bot. Ztg., 1871, XXIX, 128) als Ausscheidungen der Kutikula angesprochen. Das gebildete Wachs ist zuerst in der Kutikula (niemals in den Zellen) nachweisbar und tritt aus dieser auf die Oberfläche. Wachsschichten,

¹⁾ P. Bäsecke, Phys. Scheiden d. Achsen u. Wedel der Filicinae, Ersatz des Korkes b. d. Pflanzengruppe, Bot. Ztg., 1908, LXVI, S. 26.

²⁾ H. v. Alten, Wurzelstudien, Bot. Ztg., 1910, LXVIII, 153.

³⁾ G. Rumpf, Rhizodermis, Hypodermis, Endodermis d. Farnwurzel, Diss. Marburg, 1904, Bibl. bot., 1904, Heft 62 u.: H. Müller, Metakutisierung d. Wurzelspitze u. verk. Scheid. d. Monokot.-Achsen, Bot. Ztg., 1906, LXIV, 53.

die nach dem Abwischen von neuem gebildet werden können (*Rizinus*, *Rubus biflorus*, *Macleya cordata*, nicht bei *Sedum*- u. *Echeveria*-Arten, Tittmann, Lit. S. 599 ob.), wachsen durch Intussuszeption. Die klebrige Substanz der Pollinien der *Asclepiadaceen* soll nach Dop (Compt. rend., 1902, CXXXV, 710) Wachs sein.

Wir unterscheiden 3 Typen der Wachausscheidungen (de Bary): 1. Körnchenüberzug, Liliaceen, Gramineen, Cruciferen, Umbelliferen, Rosaceen u. a.); 2. Stäbchenüberzug (*Sorghum*, *Saccharum*, *Musa*, *Strelitzia*); 3. Krusten (*Taxus*, *Euphorbia*, *Copernicia*, *Ceroxylon*, *Myrica* u. a.). Wachausscheidungen verringern die Transpirationsgröße, verhindern eine dauernde Benetzung, erschweren das Aufkriechen schädlicher Insekten; das epidermale Wachs der *Myrica*-Früchte dient wahrscheinlich als Anlockungsmittel für Tauben (Samenverbreitung). Die

Wachsüberzüge der Blattunterseiten vieler Koniferen sollen nach Frimmel¹⁾ einen Lichtersparnisapparat bilden.

Pflanzenwachse sind Verbindungen der Fettsäuren mit ein- oder zweiatomigen höheren Alkoholen.

Die epidermalen Wachse, seien es Körner, Stäbchen oder Schichten, sind im polarisierten Lichte stark doppelbrechend (Wiesner²⁾). Die Präparation kann man sich bei verschiedenen Reaktionen durch Benutzung von Flächenschnitten erleichtern. Die Körnerschicht zeigt in Flächenansicht kleine Körnchen, die Stäbchenschicht feine, meist gekrümmte Stäbchen, die homogene Krustenschicht oft Quer- und Längsrisse, wodurch sie gefeldert erscheint (die Felder

erstrecken sich über ganze Zellkomplexe). Um bei der Herstellung von Querschnitten die Stäbchenschicht nicht zu verletzen, muß man die Objekte freischneiden, oder sie nur auf einer Seite an Holundermark anlegen. Da Wachs von Wasser nicht benetzt wird, von dicht stehenden Stäbchen überdies Luft zurückgehalten wird, so beobachtet man in 70–90% Alkohol. Fügt man den Präparaten alkoholische Farbstofflösungen von Fuchsin, Sudan III, Alkannin zu, dann färben sich die Wachausscheidungen. Allerdings findet zugleich eine Färbung der Kutikula statt, doch sind stets Farbendifferenzen wahrnehmbar. Beim Erhitzen der in Wasser

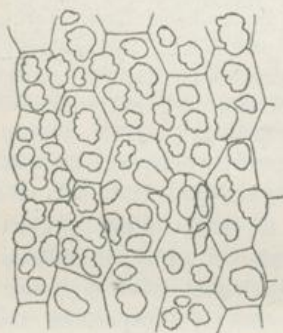


Fig. 135. Aloe (Blatt, Flächenansicht); durch absoluten Alkohol sind Anteile des Waxes herausgelöst, die unlöslichen Anteile bilden sphärokristallinische Massen (Tunmann).

¹⁾ F. v. Frimmel, D. untere Kutikula d. *Taxus*blattes — ein Lichtreflektor, Östr. bot. Ztg., 1911, LXI, S. 216.

