Die Wirkung der Centrifugalkraft auf Pflanzen.

Von

Frank Marion Andrews.

Mit Tafel I und 5 Textfiguren.

Einleitung.

Die einzigen Untersuchungen, welche auf botanischem Gebiete über die Wirkungen einer sehr hohen Centrifugalkraft auf Pflanzen angestellt wurden, sind von Mottier[1]) in dem Laboratorium von Prof. Pfeffer ausgeführt. Ausserdem hat Miehe[2]) von der Centrifuge bei einigen Experimenten Gebrauch gemacht.

Zwar hat man die Centrifugalkraft schon vor langer Zeit beim Studium des Geotropismus und des Wachsthums angewandt, doch betrug in diesen Fällen die Intensität nur einige g, während sie bei meinen Experimenten die Höhe von ca. 4400 g erreichte.

Die zum Centrifugiren benutzte Maschine war eine Milchcentrifuge, in deren Trommel auf dem Boden eine hölzerne Scheibe mit Hilfe eiserner Klammern befestigt war. Auf dieser hölzernen Scheibe waren in gleichen Abständen von einander acht starke Messingcylinder angebracht, welche die später zu erwähnenden Glascylinder während des Centrifugirens aufnahmen. Sowohl der Abstand der Glascylinder von der Achse als auch die Geschwindigkeit der Umdrehungen konnte variirt werden, sodass die Zahl der g beliebig vermehrt und vermindert werden

1) Mottier, The effect of centrifugal force upon the cell. Annals of Botany 1899, Vol. XIII, p. 325.

2) Miehe, Ueber Wanderungen des pflanzlichen Zellkernes. Flora 1901, Bd. 88, p. 109.

konnte[1]). — Bei der vorliegenden Untersuchung wurden an verschiedenen Pflanzen folgende Fragen zu lösen versucht: Welche Verlagerungen treten bei Einwirkung sehr hoher Centrifugalkräfte in dem Zellinhalte ein? Wie wirken sie auf die ganze Pflanze, besonders auf ihr Wachsthum? Wie rasch und in welcher Weise werden die Veränderungen rückgängig gemacht? Hieran schlossen sich einige specielle Fragen, auf die ich an dieser Stelle nicht weiter eingehen werde.

Ich beginne diese Erörterung mit meinen Beobachtungen über die Wirkung der Centrifugalkraft auf Samen.

Theil I.

Oel- und proteïnhaltige Samen.

Beispiele: *Ricinus communis.*
Helianthus annuus.
Cucurbita Pepo.

Nachdem ich mich an mikroskopischen Schnitten von der Richtung der langen Achse der Zellen überzeugt hatte, wurden die oben erwähnten Samen in drei verschiedenen Richtungen centrifugirt, nämlich:

a) transversal, d. h. parallel zu der langen Achse der meisten Zellen,
b) nach dem Hypokotyl hin, und
c) nach dem Stamm hin, beides auf den Embryo bezogen.

Zunächst wurden die Samen 12 Stunden lang in Wasser quellen gelassen, um den turgescenten Zustand herzustellen. Diejenigen, welche transversal centrifugirt werden sollten, wurden einfach auf eine dünne Lage feuchter Baumwolle auf den Boden starker Glas-

1) Die Höhe der Centrifugalkraft kann leicht nach der folgenden Formel berechnet werden:

$$\frac{4\,r\,\pi^2}{g\,t^2} : \frac{4\,\pi^2}{g} = 4{,}024, \text{ eine Constante.}$$

$$\frac{4{,}024\,r}{t^2} = \text{Anzahl der g (Gravitation).}$$

r = Radius in cm. t = Zeit einer Umdrehung der Trommel in Secunden. Z. B.: Wenn der Radius 11 cm beträgt und die Trommel 1000 Umdrehungen in der Secunde macht, so würde dieses annähernd eine Kraft darstellen, welche 4400mal grösser ist als die Schwerkraft. Die Umdrehungsgeschwindigkeit wurde mit einem Braun'schen Geschwindigkeitsmesser untersucht.

cylinder gelegt und dann mit einer zweiten feuchten Watteschicht bedeckt. Dieses diente nicht nur dazu, die Samen feucht zu halten, sondern auch um sie in ihrer Lage zu fixiren, da die Glascylinder in der Trommel der Centrifuge, so lange diese in Ruhe war, horizontal lagen.

Diejenigen Samen hingegen, welche nach dem Hypokotyl und nach dem Stengel hin centrifugirt werden sollten, wurden in ihrer zu der Richtung der Centrifugalkraft parallelen Lage in folgender Weise fixirt: In eine Korkscheibe von 1 cm Dicke, die genau in den Glascylinder hineinpasste, wurden Löcher gebohrt, welche gerade die Grösse des Samens oberhalb des Embryos besassen. Diese Anordnung sollte dazu dienen, dass nur die oberen und breiteren Theile der Samen den Druck auszuhalten hatten, während das Embryoende frei und unverletzt beim Centrifugiren blieb. In der umgekehrt longitudinalen Lage war diese Gefahr nicht vorhanden. Die Glascylinder wurden dann mit einem starken Kork geschlossen und die Samen 3 Stunden lang einer Centrifugalkraft von ungefähr 4400 g unterworfen. Da in diesem Falle einer der Zellbestandtheile Oel war, schien es räthlich, das Zimmer, in welchem die Centrifuge sich befand, auf 26° C. zu erwärmen, um das Oel gut flüssig zu erhalten. Sofort nach dem Centrifugiren wurden Freihandschnitte gemacht und diese mit starker Chrom-Osmium-Essigsäure[1]) behandelt. Auf diese Weise wurde das Oel geschwärzt und seine Vertheilung trat sehr scharf hervor. Gleichzeitig wurden kleine Stückchen von jedem der oben erwähnten Samen in derselben Flüssigkeit fixirt, mit Wasser ausgewaschen, allmählich mit Alkohol entwässert, dann in Chloroform gebracht und schliesslich in Paraffin eingebettet. Dann wurden Serienschnitte auf einem Jung'schen Mikrotom hergestellt, diese nach der Safranin-Gentianaviolett-Orange-G-Methode gefärbt und in Balsam eingeschlossen. Obwohl das Chromsäuregemisch das stärkste war, welches eben noch angewandt werden konnte, ohne die Gewebe zu schädigen, so waren doch nur die ersten zwei oder drei peripheren Zellreihen von dem Fixirungsmittel durchdrungen.

