

dem Direktor dieses Institutes, Herrn Geheimrat Prof. Dr. TH. W. ENGELMANN, meinen besten Dank auszusprechen, wie auch den Herren Prof. Dr. M. MARSSON, Prof. Dr. G. HIERONYMUS in Berlin und Dr. P. KUCKUCK in Helgoland für Hilfe beim Sammeln des Materials.

Erklärung der Abbildungen und Tabellen.

Spektrophotometrische Kurven.

| | |
|---------------------------|--|
| Tabelle II, Taf. III, 17. | Der grünen Zellen der <i>Cladophora fracta</i> . |
| „ II, „ III, 18. | Der blaugrünen Zellen der <i>Oscillaria aerugineo-coerulea</i> . |
| „ II, „ III, 19. | Der violetten Zellen des <i>Chondrus crispus</i> . |
| „ II, „ III, 20. | Der roten Zellen des <i>Ceramium</i> . |
| „ II, „ III, 21. | Der braunen Zellen der <i>Dictyota dichotoma</i> . |
| „ II, „ III, 22. | Der braunen Zellen des <i>Fucus serratus</i> . |
| „ III, „ III, 23. | Des violetten Kristalls aus <i>Oscillaria sancta</i> . |
| „ III, „ III, 24. | Des roten Kristalls aus <i>Porphyra</i> . |
| „ III, „ III, 25. | Der braunen Substanz aus <i>Fucus</i> . |
| „ III, „ III, 26. | Der braunen Substanz aus <i>Porphyra</i> . |
| „ III, „ III, 27. | Der Zellen der <i>Oscillaria sancta</i> nach der Behandlung mit HCl. |
| „ III, „ III, 28. | Des „Phycoerythrin-Kristalls“ nach der Behandlung mit NaOH. |

5. L. Kny: Studien über intercellulares Protoplasma. I.

Eingegangen am 9. Januar 1904. □

Das Vorkommen intercellularen Protoplasmas in der lebenden Pflanze ist, nachdem es durch die Untersuchungen von RUSSOW¹⁾ und mehreren ihm folgenden Forschern²⁾ sichergestellt schien, in den letzten Dezennien von kompetenter Seite in Frage gestellt worden. Die mit Jod sich braun färbenden Massen, welche die Zwischenzellräume parenchymatischer Gewebe entweder vollständig ausfüllen oder deren Wandungen als Überzug bedecken, stehen nach GARDINER³⁾,

1) Über den Zusammenhang der Protoplasmakörper benachbarter Zellen (Sitzungsber. der Dorpater Naturforscher-Gesellsch. 1883, S. 19ff des Sonderabdr.)

— Über die Auskleidungen der Intercellularen (ebendasselbst, 1884, 1. Heft.)

2) BERTHOLD, SCHAARSCHMIDT, TERLETZKI, BARANETZKI u. A.

3) The Continuity of Protoplasm in Plant-Tissue (Nature, 1885, p. 390).

SCHENK¹⁾, MATTIROLO und BUSCALIONI²⁾, MANGIN³⁾ u. A. mit der Intercellularsubstanz in genetischem Zusammenhange. Nach MANGIN bestehen sie in der Hauptsache aus Pektinstoffen. Auch in den grösseren Lufträumen von Wasserpflanzen, wo nach BARANETZKI⁴⁾ und SAUVAGEAU⁵⁾ das intercellulare Plasma reichlich und mit besonderer Deutlichkeit auftreten sollte, war es mir nicht gelungen, solches nachzuweisen⁶⁾.

Unter diesen Umständen gewann ein bisher unbekannt gebliebenes⁷⁾ Vorkommen intercellularen Plasmas besonderes Interesse. Die Kotyledonen der Samen gewisser Leguminosen (*Pisum*, *Lupinus*, *Phaseolus*, *Vicia Faba* etc.) sind von einem System von Intercellularen durchsetzt, welche neben Gasen eine in gequollenem Zustande dickschleimige Füllmasse enthalten. Diese sieht, wenn man von dem Fehlen grösserer Inhaltsbestandteile, wie Zellkern, Stärkekörner, Proteinkörner absieht, dem Cytoplasma der benachbarten Zellen durchaus ähnlich. Während gequollene, reife Samen diese Füllmasse in erheblicher Menge in ihren Intercellularen führen, schwindet sie bei der Keimung mehr und mehr und wird schliesslich zum grösseren Teile durch Luft ersetzt. Hier scheint also das intercellulare Plasma berufen, eine wichtige Rolle im Leben der Pflanze zu spielen. Ausser bei den genannten Leguminosen wurden ähnliche, plasmaartige, intercellulare Füllmassen auch in den reifen Samen einiger anderen Pflanzen beobachtet.