²⁾ J. Wiesner, Beobachtungen über die Wachsüberzüge der Epidermis, Bot. Ztg., 1871, XXIX, S. 769 u.: Über die kristallinische Beschaffenheit der geformten Wachsüberzüge pflanzlicher Oberhäute, Bot. Ztg., 1876, XXXIV, 225.

liegenden Präparate schmilzt Wachs infolge seines niedrigen Schmelzpunktes zu Tropfen zusammen. In Schnitten, die mit Fettfarbstoffen (in 50% Alkohol) gefärbt sind, speichern die zusammenschmelzenden Wachstropfen die Farbstoffe. Verkorkte Membranen (*Aloe verrucosa*) und mächtige kutinisierte Schichten enthalten bisweilen Wachs eingelagert, so daß es nicht ohne weiteres sichtbar ist. Um es sichtbar zu machen, erwärmt man die Präparate unter Deckglas bis nahe zum Sieden, wodurch das Wachs in Tröpfchen heraustritt. Hierbei läßt sich (de Bary) zeigen, daß sich das Wachs an dem Aufbau der betreffenden Membranen beteiligt. Der Durchmesser der Membran wird gemessen. Alsdann werden die Präparate in Alkohol einige Zeit gekocht. Beim nachfolgenden Messen zeigen die Membranen eine Abnahme des Durchmessers, die durch das extrahierte Wachs bedingt ist.

Die Membranwachse sind unter Deckglas im allgemeinen schwer löslich in Alkohol. Alkohol löst meist nur Anteile heraus, auch wenn größere Mengen zur Wirkung kommen (Fig. 135). Äther und Chloroform sind bessere Lösungsmittel. Orientierende Untersuchungen hatten folgende Ergebnisse: Sämtliche bis jetzt untersuchten Pflanzenwachse liefern kristallinische Sublimat (Tunmann, Nat. Vers. Karlsruhe 1911). Schabt man vorsichtig, ohne Membranteile abzuschneiden, eine Spur (wenige mg)

des Reifes der Pflaume oder von dem Stengel von *Foeniculum* ab und sublimiert man dieselbe, so erhält man bereits deutliche Sublimat. Im allgemeinen besteht das erste Sublimat (etwa bei 150° erhalten) bei allen Wachsen aus isoliert liegenden Stäbchen, die oft gekrümmt sind. Bei höherer Temperatur erhaltene Sublimat führen Sphärokristalle oder Rosetten, die drusenförmig bei gekreuzten Nicols erscheinen, wobei übrigens alle Bildungen silbergrau aufleuchten (Fig. 136). Die Kristalle sind stets in Äther oder in Chloroform löslich, reagieren nicht mit Osmiumsäure, die des Waxes der Pflaume geben mit Chloroform-Schwefelsäure keine Rotfärbung (Phytosterine fehlen), sind in Kalilauge unlöslich, in Essigsäureanhydrid (kalt) schwer löslich, bei Erwärmen leicht löslich; sie lösen sich auch in Kalilauge-Ammoniak, doch ohne Myelinbildung. — Die Myelinbildung scheint nach den bisherigen Befunden zur Unterscheidung der Wachse von den Fetten geeignet zu



Fig. 136. Kristallformen im Mikrosublimat der Pflanzenwachse. 1 *Copernicia cerifera* (Handelspulver, bei 150° erhalten), 2 *Iris germanica*, 3 *Picea pungens glauca*, 4 *Copernicia cerifera* (Droge, Stücke, bei 200°) (Tunmann).

sein. Konz. Kalilauge-Ammoniak wirkt in der Kälte unter Deckglas nur wenig ein. Copernicia (Droge) zeigt innerhalb 24 Stunden keine Seifenbildung. Erst beim Erhitzen in der Lauge scheiden sich schaumige Tropfen ab, die bei gekreuzten Nicols stark aufleuchten und zum Teil sehr feine Nadelchen erkennen lassen. Die Wachse lassen sich weit schwerer verseifen als die Fette und diese Eigenschaft tritt beim Arbeiten am Objektträger noch schärfer als in der Chemie hervor. — Mit Kupferazetat konnte am Objektträger (auch beim Erhitzen) keine Reaktion erhalten werden.

Chitin.