Vor dem Centrifugiren liegt das bei *Cucurbita*, *Helianthus* und besonders bei *Ricinus* sehr reichlich vorhandene Oel regelmässig zwischen den Proteïnkörnern vertheilt. Dass dasselbe für die Lage der Proteïnkörner zutrifft, kann leicht an jedem gut

1) Zimmermann, Botanische Mikrotechnik 1892. p. 175.

gelungenen frischen Schnitte festgestellt werden. Und dass es gleicherweise richtig ist für das Oel, zeigt bei Anwendung von Chrom-Osmium-Essigsäure die gleichmässige Schwärzung der Zellen.

Unmittelbar nach dem Centrifugiren ist eine vollkommene Veränderung in der Anordnung des Zellinhaltes eingetreten, indem je nach der Grösse der Zellen eine mehr oder weniger ausgeprägte Trennung des Oels und der Proteïnkörner stattgefunden hat. In jeder Zelle, in welcher Proteïnkörner vorhanden waren, waren sie, einerlei, in welcher Richtung centrifugirt wurde, nach dem centrifugalen[1]) Ende geschleudert worden (Fig. 1—4, Taf. I). Sie waren durch den ausgeübten Druck so fest zusammengepresst, dass, so weit es ihre Form erlaubte, der ganze verfügbare Raum von ihnen vollständig eingenommen war. Oft waren sie auf einen Haufen gedrängt und lagen in einer unregelmässigen, nach den verschiedensten Richtungen vorspringenden compacten Masse in den Zellen. Diese dichte Lagerung war besonders deutlich, wenn die Centrifugalkraft in der Richtung der grösseren Zellachse gewirkt hatte, während in quer centrifugirten Zellen die Zusammenhäufung etwas lockerer war. Dies trifft besonders zu für *Cucurbita*, wo ausserdem die unregelmässigen polygonalen Proteïnkörner nicht geeignet sind, sich eng aneinander zu schliessen. Das Oel war nach dem centripetalen Ende der Zelle gedrängt. Dies ist auch ohne die Anwendung von Reagentien deutlich, aber um ganz sicher zu sein, wurde immer starke Chrom-Osmium-Essigsäure angewandt. Das Oel erscheint dann als eine tiefschwarz gefärbte Masse, deren Färbungsintensität in der unmittelbaren Nachbarschaft der centripetalen Zellwand ein wenig grösser ist und sich auch nach der anderen Seite nach einer lichteren Zone zu etwas abschattirt. An dieser Stelle bildet auch das Oel, wenn die Centrifugalkraft parallel zur Längsachse der Zellen gewirkt hatte, nicht eine gerade Grenzlinie, sondern zeigt einen sehr deutlichen Meniscus (Fig. 1, 2 und 3, Taf. I). Die Krümmung des Meniscus variirt im Verhältniss zur Weite der Zellen, d. h. wenn der Durchmesser der Zelle wächst, wird der bogige Verlauf flacher und flacher, bis

[1]) Ich gebrauche die Ausdrücke „centrifugales resp. centripetales Ende", im ersteren Falle, um dasjenige Ende oder diejenige Seite der Zelle zu bezeichnen, wohin beim Centrifugiren der Zellinhalt geschleudert wird, im letzteren Falle zur Bezeichnung der anderen gegenüberliegenden Zellseite. Körper, welche nach dem centrifugalen resp. centripetalen Ende gehen, zeigen damit selbstverständlich an, dass ihr specifisches Gewicht grösser bezw. kleiner ist als der Zellsaft.

schliesslich, wenn die Centrifugalkraft in der Querrichtung gewirkt hatte, die Längsachse der Zelle also dazu senkrecht stand, die Krümmung beinahe gänzlich verschwindet.

Wir haben jetzt einen sehr deutlichen Contrast in den beiden Zellenden, in dem einen liegen die hellgefärbten Proteïnkörner, in dem andern das geschwärzte Oel. Wie oben schon angedeutet wurde, ist es zuerst unmöglich, in normal gefüllten Zellen durch die Centrifugalkraft das Oel und die Proteïnkörner vollständig von einander zu trennen und zwar deswegen, weil bei der starken Füllung der Zellen die beiden durch das Centrifugiren gesonderten Schichten sich in der Mitte eine Strecke weit gegenseitig verdecken und so keine deutliche Grenze sichtbar wird.

Eine sehr scharfe Sonderung lässt sich jedoch dadurch erzielen, dass man die Samen zunächst einige Tage wachsen lässt. Schneidet man jetzt die Wurzeln ab und centrifugirt die Samen, so ist die Separation der beiden Reservestoffe in den theilweise entleerten Zellen sehr gut ausgeprägt. Das geschwärzte Oel und die Proteïnkörner, welche durch das Safranin intensiv roth gefärbt sind, zeigen dann einen grossen Contrast. Die Proteïnkörner lassen sich dauernd mit Safranin färben, doch müssen zu diesem Zwecke die Schnitte mindestens 20 Stunden in der Farbflüssigkeit gelassen werden.