Im Folgenden soll zunächst der für die reifen Samen von

Lupinus albus

ermittelte Tatbestand kurz dargestellt werden.

Die Kotyledonen derselben bestehen ihrer Hauptmasse nach aus Grundgewebe, dessen Zellen von aussen nach innen durchschnittlich an Grösse und Wanddicke zunehmen und fast sämtlich senkrecht zur Blattfläche überwiegend gestreckt sind. Unterhalb der Epidermis

1) Über die Auskleidung der Intercellulargänge. (Ber. der deutschen botan. Gesellsch. 1885, S. 217 ff.)

2) Sulla struttura degli spazii intercellulari nei tegumenti seminali delle Papilionacee (Malpighia, 3. (1889), p. 143 ff.)

3) Recherches anatomiques sur la distribution des composées pectiques chez les végétaux (Journal de botanique, 1893, p. 37 ff.)

4) Ann. des sc. nat. (Botanique) 7^{me} sér., tome 4 (1886, p. 187—188, Anm.

5) Sur un cas de protoplasme intercellulaire (Journal de botanique, II. (1888), . 396 ff.)

6) Über das angebliche Vorkommen lebenden Protoplasmas in den weiteren Lufträumen von Wasserpflanzen (Ber. der deutschen botan. Gesellsch. 1900, S. 43 ff.)

7) STRASBURGER (Botan. Praktikum, 4. Aufl. (1902), S. 98) erwähnt als Inhalt der Intercellularen in den Kotyledonen der Erbse nur Luft; ebenso TSCHIRCH und ÖSTERLE (Anatomischer Atlas der Pharmakognosie und Nahrungsmittelkunde 1900, S. 209 und 212) bei der Erbse und Bohne.

nimmt ein System von Intercellularen seinen Ursprung, dessen Auszweigungen nach dem Innern der Kotyledonen sich deutlich erweitern. Die Epidermiszellen schliessen in ganzer Höhe oder wenigstens in ihrem äussern Teile lückenlos aneinander.

Der vorwiegende Längsverlauf der Intercellularen erfolgt naturgemäss in Richtung der überwiegenden Längsstreckung der Grundgewebszellen, ist also von der Oberseite zur Unterseite der Spreite gerichtet. Auf Schnitten, welche im Sinne der Breitenausdehnung der Spreite geführt sind, erhält man deshalb vorwiegend Querschnittsbilder der Intercellularen. Auf diesen tritt eine die Intercellularen auskleidende Lamelle, besonders nach Färbung mit Kongorot, sehr deutlich hervor.

Um, wenn möglich, einen Anhalt dafür zu gewinnen, ob die Umrahmungen ein Umwandlungsprodukt der Membran sind, oder ob sie vom intercellularen Plasma ausgeschieden sind, wurde die Wirkung einiger Lösungsmittel geprüft. Gegen mehrtägiges Liegen in absolutem Alkohol und Äther, sowie gegen mehrstündiges Verweilen in Ätzkali zeigte sich die Lamelle resistent. Kochen in Ätzkali rief ein so starkes Quellen der Membranen in den Schnitten hervor, dass die fragliche Lamelle nicht mehr deutlich hervortrat. Nach zweitägiger Einwirkung von Chloralhydratlösung und nachherigem Auswaschen mit Wasser liess Kongorot die Umrahmungen und die Zwischenlamellen deutlich hervortreten. JAVELLE'sche Lauge brachte in der Substanz der Umrahmungen eine Veränderung derart zuwege, dass sie nach Auswaschen mit Wasser sich mit Kongorot nicht mehr intensiv färbten. Doch war der Doppelkontur auch nach 24stündiger Einwirkung noch deutlich erhalten.