Chitin (und sein Spaltungsprodukt Chitosan) ist ein höher zusammengesetztes, stickstoffhaltiges, am Stickstoff mit Azetylessigsäure verbundenes Polysaccharid. Reines Chitin zeigt keine Eiweißreaktionen, wird von verd. Säuren und alkoholischer Kalilauge angegriffen. Beim Erhitzen mit 50% Kalilauge auf 160—170° bildet sich Chitosan, daneben Essigsäure und Ammoniak. Chitosan enthält über 7% Stickstoff, ist löslich in verd. Salzsäure und verd. Essigsäure, fast unlöslich in verd. Schwefelsäure, gibt mit verd. Jodschwefelsäure Violettfärbung und entfärbt eine verd. Jodstärkelösung. Chitin, wahrscheinlich gibt es nur ein Chitin, kommt als hautbildende Substanz vielfach bei niederen Tieren (Insekten, Crustaceen, Mollusken) vor. In der Pilzmembran hatten Lassaigne, Payen (1843) u. a. bereits Stickstoff ermittelt und Gilson und Winterstein¹⁾ fanden in der Membran der Pilze Chitin. Ganz geklärt ist die Chitinfrage nicht. Die Annahme einiger Forscher, die jeden Zellulosegehalt in der Pilzmembran, auch in der jugendlichen, verneinen, erscheint noch fraglich. (Nach Ilkewitsch [Bull. Acad. Pétersb., 1908, 571] soll in der Pilzmembran weder Zellulose noch Chitin zugegen sein). Es ist nicht ausgeschlossen, daß Chitin in Bindung mit einem Kohlehydrat vorliegt. Diese Annahme würde verschiedene Widersprüche der mikrochemischen Befunde erklären. Auch sei erwähnt, daß vor kurzem C. Reuter (Z. Kenntn. d. stickstoffhalt. Bestandt. d. Pilze, Diss., Zürich, 1912, Ztschr. phys. Chem., 1912, LXXVIII) aus *Boletus edulis* und zwar aus dem, nach Behandeln mit Äther (Fett, Phytosterin), Alkohol (Trehalose, Zucker, Basen) und Wasser (Glykogen, Zucker, Basen) verbleibenden Rückstand neben 6% Chitin nach 10% amorphes Kohlehydrat erhielt.

Chitinmembranen werden vom Magensaft nicht verdaut; sie finden sich in den Faeces. Hierauf gründete J. Strasburger (Centralbl. f. Gynäkol., 1907) den Nachweis des Mutterkorns bei Abortus. Es scheint aber ein chitinlösendes Enzym zu geben, denn die Membranen der endotrophen Mykorrhizen (Peronosporaceen) von *Podocarpus*, die nach K. Shibata (Cyt. Stud. endotroph. Mykorrhiz, Jahrb. wiss. Bot., 1902, XXXVII, 643) Chitin führen, werden verdaut.

¹⁾ Ausführl. Lit. bei: E. Winterstein, Ztschr. phys. Chem., XIX, S. 521, Zellner, Chemie der höheren Pilze, S. 123, D. H. Wester, Studien über das Chitin, Diss., Bern, 1909, Arch. d. Pharm., 1909, CCXLVII, S. 282.

Bereits den älteren Forschern war es aufgefallen, daß die Membranen der Pilze andere Reaktionen zeigen, als die Zellulosewände der höheren Pflanzen. Die Pilzmembran ist gegen Säuren und Alkalien sehr resistent, gibt mit Jodschwefelsäure oder mit Chlorzinkjod eine gelbe bis braune Färbung und ist unlöslich in Kupferoxydammoniak. de Bary¹⁾ bezeichnete den membranbildenden Stoff als Pilzzellulose, zumal nach längerer Einwirkung von verd. Kalilauge „Zellulosereaktionen“ zu erzielen waren und Richter²⁾ hat bei einer großen Anzahl von Pilzen nach langer Alkalibehandlung (einige Wochen) ebenfalls „Zellulosereaktionen“ erhalten. Doch zeigte Gilson³⁾, daß es sich um einen besonderen Membranstoff handelte (Mykosin), der sich mit Jodkaliumlösung, die eine Spur Säure enthält, rosaviolett färbt.