Meistentheils wirkte die Centrifugalkraft, wie oben erwähnt, parallel oder senkrecht zur Zellachse. Hier und da waren jedoch einzelne Zellen so gelagert, dass sie schiefwinkelig zur Centrifugalrichtung standen. In allen Zellen der Samen von *Ricinus*, *Cucurbita* und *Helianthus* war der Inhalt vollständig in der beschriebenen Weise dislocirt, selbst in den winzigen Zellen des Embryo.

Wenn wir mit sehr starker Vergrösserung das Aussehen des Oels nach seiner Anhäufung im centripetalen Zellende betrachten, so bemerken wir, dass es sowohl vor als nach der Anwendung von Chrom-Osmium-Essigsäure eine homogene, fein-granulirte Masse ist (Fig. 1, 2, 3, Taf. I). Nur bei *Ricinus* ist ein beträchtlicher Unterschied in der Grösse dieser Granula zu constatiren, die regelmässig in dem Oel vertheilt liegen. Sowohl in centrifugirten als in nicht centrifugirten Samen dieser Pflanzen kann man eine ringartige oder wabenartige Anordnung des Protoplasmas bemerken, welches besonders in entleerten Zellen das Innere gleich ebenso vielen zarten und dünnwandigen Parenchymzellen zu erfüllen scheint.

Bei *Ricinus* sind diese Maschen sehr zahlreich und klein, sie messen nur 0,001 mm. Werden jedoch die Samen nach fünftägigem Wachsthum centrifugirt, so ist ihre Grösse bis auf 0,008 mm im Durchschnitt angewachsen und ihre Zahl vermindert.

Bei *Cucurbita* und *Helianthus* sind diese Maschen gleichförmiger als bei *Ricinus* und haben eine durchschnittliche Weite von 0,001 mm resp. 0,002 mm. Meistens waren diese Abtheilungen polygonal, obwohl in anderen Fällen, besonders wo die Samen nach vorherigem Wachsthum centrifugirt wurden, sie kreisrund mit intercellularartigen Zwischenräumen erschienen. An der dem centrifugalen Zellende zugewandten Seite der Oelmasse oder dort, wo aus irgend einem Grunde die Quantität des Oels geringer war, erschien es oft in jene Maschen eingeschlossen, woraus man ableiten könnte, dass die ganze Oelmasse in Tropfen angeordnet ist. Aber wie vorher an centrifugirten und uncentrifugirten Zellen, welche überall eine normale Menge Oel besitzen, constatirt wurde, erscheint dieses vollkommen ungesondert.

Um nun festzustellen, innerhalb welcher Zeit das Oel in den centrifugirten Samen in seine normale Lage ohne den Einfluss des Wachsthums zurückkehrt, mussten die Samen längere Zeit hindurch so aufbewahrt werden, dass sie zwar feucht genug waren, aber nicht auskeimen konnten. Zu dem Zweck wurden sie auf einem Gestell unter eine Glocke gebracht, in welcher der Feuchtigkeitsgrad soweit erniedrigt wird, dass keine Keimung eintrat. Die Lage der Samen entsprach derjenigen, die sie während des Centrifugirens inne hatten. Eine Hälfte wurde einer Durchschnittstemperatur von 16° C. ausgesetzt, während die andere an eine Stelle im Wärmezimmer gesetzt wurde, wo eine unveränderliche Temperatur von 26° C. herrscht. Während dieser Zeit wurde dann und wann ein Same entfernt und an sorgfältigen Schnitten auf den Rückwanderungsprocess des Zellinhaltes hin untersucht. Gefärbte Präparate dieser Samen wurden ebenfalls angefertigt nach der oben angegebenen Methode, um sie mit jenen zu vergleichen, welche unmittelbar nach dem Centrifugiren hergestellt waren.

Nach Verlauf von 3 Monaten war der Inhalt in den Zellen des Embryos und in der unmittelbaren Nachbarschaft der Gefässbündel zurückgekehrt, in allen anderen Zellen war jedoch die Wiederherstellung des Inhalts, wenngleich theilweise, eingetreten, doch niemals vollständig. Die Umlagerung des Inhalts schien dann leichter einzutreten, wenn die Zellen nach der Seite zu centri-

fugirt waren, wahrscheinlich deswegen, weil in diesem Falle bei der grösseren Berührungsfläche die beiden Schichten sich leichter wieder mischen konnten.

Dieser Versuch wurde noch in der Weise variirt, dass gleich nach dem Centrifugiren der Embryo entfernt wurde, um zu untersuchen, ob seine Anwesenheit etwa einen Einfluss auf die Restitution des Zellinhaltes haben würde. Trotz aller Vorsichtsmaassregeln jedoch, die Fäulniss in dieser etwas feuchten Atmosphäre zu verhindern und die lästigen Pilze fernzuhalten, konnten solche Samen nur 30 Tage lang am Leben erhalten werden. Während dieser Zeit war nur in einigen Zellen in der Nähe der Gefässbündel normale Vertheilung des Inhaltes wieder eingetreten, während in allen anderen Zellen, wie ein Vergleich mit den sofort nach dem Centrifugiren angefertigten Dauerpräparaten lehrte, eine Veränderung kaum wahrnehmbar war. Schliesslich wurde noch ein drittes Experiment in der Weise angestellt, dass die Samen 41 Stunden unter günstigen Keimungsbedingungen gehalten und dann des Embryos beraubt wurden. Es liess sich dann an Schnitten feststellen, dass eine kurze Zeit hindurch der Inhalt fortfuhr, rascher in die normale Lage zurückzukehren, als wenn der Embryo sogleich entfernt war. Dieses war augenscheinlich auf den Anstoss zurückzuführen, den der Stoffwechsel auf die Zellen ausgeübt hatte, denn sehr bald wurde die Wiederumlagerung langsamer und langsamer und hörte schliesslich ganz auf.