Lässt man Samen über 24 Stunden in Wasser quellen, so sind die Proteinkörner zerfallen, und das Cytoplasma bildet eine körnige, schwach bräunlich gefärbte Masse. In den Intercellularen ist das Gas, das sie in trockenen Samen zum grösseren Teil erfüllte, bis auf einige Reste geschwunden, und an seiner Stelle tritt nun eine dem Cytoplasma durchaus ähnliche Füllmasse deutlich hervor. Um zu entscheiden, ob in denselben Zellkerne oder anders geformte Gebilde enthalten sind, wurden Schnitte durch frische und durch nach verschiedenen Methoden fixierte Stücke von Kotyledonen mehreren der bekannten Färbungsmethoden (Jod, Safranin, Methylgrün-Essigsäure, Pyoktanin, FLEMMING's 3 Farben) unterworfen. Niemals konnten Zellkerne, Plastiden, Stärkekörner oder andere Gebilde eigenartiger Struktur aufgefunden werden. Ebensowenig gelang der Nachweis von Scheidewänden in den Intercellularen, wie solche besonders von SCHAARSCHMIDT in den Intercellularen zahlreicher Pflanzen beschrieben worden sind¹⁾.

1) Botan. Centralbl., Bd. 18 (1884), S. 143; Bd. 19 (1884), S. 265 ff.

Das Fehlen organisierter Gebilde in der intercellularen Füllmasse machte es doppelt notwendig, letztere genauer auf ihre chemische Beschaffenheit, besonders auf ihren Gehalt an Eiweissstoffen zu prüfen. Auch musste festgestellt werden, ob die dem lebenden Plasma zukommenden Atmungsprozesse sich in der intercellularen Füllmasse ebenso wie im Cytoplasma nachweisen lassen.

Bei Behandlung mit Jod-Jodkalium in verschiedenen Verhältnissen nehmen beide denselben Farbenton an und liessen auch nach längerem Liegen in dem Reagens einen durchgreifenden Unterschied in der Art der Verblässung nicht erkennen. Frisch vorbereitetes MILLON'sches Reagens rief gleichzeitig in beiden die bekannte ziegelrote Färbung hervor. Übereinstimmend verlief bei beiden ferner die Rosenrotfärbung durch Zucker und Schwefelsäure (RASPAIL'sche Reaktion), die Gelbfärbung durch Salpetersäure (Xanthoproteinreaktion), die Violettfärbung durch Kupfersulfat und Ätzkali (Biuretreaktion), die Gelbfärbung durch Phosphormolybdänsäure und durch Pikrinsäure. Die LOEW-BOKORNY'sche Reaktion gab bei wiederholten Versuchen sowohl für das intra- als auch für das intercellulare Plasma negative Resultate. Es trat nur schwache Bräunung ein. In *Spirogyra*-Zellen und *Lemna*-Wurzeln, welche sich in der gleichen alkalischen Silberlösung befanden, hatte sich ein starker schwarzer Niederschlag gebildet.

Um den Einfluss künstlicher Verdauung zu prüfen, wurden sowohl Schnitte durch unreife, noch grüne, als solche durch reife, gequollene Samen in dreierlei verschiedene Flüssigkeiten gebracht und bei einer Temperatur von 42° C. mehrere Tage hindurch belassen. Die erste Flüssigkeit bestand aus 1 vol. GRÜBLER'schen Pepsin-Glycerins und 3 vol. Salzsäure von der Konzentration von 0,28 pCt. (ZACHARIAS); die zweite Flüssigkeit bestand aus 1 vol. Pepsin-Glycerin, 3 vol. Wasser und 1 vol. 0,2 prozentiger Salzsäure (STRASBURGER); die dritte aus 1 vol. Pepsin-Glycerin, 1 vol. GRÜBLER'schen Pankreatin-Glycerins und 20 vol. 0,3 prozentiger Salzsäure (STRASBURGER). Ein Teil der Schnitte wurde unmittelbar in die Verdauungsflüssigkeiten gebracht, ein anderer Teil erst nach 24stündigem Liegen in absol. Alkohol. In jedem Gefässe befand sich gleichzeitig ein Kapillarröhrchen, welches schwach mit Eosin gefärbtes geronnenes Hühnereiweiss enthielt. Dieses bekannte METT'sche Verfahren ermöglicht es, den Fortgang des Verdauungsprozesses makroskopisch zu verfolgen.

Die drei Flüssigkeiten zeigten in ihren Wirkungen keine erheblichen Verschiedenheiten.

Am raschesten war die verdauende Wirkung an denjenigen Schnitten zu beobachten, welche vorher mit absolutem Alkohol behandelt worden waren. In den durch gequollene reife Samen ge-

fürten Schnitten war das intercellulare Plasma schon nach 22 Stunden zum grösseren Teile geschwunden, während im Innern der Zellen noch ein nicht unbeträchtliches Klümpchen enthalten war. In den Schnitten durch die Kotyledonen unreifer Samen war die verdauende Wirkung nicht ganz so weit vorgeschritten.