Nachdem nun das Auftreten von Chitin in den Pilzmembranen makrochemisch erwiesen ist, wissen wir, daß die nach der Alkalibehandlung zu erzielende vermeintliche Zellulosereaktion mit Jodschwefelsäure dem Chitosan zukommt, welches aus dem Chitin durch die Lauge gebildet wird. Hierauf hat van Wisselingh (Lit. S. 552¹⁾) den mikrochemischen Nachweis gegründet. Die Präparate werden in 60% Kalilauge in kleinen zugeschmolzenen und mit Kupfermäntel geschützten Glasröhrchen von 7 mm Durchmesser im Ölbad etwa 20 Minuten lang auf 160° erhitzt (Apparat Fig. 137). Nach dem Erkalten des Ölbades werden die Glasröhrchen geöffnet und die Präparate wiederholt mit Alkohol ausgewaschen, wodurch sie (durch Härtung) vor dem Zerfall bewahrt werden. Nun werden sie einige Stunden vorsichtig mit Wasser

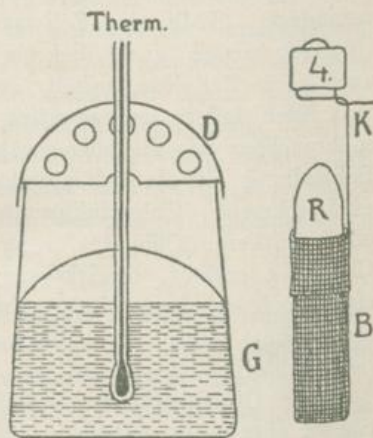


Fig. 137. Apparat zum Chitinnachweis nach van Wisselingh-Wester. Die Schnitte kommen mit der Lauge in das an beiden Enden zugeschmolzene Glasröhrchen (R); dieses, durch einen Kupferdrahtmantel (B) geschützt, wird mittels des gebogenen Kupferdrahtes (K) durch eine Öffnung des Deckels (D) in das Ölbad (G) eingehängt.

¹⁾ A. de Bary, *Morph. u. Biol. d. Pilze*, 1884, S. 9.

²⁾ K. Richter, *Beitr. z. gen. Kenntn. d. chem. Beschaff. d. Zellmembran bei d. Pilzen*, Sitzb. Wien. Ak., 1881, LXXXIII, 1, S. 494.

³⁾ E. Gilson, *Rech. sur la membrane cellulaire des champignons*, La Cellule, 1894, XI, S. 5 und: *De la présence de la chitine dans la membr. cell. des champignons*, *Compt. rend.*, 1895, CXX, S. 1000.

ausgewaschen, alsdann gelangen sie auf den Objektträger und unter Deckglas wird 0,5% Jodlösung durchsaugt. Nachfolgender Zusatz von 1% Schwefelsäure bedingt Violettfärbung. 3% Essigsäure, unter Deckglas zugesetzt, löst die Präparate mehr oder weniger völlig auf. Membranfarbstoffe, die die Violettfärbung der Jodschwefelsäure verdecken können, entfernt man zuvor mit verd. Chromsäure. Das Lichenin der Flechtenpilze, welches mit Jod ebenfalls blau wird, muß aus den Schnitten zuvor durch Erhitzen mit Glycerin auf 300° (im zugeschmolzenen Rohr) entfernt werden. Mit der Zellulose teilt Chitin die Eigenschaft, sich beim Erhitzen in Glycerin auf 300° nicht zu verändern. „Läßt eine Zellwand bei Erwärmung in Glycerin keinen Überrest zurück, so ist dies ein Beweis, daß dieselbe kein Chitin und auch keine Zellulose enthält“ (van Wisselingh, l. c. S. 643).

Auch andere Jodreagentien reagieren mit Chitin, sind jedoch nicht so brauchbar wie die obenerwähnte schwache Jodschwefelsäure. „Nach Behandlung mit Jodjodkaliumlösung werden Chitinmembranen durch eine schwache Chlorzinklösung rötlichviolett gefärbt; Hinzufügung einer stärkeren Chlorzinklösung, z. B. eine, welche 40, 50 oder 60% Chlorzink enthält, bewirkt eine blauviolette oder blaue Verfärbung, eine noch stärkere (70%) Entfärbung“ (van Wisselingh). Und Benecke¹⁾ zeigte, daß Chitin mit konz. Chlorzinkjod behandelt, sich bei nachfolgendem Zusatz von größeren Wassermengen violett färbt.