Um die Zeit zu ermitteln, innerhalb welcher sämmtliche Zellen unter günstigen Keimungsbedingungen in ihren normalen Zustand zurückkehren, wurden die Samen sofort nach dem Centrifugiren in Sägemehl bei einer Temperatur von 26° C. gepflanzt. Bei *Cucurbita* war der Inhalt in den Zellen des Embryos vollständig in 18 Stunden zurückgekehrt. Wie vorher erwähnt, schien der Inhalt nach seiner Neuanordnung im Embryo immer sich zunächst in der Nähe der Gefässbündel zurückzulagern. Von diesen Punkten aus erfolgte die Umlagerung in radialer Richtung durch den Samen hindurch, indem sie gleichzeitig nach der Spitze der Kotyledonen zu den Gefässbündeln entlang fortschritt. Es wurden genügend Samen ausgesät, um jeden Tag ein Pflänzchen zum Zweck der mikroskopischen Untersuchung entfernen zu können. Die Rückkehr des Inhalts, welche zunächst langsam erfolgte, beschleunigte sich mehr und mehr in dem Maasse, als die Pflanze wuchs und ihre Anforderungen an die in den Kotyledonen angehäuften Nährstoffe

sich steigerten. Erst am 8. Tage waren die Zellinhalte wieder vollkommen normal gelagert. Die peripheren Zellen waren die letzten, deren Inhalt zurückkehrte; während der Zeit war die Wurzel der Pflanze 19 cm, ihr Stengel 21 cm lang geworden. Es kann überraschend erscheinen, dass soviel Zeit für vollkommene Wiederumlagerung erforderlich war. Doch ist das nicht weiter erstaunlich, wenn man bedenkt, dass in den Samen dieser selben Pflanze ohne den Einfluss des Wachsthums drei Monate noch nicht genügten, um vollkommene Restitution des Inhalts herbeizuführen.

Wenn wir den traumatischen Effect, der durch die folgende Behandlung hervorgerufen wurde, unberücksichtigt lassen, so führt uns folgendes Experiment einen Schritt weiter. Es wurde nämlich, nachdem *Cucurbita* vier Tage gewachsen war, ein Kotyledo entfernt. Es konnte dann constatirt werden, dass die Umlagerung in den Zellen des anderen Kotyledo beschleunigt wurde. So gross war der Wechsel, dass in allen Zellen der Inhalt beinahe in der Hälfte der Zeit, die beim ersten Experiment erforderlich war, zurückkehrte, d. h. etwa in zwei Tagen nach der Amputation. Dasselbe trat, wenn auch weniger markirt, dann ein, wenn kleinere Theile eines oder beider Kotyledonen entfernt wurden. Niedrigere Temperatur von 17° C. verlängerte die Dauer der Rückkekr in allen Fällen um einige Tage.

Bei *Ricinus* kehrte der Inhalt in den Zellen der Kotyledonen nach dreistündiger Einwirkung einer Centrifugalkraft von ca. 4400 g in 2 Tagen zurück, nachdem die Keimung begonnen hatte. In den Zellen des Endosperms erfolgte jedoch die Umlagerung sehr langsam; es waren bei 26° C. dazu 12 Tage nöthig. Wenn eine Hälfte des Endosperms entfernt wurde, während die Pflanze unter denselben Bedingungen wie vorher verblieb, so verstrichen 7 Tage, bevor der Inhalt der anderen Hälfte zurückgekehrt war. Wenn schliesslich die Pflanze einer Temperatur von 16° C. ausgesetzt war, so waren 10 Tage für die Umlagerung in der zurückbleibenden Hälfte nöthig.

Was dann *Helianthus* anbetrifft, so genügten im allgemeinen und wenn beide Kotyledonen vorhanden waren, bei 26° C., 3 Tage, wenn hingegen bei 17° C. kultivirt, 4 Tage, bis der Inhalt vollständig zurückgekehrt war. War ein Kotyledo entfernt, so war bei 26° C. schon 24 Stunden nach der Keimung vollkommene Rückkehr eingetreten, ohne dass eine Entfernung des Inhalts oder eine

Auflösung der Proteïnkörner bemerklich war. Das Oel scheint rascher in die normale Lage zurückzukehren als die Proteïnkörner, und indem es dieselben zuerst nur mit einer dünnen Schicht bedeckt, lässt es die Umrisse der Proteïnmasse in der Mitte der Zelle noch einige Zeit hindurch erkennbar.

Nachdem der Zellinhalt zurückgekehrt war, begannen alle Pflanzen von *Ricinus*, *Cucurbita* und *Helianthus*, einerlei, in welcher Richtung die Samen centrifugirt waren, bald so gleichmässig zu wachsen, dass in einigen Tagen kein Unterschied mehr in Grösse und Stärke zwischen ihnen und den nicht centrifugirten Controllpflanzen entdeckt werden konnte.