Schnitte, welche zwei Tage später, also nach dreitägiger ununterbrochener Einwirkung untersucht wurden, zeigten gegenüber den eben beschriebenen nur geringe Veränderung.

Waren Schnitte durch Kotyledonen reifer und unreifer Samen sofort (d. h. ohne vorhergegangene Behandlung mit absolutem Alkohol) in die Verdauungsflüssigkeiten eingetragen worden, so zeigten sie sich nach 22stündiger Einwirkung weniger angegriffen. Es waren nicht nur grössere Reste von intercellularem Plasma noch vorhanden; auch die Ballen innerhalb der Zellen waren umfangreicher.

Nach viertägiger ununterbrochener Einwirkung waren die Reste in den Zellen und in den Intercellularen nicht erheblich geringer geworden. Der rotgefärbte Inhalt der Kontrollröhrchen war inzwischen schon längst gelöst. Die Reste bestanden zum grossen Teile aus wasserhellen, zu traubigen Massen gruppierten Kügelchen, welche sich mit Eosin nicht färbten. Nach der durch Osmiumsäure verursachten tiefen Braunfärbung zu urteilen, bestanden diese Massen vorwiegend aus Fett. Das intercellulare Plasma stimmte auch hierin mit dem Cytoplasma überein.

Die vollständiger lösende Wirkung der Verdauungsflüssigkeiten deutet auf einen verhältnismässig grösseren Eiweissgehalt des intercellularen Plasmas im Vergleiche zum Cytoplasma hin. Die raschere Einwirkung für sich allein würde schon darin eine genügende Erklärung finden, dass die Intercellularen an beiden Schnittflächen geöffnet sind, ihr Inhalt also der lösenden Wirkung leichter zugänglich ist, als derjenige der unverletzten Nachbarzellen.

Um noch auf anderem Wege etwaige Unterschiede in der chemischen Beschaffenheit der intercellularen und intracellularen Füllmassen festzustellen, wurden mehrere der gebräuchlichsten Färbemittel in ihrem Verhalten zu frischen Schnitten durch gequollene Kotyledonen durchgeprüft, wie Alkannatinktur, Anilinblau, Bismarckbraun, BEALE's Karmin, Borax-Karmin, Essigsäure-Cochénille, Kongo-rot, Korallin-Soda, Eosin, Fuchsin, Gentianaviolett, Jodgrün, Methylgrün-Essigsäure, Nigrosin, Parakarmin, Safranin. Intracelluläres und intercellulares Plasma zeigten in jedem Falle volle Übereinstimmung, mochte der Farbstoff, wie dies z. B. beim Eosin und Safranin der Fall war, aufgenommen und festgehalten, oder mochte er, wie bei der Methylgrün-Essigsäure, zurückgewiesen werden.

Ist der Inhalt der Intercellularen, wie es schon nach dem Vor-

stehenden wahrscheinlich ist, lebendes Protoplasma, so muss derselbe bei genügender Wasserzufuhr ebenso wie das Cytoplasma atmen, also der Umgebung Sauerstoff entziehen und Kohlensäure an sie abgeben. Als geeignetes Mittel, um das intercellulare Plasma mit dem intracellularen betreffs des Sauerstoffbedürfnisses zu vergleichen, bot sich die bekannte Eigenschaft der wässerigen Indigokarmin-¹⁾ und Methylenblaulösungen²⁾ dar, durch Desoxydation entfärbt zu werden und bei späterem Sauerstoffzutritte ihre frühere blaue Farbe wiederherzustellen.

Es wurden Lösungen der genannten beiden Farbstoffe von mittlerer, im Einzelnen verschiedener Konzentration hergestellt, je mehrere Tropfen davon auf Objektträger gebracht, und frische, durch gequollene Kotyledonen geführte Schnitte einige Minuten in einer der farbigen Flüssigkeiten liegen gelassen. Nachdem sie den Farbstoff aufgenommen hatten, wurden die Schnitte ab gespült, in Wasser unter Deckglas gebracht und dieses am Rande mit einem breiten Ringe geschmolzenen Vaselins versehen. Da die Diffusion des Sauerstoffes durch Vaseline sehr langsam erfolgt, war in vielen Präparaten schon nach 24 Stunden partielle oder selbst totale Entfärbung eingetreten. Wurde das Deckglas gelüftet, so erfolgte rasch von neuem Blaufärbung. Die mikroskopische Untersuchung ergab, dass sowohl bei der Entfärbung, als bei der Wiederfärbung der Präparate das intercellulare Plasma mit dem intracellularen gleichen Schritt hielt.