Die Ölbadmethode erscheint auf den ersten Blick umständlich. Sie ist aber recht einfach, wenn man sich erst mit der nötigen Apparatur versehen hat und verlangt nur ein vorsichtiges Umgehen der mit der Lauge behandelten Präparate. Die Färbungen der Chitosanreaktion fallen selbst an dem gleichen Präparate verschieden aus (von Schwarz-, Rot- bis Braunviolett). Es erscheint aber fraglich, ob man hierfür mit Kindermann²⁾ einen verschieden hohen Chitingehalt verantwortlich machen kann, zumal viel von der Dauer der Laugenbehandlung und von dem Material abhängt. Bei sehr vielen Pilzen wurde die Chitosanreaktion von van Wisselingh ausgeführt und von Wester an vielen tierischen und pflanzlichen Objekten.

Bei den höheren Pilzen kommt fast ausschließlich Chitin vor. Es ist beachtenswert, daß die normalen Hyphen von *Polyporus officinalis* (Agaricus-Droge) Chitin führen, aber nicht die Membranreste der Harzhypen (Tunmann, Lit. S. 152, 2). Unter den Myxomyceten hat sich bisher nur *Plasmodiophora brassicae* als chitinhaltig erwiesen

¹⁾ W. Benecke, Bot. Ztg., 1905, LXIII, S. 227.

²⁾ Kindermann, Die Fruchtkörper von *Stereum sanguinolentum*, Öst. bot. Ztschr., 1901, LI, S. 32.

(van Wisselingh). Auch Jahn¹⁾ fand bei *Comatricha* und *Stemonitis* kein Chitin. Bei den Saprolegnien und Peronosporen (s. auch S. 556) fehlt Chitin; es wird durch Zellulose vertreten. Schon Pringsheim fand, daß sich die Membranen von *Apodya* und *Achlya* in Kupferoxydammoniak lösen und von Chlorzinkjod blau gefärbt werden (Lit. S. 517, 3). Die abweichenden Angaben, die über den Chitingehalt der Flechtenpilze vorliegen (Escombe, Müller, Kohl, van Wisselingh), sind vielleicht in einem schwankenden Chitingehalt begründet. Für die Mucorineen gibt van Wisselingh Chitin an, Mangin (*Journ. Bot.*, 1899, XIII, 209) hingegen Zellulose, Callose und Pektin, doch soll die Mucorineenzellulose widerstandsfähiger als die Zellulose der Phanerogamen sein. Die vegetativen Hyphen führen (Mangin) innen Zellulose, außen Pektinsubstanzen in der Membran, die Sporangien haben außerdem Callose und die Zellulose führt fast immer Kalkablagerungen. Werden endogene Sporen mit Kalilauge und Salzsäure behandelt, dann zeigen sie Callosereaktion. An den Zygosporien sind nach Vuillemin²⁾ durch Jodschwefelsäure und durch Hämatoxylin deutlich fünf Schichten zu unterscheiden.

Emmerling, Ruppel und Iwanoff traten auf Grund makrochemischer Befunde für einen Chitingehalt der Bakterienmembran ein. Hingegen fanden kein Chitin van Wisselingh in *Bacillus megaterium*, *anthracoides*, *mesentericus*, *fluorescens*, *violaceus*, *pulcher*, Grabowski³⁾ in *B. luteus*, *tumescens*, *asterosporus*, Wester in *Staphylococcus aureus* und Colibakterien, Tunmann (Lit. S. 94, 2) in *B. caucasicus* (Kefir). Jedoch hat Viehove⁴⁾ bei *B. probatus* einwandfrei Chitin nachweisen können. Der negative Befund anderer Autoren scheint an der Benutzung einer zu schwachen Vergrößerung zu liegen. Es muß „mindestens eine 2000fache Vergrößerung“ zur Erkennung der Violettfärbung benutzt werden. Zur Untersuchung sind ausgereifte Sporen zu nehmen, die am widerstandsfähigsten und wohl auch am reichsten an Chitin sind.

Die Membranen von *Beggiatoa mirabilis* Cohn (auch die Querwände) reagieren nicht auf Zellulose oder Chitin. In konz. Kalilauge auf 160° erwärmt, reagieren sie nicht mit Jod. Hingegen werden sie von Rutheniumrot, Safranin und Methylenblau gefärbt (Pektinsub-

¹⁾ E. Jahn, Zur Kenntnis des Schleimpilzes *Comatricha obtusata*, Schwendener Festschr., 1899, S. 288.

²⁾ P. Vuillemin, Recherch. morph. etc. sur l. membr. d. Zygospor., Ann. myc., 1904, II, S. 483.