Weiter war es erwünscht, zu untersuchen, ob überhaupt und wie das Centrifugiren auf die trockenen Samen dieser selben Pflanze wirken würde. Es wurden die Samen also wiederum der dreistündigen Einwirkung einer Centrifugalkraft von 4400 g unterworfen. Doch in keinem einzigen Falle, selbst nicht bei *Ricinus*, wo man eine Veränderung hätte erwarten können, war auch nur die geringste Spur einer Verlagerung erkennbar. Weiterhin war denn auch bei einem Vergleich der Keimung mit der von Controllpflanzen kein durch diese Behandlung hervorgerufener Unterschied zu constatiren.

Theil II.

Samen mit Stärke und Proteïnkörnern.

Beispiele: *Pisum sativum*,
Phaseolus multiflorus,
Vicia sativa.

Nachdem diese Samen in der oben angegebenen Weise der dreistündigen Einwirkung einer Centrifugalkraft von 4400 g ausgesetzt waren, wurden sie wiederum an Schnitten untersucht. Um ein Herausreissen der Stärkekörner aus der durch das Centrifugiren bewirkten Lage zu vermeiden, mussten die Schnitte nach der Zellwand zu geführt werden, welcher die Stärkekörner anlagen. Weiter wurden diese Schnitte gerade dick genug gemacht, dass sie eine Lage unverletzter Zellen enthielten und da ja der Inhalt so leicht sich veränderte, schien es räthlich, selbst das geringe Gewicht des Deckglases mit Glassplittern zu stützen, wenn frische Schnitte

direct in Wasser übertragen wurden. Einige Stücke dieser Samen wurden auch in 1 % Chromsäure sowie in Chrom-Osmium-Essigsäure fixirt.

Zuerst wurden die Samen in Glascylindern so orientirt, dass die Centrifugalkraft im rechten Winkel zu den Kotyledonen wirkte. In manchen Fällen waren die Zellen so vollständig mit Stärke und Proteïnkörnern gefüllt, dass vollkommene Umlagerung des Inhalts nur in einigen Reihen an der Peripherie eintrat, in anderen Fällen in 12 oder 15 Reihen nach innen, während hier und da eine gleiche Veränderung des Inhalts in kleinen Zellgruppen zu bemerken war, welche noch näher nach dem Innern zu lagen. Andere Samen von *Pisum sativum* waren augenscheinlich nicht so inhaltsreich, denn bei ihnen trat vollkommene Umlagerung ein und zwar in folgender Weise:

In diesen Samen sowohl wie in denjenigen von *Phaseolus multiflorus* und *Vicia sativa* sind die Stärke und die Proteïnkörner vor dem Centrifugiren gleichmässig in den Zellen vertheilt. Nach dem Centrifugiren waren jedoch die Stärkekörner, vorausgesetzt, dass der Inhalt nicht zu dicht war, durch die Proteïnsubstanzen hindurch nach dem centrifugalen Ende der Zelle geschleudert (Fig. 4, Taf. I). Wegen ihrer Form war eine vollkommen dichte Zusammenhäufung nicht möglich, denn hier und da blieben Zwischenräume zwischen den Körnern, welche die ganze Masse als ein ziemlich lockeres Gefüge erscheinen liessen (Fig. 4, Taf. I).

Auch die Proteïnkörner wurden, sofern es die Dichte des Inhalts gestattete, nach dem centrifugalen Ende der Zellen geschleudert. Man konnte sie dann dicht aufgehäuft in den oben erwähnten Interstitien zwischen den Stärkekörnern sehen. Gerade über den Stärkekörnern waren sie ebenfalls in eine sehr compacte Masse zusammengedrängt, die jedoch nach dem centripetalen Zellende lockerer wurde.

Dass der Grund der Verlagerung des Zellinhaltes davon abhängt, wie dicht die Zellen gefüllt sind, lässt sich durch folgendes Experiment zeigen. Dieselben Samen, in deren Zellen sich durch die Centrifugalkraft keine Veränderung hervorrufen liess, wurden in feuchtem Sägemehl zur Keimung gebracht. Wurden sie dann wieder centrifugirt, so liess sich eine geringe Umlagerung in solchen Zellen constatiren, welche vor dem Keimen dies nicht gezeigt hatten. Und wiederum je länger diese Samen wachsen konnten und je weiter die Entfernung der Inhaltstoffe vorschritt, desto vollständiger

und allgemeiner durch alle Zellen verbreitet war die Umlagerung. Um dieses zu illustriren, liess ich dieselben Samen von *Pisum sativum*, in deren Zellen anfangs keine vollkommene Veränderung erzielt werden konnte. 5 Tage bei 26° C. wachsen, und centrifugirte sie dann. Jetzt war so viel von dem Inhalt zum Wachsthum verbraucht worden, dass die Stärke- und Proteïnkörner in allen Zellen nach dem centrifugalen Zellende getrieben waren.

Auch bei *Phaseolus multiflorus* konnte vor der Keimung die Lage der schwereren Bestandtheile nur in den ersten 8 oder 10 Zellreihen von der Peripherie aus verändert werden. Hier wie bei *Pisum sativum* waren die Stärkekörner fest in das centrifugale Ende der Zellen getrieben und mit ihnen viele Proteïnkörner (Fig. 5, Taf. I). Dass auch alle Proteïnkörner wegen ihres grösseren specifischen Gewichtes nach derselben Richtung gehen wie die Stärke, zeigt der folgende Versuch, bei dem ich wieder die Kotyledonen nach 10tägigem Wachsthum der Pflanze centrifugirte. Jetzt wurden mit Ausnahme sehr weniger Zellen alle Stärke- und Proteïnkörner zu einer compacten Masse im centrifugalen Zellende zusammengedrängt.