Um nach Möglichkeit zu verhüten, dass die Wiederfärbung des Plasmas aus der umgebenden Flüssigkeit erfolge, wurden die ganz oder teilweise entfärbten Schnitte, bevor sie in einen neuen Wassertropfen auf dem Objektträger gebracht wurden, rasch mit starkströmendem Leitungswasser ausgewaschen. Auch in diesem Falle erfolgte die Wiederbläuung des intercellularen und des intracellularen Plasmas, so viel ich sehen konnte, gleichzeitig.

Da bei der Atmung Kohlensäure entbunden wird, lag der Gedanke nahe, dünnere und dickere Schnitte durch Kotyledonen in verdünnte Barytlauge zu bringen und festzustellen, ob nach Ablauf einer bestimmten Zeit in dem intercellularen und intracellularen Plasma gleiche Mengen von Baryumcarbonat-Krystallen abgeschieden worden sind. Da dieselben optisch doppelbrechend sind³⁾, hoffte ich, dass ihre Anwesenheit mit Hilfe des Polarisationsapparates werde erkannt werden können. Die bisherigen Versuche haben noch zu keinen positiven Ergebnissen geführt.

1) nach SCHÜTZENBERGER.

2) Vgl. E. BUCHNER, H. BUCHNER und M. HAHN, Die Zymasegärung, 1903, S. 344.

3) A. HAUSHOFER, Mikroskopische Reaktionen, 1885, S. 19.

Endlich wurden Schnitte verschiedener Dicke durch frische Kotyledonen gequollener Samen mit Guajaktinktur und Wasserstoff-superoxyd geprüft. Werden solche einige Minuten in Guajaktinktur gelegt, dann durch rasches Abschwenken in absolutem Alkohol äusserlich ab gespült und nach Eintrocknen auf dem Objektträger mit Wasserstoffsuperoxyd benetzt, so tritt fast momentan die bekannte intensive Blaufärbung ein. Intercelluläres und intracelluläres Plasma hielten auch hier gleichen Schritt.

Aus Vorstehendem ergibt sich, dass die intercellulären Füllmassen der Samen von *Lupinus albus* die Eigenschaften, welche als charakteristisch für das lebende Protoplasma gelten, mit dem Cytoplasma der benachbarten Zellen teilen. In einer folgenden Mitteilung wird die Herkunft dieses intercellulären Plasmas und sein Schicksal bei der Keimung zu besprechen sein.

Meinem Assistenten Herrn Dr. W. MAGNUS spreche ich für mehrfache Mitwirkung bei der Untersuchung den besten Dank aus.

6. D. Prianischnikow: Zur Frage der Asparaginbildung.

(Vorläufige Mitteilung).

Eingegangen am 18. Januar 1904. B

In dieser Abhandlung will ich zuerst einige Angaben über die Verteilung des Asparagins in den Keimlingsorganen mitteilen, um dann die Frage über die Bildungsweise des Asparagins kurz zu betrachten.

Schon BEYER hat nachgewiesen¹⁾, dass die Lupinenkeimlinge reicher an Asparagin sind, als die Kotyledonen; dasselbe bestätigte auch SCHULZE²⁾, und zwar fand er für 11tägige Pflanzen folgenden Unterschied des Asparagingehalts bei den Kotyledonen und Keimlingen (Achsenorganen):

| | |
|-------------|--------------------------------|
| Kotyledonen | Keimlinge |
| 7,62 pCt. | 31,81 pCt. vom Trockengewicht. |

Auch ich erhielt bei meiner Arbeit für *Vicia sativa*³⁾ ähnliche Resultate:

1) Landw. Versuchsstationen, IX.

2) Landw. Jahrbücher, 1878.

3) Vergl. Landw. Versuchsstationen, Bd. XLV und LII (ausführlichere Mitteilung russisch).

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft](#)

Jahr/Year: 1904

Band/Volume: [22](#)

Autor(en)/Author(s): Kny Leopold

Artikel/Article: [Studien über intercellulares Protoplasma 29-35](#)