³⁾ L. Grabowski, Dissertation, Marburg 1907, nach A. Meyer, Die Zelle der Bakterien, Jena 1912, S. 177.

⁴⁾ A. Viehove, Über den Nachweis von Chitin bei Bakterien, Ber. deutsch. bot. Ges., 1912, XXX, S. 443.

Tunmann, Pflanzenmikrochemie.

stanzen, Hinze, Lit. S. 68, 7 u. Ber. bot. Ges., 1903, XXI, S. 309.) Ähnlich verhält sich die Wand von *Thiophysa volutans*.

Für die Cyanophyceen gibt Hegler (Lit. S. 515, 1) Chitin an, Kohl (Lit. S. 515, 1) Chitin und Zellulose. van Wisselingh und Wester fanden weder Chitin noch Zellulose.

Nach Wittlin (Lit. S. 490, 3) sollen der Pilzzellulose (also dem Chitin) nahestehen die Raphidenhüllen; sie reagieren nicht mit Jodschwefelsäure und sind durch eine Pektinsubstanz untereinander verkittet, die sich in Kaliumchlorat-Salpetersäure löst. Das Auftreten von Pilzzellulose in Phanerogamen erscheint fraglich.

Bemerkungen über die Membran der Kryptogamen.

Die Ansichten über die Natur der Membranen der niederen Pflanzen stimmen in den meisten Fällen wenig überein. — Bei den **Myxomyceten** sollen die Sporangienwände und die Capillitiumfasern im jugendlichen Zustande Zellulose führen (*Trichia*, *Lycogala*, *Arcyria*, de Bary, Lit. S. 140, 5, *Stemonitis*, *Comatricha*, Jahn, Lit. S. 609, 1). Sie verändern sich später. Holz und Chitin ist nicht nachweisbar. Für *Didymium* gibt van Wisselingh (Lit. S. 552, 1) Zellulose an. — **Bakterien** führen Chitin (S. 609). — Der Chitingehalt der **Cyanophyceen** ist fraglich. — **Diatomeen**: Der nach der Entfernung der Kieselsäure mit Fluorwasserstoffsäure (S. 106) zurückbleibende Anteil der Diatomeenmembran reagiert nicht auf Zellulose. Er besteht wahrscheinlich aus Pektinsubstanzen¹⁾. Vor der Pektinreaktion muß die Kieselsäure entfernt werden durch 24 stündiges Behandeln mit 50% Salzsäure und chlorsaurem Kali. Der Rückstand wird (Zentrifugieren) gewaschen mit: 1. absol. Alkohol, 2. einer sirupdicken Lösung von Kalium in Alkohol, 3. Weingeist, 4. absol. Alkohol, alsdann kommt er in 3% Borsäure und wird mit Rutheniumrot gefärbt. Zum Studium werden die Zellinhalte mit Eau de Javelle und Alkohol entfernt, dann wird mit alkohol. Methylviolett gefärbt, schließlich Nelkenöl, Balsam oder Styrax²⁾. — **Peridineen** sollen Zellulose führen. Die Zellulosereaktion tritt (Membranleisten) erst nach Vorbehandlung mit Kalilauge oder Säuren ein (Lit. S. 441, 4). Auch Klebs (Lit. S. 552, 2) gibt für die Membran gallertbildender Algen, die mit Kongorot, konz. Jodjodkalium, Chlorzinkjod und Jodschwefelsäure reagiert, Zellulose und eine „chemisch noch unbekannte“ Substanz (Hemizellulose?) an, die sich

¹⁾ L. Mangin, Observations sur les Diatomées, Ann. sc. nat. bot. 1908, sér. IX, VIII, S. 177.

²⁾ W. Benecke, Farblose Diatomeen d. Kieler Förde, Jahrb. f. wiss. Bot., 1900, XXXV, S. 535.