In gleicher Weise wurden die Samen von *Vicia sativa* behandelt, doch war es hier nicht möglich, den Inhalt in irgend einer Weise zu dislociren. Von allen bisher untersuchten Samen ist dies der einzige, in welchem der Inhalt nicht in irgend erheblichem Maasse durch die angewandte Centrifugalkraft verändert werden konnte. Die Zellen waren so dicht gefüllt, dass erst nach einem fünftägigen Wachsthum unter den günstigsten Bedingungen eine Verlagerung durch das Centrifugiren hervorgebracht werden konnte, die im übrigen genau den Verhältnissen bei *Pisum* und *Phaseolus* entsprach.

Bei einer anderen Species, nämlich *Vicia Faba*, gelang die Trennung des Inhalts auch ohne vorheriges Wachsthum. Die Stärke- und Proteïnkörner waren in beinahe jeder Zelle nach dem centrifugalen Ende geschleudert.

Bei allen diesen Samen konnte durch das Centrifugiren eine geringe Quantität Oel sichtbar gemacht werden, wenn sie einige Zeit hindurch gewachsen waren. Vor der Keimung war Oel nicht vorhanden, es musste vielmehr aus der Stärke hervorgegangen sein, welche sich zunächst in Zucker und dann schliesslich in Oel verwandelt hatte, wie das Sachs schon vor langer Zeit angedeutet hat[1]).

1) J. Sachs, Ueber die Stoffe, welche das Material zum Wachsthum der Zellhäute liefern. Jahrb. f. wiss. Botan., 1863, Bd. III, p. 193.

Nach Färbung mit Safranin-Gentianaviolett-Orange haben wir dann starke Farbencontraste in derselben Zelle; in dem centripetalen Ende liegt das geschwärzte Oel, im centrifugalen Ende befinden sich die blauen Proteïnmassen und die leuchtend rothen Stärkekörner. In einigen Fällen, wo die Zellen geschrumpft waren, war deutlich sowohl die Continuität des Protoplasmas als auch die genaue Lage der Kerne zu sehen, ein Punkt, auf welchen ich später Gelegenheit haben werde, einzugehen.

Um hier wiederum, wie oben, die Zeit, innerhalb welcher Wiederumlagerung ohne Wachsthum eintritt, zu ermitteln, wurden von 24 parallel zu den Kotyledonen centrifugirten Erbsensamen 12 auf ein Gestell in eine feuchte Kammer bei 26° C. gelegt, während die anderen 12 in derselben Weise, aber bei einer Temperatur von 16° C. gehalten wurden. Gleicher Weise wurden 24 Samen von *Phaseolus multiflorus* und 24 Samen von *Vicia Faba* centrifugirt und denselben Bedingungen ausgesetzt. In jedem Falle wurden von Zeit zu Zeit hergestellte Schnitte mit den Dauerpräparaten verglichen, um zu entscheiden, in welcher Weise und in welcher Ausdehnung die Wiederumlagerung vor sich ging. Es stellte sich jedoch als unmöglich heraus, diese Samen in solch feuchter Atmosphäre am Keimen zu hindern; besonders traf dieses für *Pisum sativum* zu. Trotzdem mithin das Wachsthum erheblich war, so gebrauchte der Inhalt der Zellen doch bei 26° C. 20 und bei 16° C. 35 Tage zu seiner völligen Rückkehr.

Bei *Phaseolus multiflorus* war das Wachsthum schwächer und demgemäss die Rückkehr des Inhalts weniger rasch. Bei einer Temperatur von 26° C. blieben die Samen nur 26 Tage am Leben. Während dieser Zeit war der Inhalt nur in einem Theile der peripheren Zellen, die ja allein durch das Centrifugiren verändert waren, wieder umgelagert.

Da bei 16° C. die Samen von *Vicia Faba* der Fäulniss länger (60 Tage) widerstanden, ihr Wachsthum aber ebenfalls entsprechend langsamer war, kehrte der Inhalt demgemäss viel weniger vollständig zurück. Bei *Vicia sativa*, dem dritten Samen dieses Typus, konnte dasselbe beobachtet werden, nämlich dass eine gleich lange Zeit bei nur geringem Wachsthum bei 16, ja sogar 26° C. nicht genügte, um den Inhalt in allen Zellen in seine normale Lage zurückzubringen. Ich liess dann eine Anzahl dieser Samen auskeimen, so dass gerade die Wirkung des Wachsthums bemerklich wurde, entfernte darauf den Embryo und centrifugirte die Samen. Eine

Zeit lang schien in solchen Samen der Inhalt rascher in die normale Lage zurückzukehren als in jenen, welche nicht gekeimt hatten, doch wurde wie bei den anderen Objecten ohne Embryo die Umlagerung bald langsamer.

Schliesslich kultivirte ich noch andere Samen dieser Pflanze in Sägemehl bei 16 und 20° C., nachdem der Inhalt soviel als möglich dislocirt war, um auch hier wiederum den Modus und die Dauer der Wiederumlagerung in allen Zellen zu verfolgen. *Pisum sativum* und *Vicia Faba* waren bekanntlich die einzigen Samen mit Stärke- und Proteïnkörnern, deren Inhalt sich in allen Zellen durch Centrifugalkraft umlagern liess. Unter denselben Bedingungen, wie sie für die Samen mit Oel und Proteïn angegeben waren, kehrte der Inhalt zuerst in den Zellen des Embryos und nächstdem in denen neben den Gefässbündeln zurück. Von diesen Punkten aus verbreiterte sich die Umlagerung des Inhalts allmählich über alle Zellen, bis überall schliesslich die normale Anordnung der Zellbestandtheile wieder eingetreten war.