mit verd. Salzsäure ausziehen läßt. — **Desmidiaceen**membran kann mit Fuchsin, Methylviolet und Bismarckbraun gefärbt werden bei Nachbehandlung mit Kaliumazetat. Die Färbungen werden an den durch Druck von den Protoplasten befreiten Zellen (lebendes Material) vorgenommen (Lütke Müller, Lit. S. 587, 2). — Die Membran der **Derbesien** besteht aus 2 Substanzen, die sich durch konz. Schwefelsäure voneinander unterscheiden lassen und besonders deutlich bei nachfolgendem Zusatz von Chlorzinkjod hervortreten (Lit. S. 482, 2). Die Wände von **Haematococcus** sollen keine Zellulose führen. Die Zellulosereaktion mit Jodschwefelsäure soll durch gelöste Stärke vorgetäuscht werden (Wollenweber, Lit. S. 482). Auch den **Siphoneen** und **Characeen** soll ein eigener Membranstoff zukommen¹⁾. Nur die jüngsten Sproßspitzen geben einwandfreie Zellulosereaktionen. Ältere Membranen reagieren weder auf Zellulose noch auf Pektin. Holz und Kork fehlt. Chlorzinkjod und Jodschwefelsäure färben braun bis rotbraun, Kongorot färbt nicht. Färbungen geben Safranin, Gentianaviolett, Crocein, Methylenblau (nicht mit Säurealkohol auswaschbar) und Jodgrün (leicht auswaschbar). — Auch die Membransubstanz von **Caulerpa** ist unbekannter Natur; sie löst sich nicht in Kupferoxydammoniak und in 12% Natronlauge. Alle **Caulerpa**- und einige **Bryopsis**-Arten geben mit konz. Schwefelsäure bei nachfolgendem Auswaschen mit Wasser Sphärite. Diese sind doppelbrechend, nehmen 100—300% Wasser auf, werden mit Jod gelbbraun und zwar von Jodschwefelsäure gleichzeitig gelöst, von Chlorzinkjod verquollen. Sie lösen sich in 12% Natronlauge, konz. Essigsäure und Kupferoxydammoniak, sind aber unlöslich in Eau de Javelle²⁾. — Hingegen kommt in **Phaeophyceen** Zellulose vor. Außerdem findet sich in **Fucus vesicul.** und **Sphaeroc. crisp.** ein Kohlehydrat, **Fucin**, das sich bei 300° in Wasser löst und sich mit Jodkalium und 1% Schwefelsäure blau färbt. Es kommt vorzüglich in der Mittellamelle vor. Setzt man einem mit 1% Jodschwefelsäure gefärbten Schnitt (der Blaufärbung in der Mittellamelle zeigt) 76% Schwefelsäure zu, dann wird die Färbung umgekehrt, die fucinhaltige Mittellamelle wird farblos, die Zelluloselamelle blau. — **Corallineen** färbt K. Yendo (Ztschr. wiss. Mikr., 1904, XXI, 260) nach Entkalkung mit Hämatoxylin-Fuchsin. Die **Genicula**-Membran besteht aus Gelose und Zellulose, erstere muß vor der Zellulosereaktion entfernt werden. — Die Membranen der höheren **Pilze** führen Chitin (S. 606), Callose (S. 556) und wohl noch weitere unbekannte Polysac-

¹⁾ B. Dębski, Weit. Beobachtungen an *Chara fragilis* Desv., Jahrb. f. wiss. Bot., 1898, XXXII, S. 635.

²⁾ C. Correns, Membr. v. *Caulerpa*, Ber. bot. Ges., 1884, XII, S. 355.

charide. Die Capillitiumfasern einiger Bovistaarten werden mit Phloroglucinsalzsäure rot. Die reagierende Substanz hält Harz¹⁾ für Lignin, doch soll sie sich in Kalilauge und in Natronlauge langsam lösen. — Die Wände der **Moose** bestehen teils aus Zellulose und Pektinen, teils aus Ester dieser Körper mit Dicranumberbsäure und Sphagnol. Holz fehlt, denn auch die mechanischen Elemente geben nach Vorbehandlung mit warmer Kalilauge Zellulosereaktion. Die Membranen des Protonema und der meisten Lebermoose reagieren ohne weiteres mit Jod auf Zellulose²⁾. Die Wände der Laubmoose werden mit Kalilauge gelb, mit Eisenchlorid blau- bis grünschwarz³⁾. Der, die Eisenreaktion gebende Körper, Dicranumberbsäure, kann durch stark verd. Alkalien, aber nicht durch kochendes Wasser entfernt werden und liegt jedenfalls in esterartiger Bindung vor (Leucobryum, Gottschea, Mastigobryum). Viele Moosmembranen (Sphagnum, Fontinalis, Trichocolea, Hypnaceen) werden durch Eisenchlorid rotbraun, durch Millon kirschrot. Den, diese Reaktionen gebenden Körper nannte Czapek⁴⁾ Sphagnol, er löst sich in Alkalien, ist stickstofffrei und kristallisiert. Auch dieser Stoff muß in esterartiger Bindung vorliegen, denn nach Vorbehandlung mit Schultzeschem Gemisch, verd. Chromsäure oder nach Kochen mit verd. Alkalien erhält man typische Zellulosereaktionen. Sphagnol und Dicranumberbsäure können sich gegenseitig vertreten oder gleichzeitig vorkommen. Mit Rutheniumrot hat Gjokić verschiedentlich (Sphagnum) Pektinreaktion erhalten und auch Czapek fand Pektine, die sich mit starker Natronlauge ausziehen lassen. Die bei Gelegenheit anderer Untersuchungen vorgenommenen Beobachtungen der Literatur bestätigen die Abwesenheit von Holz und die Anwesenheit von Zellulose und Substanzen, die mit Alkalien ausziehbar sind. So lösen sich die gelbbraunen Membranen der Brutkörper von *Georgia pellucida* langsam in konz. Schwefelsäure und werden mit Osmium geschwärzt und mit Chlorzinkjod goldbraun. Nach Vorbehandlung mit Eau de Javelle schwärzt Osmium nicht mehr und Chlorzinkjod färbt violett⁵⁾. — Bei den **Gefäßkryptogamen** nähert sich der chemische Aufbau der Membran dem der höheren Pflanzen. Die Ligninreaktion mit Phloroglucinsalzsäure tritt bei *Equisetum* (mechanische Elemente) und *Salvinia*

¹⁾ O. Harz, Lignin in Pilzmembr., Bot. Centralbl., 1886, XXV, S. 386.

²⁾ G. Gjokić, Chem. Beschaffenh. d. Zellhäute b. d. Moosen, Öst. bot. Ztschr., 1895, XLV, S. 330.

³⁾ Ruge, Organe der Lebermoose, Flora, 1893, S. 301.

⁴⁾ F. Czapek, Zur Chemie der Zellmembranen bei den Laub- und Lebermoosen, Flora, 1899, LXXXVI, S. 361.

⁵⁾ C. Correns, Über d. Brutkörper d. *Georgia pellucida* u. der Laubmoose, Ber. deutsch. bot. Ges., 1905, XIII, S. 420.

(Tracheiden) nicht, oder doch nur schwach (*Salvinia*), ein; starke Reaktionen geben Sklerenchym, Parenchym, zuweilen Mesophyll der Farne und die Mesophyllzellen einiger *Lycopodiaceen*¹⁾. Pektine treten reichlich auf, und zwar nicht nur in der Mittellamelle und in den Auskleidungen (Mangin, Lit. S. 565, 4), sondern auch in Trichomen (Tunmann, Lit. S. 94, 2). Der Hauptbestandteil der Membran ist Zellulose. Die Zellulosereaktionen habe ich an nicht stark braun gefärbten Wänden (*Adiantum*) mit Jodschwefelsäure direkt erhalten bei längerer Einwirkung einer völlig konz. Säure. Vielfach wird man jedoch den braunen, „Gerbstoffreaktionen“ gebenden Körper (Vagin, A. Meyer) vor der Jodreaktion durch kurze Behandlung mit Eau de Javelle entfernen müssen. Die nähere Natur des Vagins ist nicht bekannt. Alkoholische und wässrige Kalilauge verändern den Körper selbst beim Kochen nicht, auch treten keine Seifenmassen aus. Werden die Schnitte nacheinander mit alkoholischer 20% Kalilauge, Eau de Javelle und heißem Wasser behandelt, dann zeigt sich, daß „der durch Kalilauge nicht herausgelaugte Farbstoff sich nach der Einwirkung von Eau de Javelle in hellgelblichen Tropfen von teilweise kristallinischer Struktur auf der Membran und in den Zellen ausgeschieden hatte“ (Bäsecke, Lit. S. 603, 1). Diesen oder doch einen nahestehenden Körper führen auch die braunen Wände verschiedener Farne (*Cibotium*-Arten u. a., Pennewar Djambi), welche bei der Mikrosublimation Kristalle geben, die unter Deckglas in Kalilauge unlöslich sind (Lit. S. 94, 2).

¹⁾ K. Linsbauer, Zur Verbreitung d. Lignins bei Gefäßkryptogamen, Öst. bot. Ztschr., 1899, XLIX, S. 317; auch: Thoma (Jahrb. f. wiss. Bot., 1886, XVII, 99) u. a.