In dem Maasse als die Pflanze an Grösse zunahm und die Ansprüche an die Nährsubstanzen in den Kotyledonen stiegen, wurde die Wiederumlagerung beschleunigt. Bei *Pisum* waren unter den günstigsten Bedingungen bei einer Temperatur von 26° C. 5 Tage erforderlich für die totale Rückkehr des Inhalts. Bei 16° C. jedoch waren 9 Tage, also beinahe die doppelte Zeit nöthig.

Bei *Phaseolus multiflorus* vollzog sich die Umlagerung des Inhalts bei 26° C. in 9 Tagen und bei 16° C. in 20 Tagen. Bei *Vicia Faba* waren die entsprechenden Zeiten bei 26° C. 7 Tage und bei 16° C. 20 Tage. Man wird bei einem Vergleich dieser Samen mit den öl- und proteïnhaltigen erkennen, dass die ersteren in der Regel unter gleichen Bedingungen viel längere Zeit zur Wiederumlagerung des Inhalts gebrauchen.

Wie oben wurde auch bei diesen Samen nach Entfernung eines Kotyledo bald die Rückkehr in den Zellen des übrig bleibenden Kotyledo beschleunigt und erfolgte in beinahe der Hälfte der Zeit, als wenn zwei vorhanden waren. So z. B. wurde bei *Pisum sativum* nach dieser Behandlung die Zeit der Wiederumlagerung bei 26° C. von 5 auf 3 Tage und bei 16° C. von 9 auf 6 Tage reducirt. Eine gleiche bedeutende Abnahme der Zeit war bei *Phaseolus multiflorus* und bei *Vicia Faba* bemerklich. Eine weitere Erklärung ist unnöthig, da ein Blick auf die Tabellen, in

welchen die diesen Punkt betreffenden Werthe zusammengestellt sind, genügen wird, um meine Behauptungen zu illustriren.

12 Samen von		*Pisum sativum*	*Phaseolus multiflorus*	*Vicia Faba*	
Parallel zu den Kotyledonen centrifugirt und in Sägemehl gepflänzt keimten bei	26° C. in	24	24	36	Stunden
	16° C. in	48	48	60	„
Controllsamen in Sägemehl gepflanzt keimten bei	26° C. in	24	24	36	„
	16° C. in	48	48	60	„
Der Inhalt kehrte, nach dem Centrifugiren, in Sägemehl zurück bei	26° C. in	5	9	7	Tagen
	16° C. in	9	20	20	„
Der Inhalt kehrte, nach dem Centrifugiren, in der feuchten Kammer zurück bei	26° C. in	20	todt; lebten 26 Tage	todt	„
	16° C. in	35	todt; lebten 60 Tage	todt	„
Der Inhalt kehrte, nach dem Centrifugiren, nachdem ein Kotyledo entfernt war, zurück bei	26° C. in	3	6	4	„
	16° C. in	6	11	9	„

In der Keimdauer von *Pisum sativum* und *Phaseolus multiflorus* war ein Unterschied bemerklich. Jene, welche parallel zu den Kotyledonen centrifugirt waren, keimten in allen Fällen in derselben Zeit wie die Controllpflanzen. Diejenigen hingegen, in denen die Centrifugalkraft im rechten Winkel zu den Kotyledonen gewirkt hatte, zeigten einen Unterschied. So gebrauchten z. B. bei *Pisum sativum* die Samen bei 26° C. 72 Stunden zur Keimung, während die Controllpflanzen wie gewöhnlich schon in 24 Stunden keimten. Bei 16° C. keimten die centrifugirten Samen nach 92 Stunden, die normalen hingegen nach 48 Stunden. Einen ähnlichen Unterschied kann man auch bei *Phaseolus multiflorus* bemerken. Es ist möglich, dass die gequollenen Kotyledonen der Samen während des Centrifugirens so fest zusammengepresst waren, dass der Embryo etwas dabei zu Schaden kam. Dass dies bei mikroskopischer Untersuchung nicht feststellbar war, schliesst die Möglichkeit keineswegs aus. Jedenfalls scheinen die Samen nach dem Keimen bald ihre Lebenskraft wieder zu gewinnen; sie wuchsen nach ein paar Wochen ebenso kräftig wie normale.

Bei *Phaseolus multiflorus* war die schon oben erwähnte Schaumstructur des Protoplasmas ausserordentlich deutlich, besonders wenn die Samen eine Zeit lang gewachsen waren (Fig. 8, Taf. I). Es sah aus, als ob die Zelle in ihrem centripetalen Ende von einer Masse grosser polygonaler, sehr dünnwandiger und durchsichtiger Waben ausgefüllt wäre, zwischen denen hier und da in den Winkeln kleine Intercellularen vorhanden waren. In diesen lag bisweilen ein Proteïnkörnchen, welches an solchen Punkten fester als sonst gehalten, von der Centrifugalkraft nicht fortgeschleudert war. Hierzu bildete die dichte Anhäufung dunkeln Inhalts beim centrifugalen Ende einen auffälligen Contrast. Diese Anordnung des Plasmas ist jedenfalls in den normalen Samen schon durch die Vertheilung der Stärkekörner gegeben; neugebildet konnte sie kaum werden, da sie sofort nach dem Centrifugiren deutlich erkennbar war. Es ist mithin im höchsten Grade überraschend, zu sehen, dass eine solche Quantität Zellinhalt und besonders das Proteïn und die grossen Stärkekörner durch jene zarten Lamellenwände geschleudert werden konnten, ohne dass die ganze Structur total und dauernd zerstört wurde. Dies entspricht durchaus den Erfahrungen Mottier's an *Cladophora*, deren zartes Lamellengerüst ebenfalls durch die hohe Centrifugalkraft nicht beschädigt wurde[1]).

Theil III.

Siebröhren.

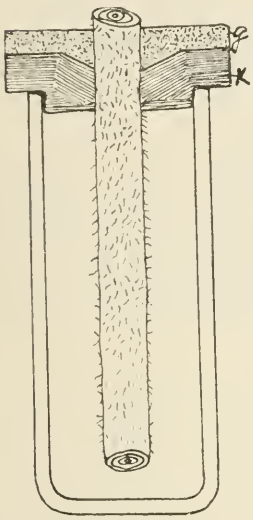
Es ist eine bekannte Thatsache, dass ein sehr leichter Druck genügt, um den Inhalt einer Siebröhre zu veranlassen, in einer bestimmten Richtung zu fliessen. Von diesem Gesichtspunkte aus erschien es wünschenswerth, festzustellen, ob der Inhalt einer Siebröhre oder mehrerer derselben in einer Reihe sich vollständig durch die Centrifugalkraft entfernen liesse. Zu diesem Zwecke wurden die günstigsten Objecte, wie *Momordica Elaterium* und *Cucurbita Pepo* zuerst gewählt, denn es ist a priori klar, dass, wenn es bei diesen Pflanzen unmöglich ist, es nutzlos sein würde, das Experiment bei anderen zu versuchen.

Ein Stück eines lebhaft wachsenden Stengels wurde so durch das Loch eines starken Korkes (k) gesteckt, dass es ein paar mm

1) l. c., p. 329.

über die Korkscheibe vorragte. Der Kork war so gestaltet, dass die untere Hälfte genau in den inneren Durchmesser des Glascylinders hineinpasste und diesen abschloss. Das herausragende obere Ende des Stengelstückes wurde durch eine Lage Gips[1]) (g) fest mit dem Korke verbunden (Fig. 1).

Auf ähnliche Weise wurden Stengelstücke von *Curcurbita Pepo* an dem Korke befestigt. Dieser wurde jetzt auf den mit Wasser gefüllten Glascylinder fest aufgesetzt. Nach dreistündiger Einwirkung einer Centrifugalkraft von ca. 4400 g waren die Stengel durchscheinend geworden, weil sie während des Centrifugirens mit Wasser injicirt waren. Schon an dünnen Freihandschnitten konnte festgestellt werden, dass der Inhalt der Siebröhren verschwunden war. Um dies jedoch mit hinreichender Sicherheit zu constatiren, wurden Theile sofort in siedendes Wasser 3 bis 5 Minuten lang nach der Methode von A. Fischer[2]) gelegt, dann mit Alkohol entwässert, in Paraffin eingebettet, auf dem Mikrotom geschnitten, nach der Dreifarben-Methode gefärbt und in Balsam eingeschlossen. Es kam zunächst nicht darauf an, den Zellinhalt zu färben, sondern möglichst rasch und vollständig das von dem Inhalt, was etwa in den Siebröhren vorhanden sein konnte, zu fixiren. Für diesen Zweck eignet sich die Methode A. Fischer's in hervorragender Weise, wünscht man jedoch, dass die Gewebe nachher normal nach Flemming's Methode gefärbt werden, so müssen die Objecte nach der Fixirung mit kochendem Wasser die gewöhnliche Zeit in Chrom-Osmium-Essigsäure liegen. An diesen Präparaten konnte man wiederum deutlich sehen, dass der ganze Inhalt vollständig aus den Siebröhren entfernt war. Die Hautschicht war jedoch unverändert erhalten. Wenn man bedenkt, dass ein sehr hoher Druck



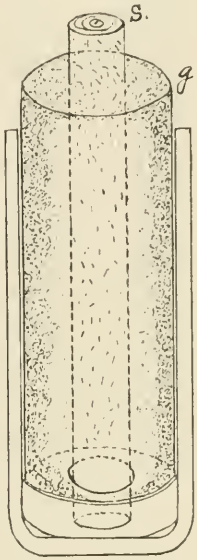
Figur 1.

1) Zuerst bei Experimenten mit Pflanzen angewandt von Pfeffer (Ueber Anwendung des Gipsverbandes für pflanzenphysiologische Studien. 1892).

2) A. Fischer, Ueber den Inhalt der Siebröhren an unverletzten Pflanzen. Ber. d. Deutsch. botan. Gesellsch., 1885, Bd. 3, p. 230.

gewirkt hatte, ist die Infiltration der Stengel mit Wasser ohne weiteres verständlich.

Um die Infiltration mit Wasser zu vermeiden, wurden in einem weiteren Experiment die Stengel vollständig eingegipst. Sie ragten oben und unten etwas aus der dem inneren Durchmesser des Gefässes entsprechenden Form heraus. Diese ruhte auf einer am Boden des Cylinders befindlichen, durchlochten und paraffinirten Holzscheibe, sodass das untere Ende des Stengels frei in das mit Wasser gefüllte Loch hineinragen konnte. Diese in Fig. 2 dargestellte Anordnung war nöthig, da es sich als ganz unmöglich herausstellte, die Stengel der fraglichen Pflanzen in Luft oder in wenig Wasser auf irgend eine andere Art zu befestigen. Zuerst wurde der Stengel in der Richtung nach dem Wurzelende centrifugirt, da dieses die hauptsächliche Richtung der Stoffleitung ist. Doch war in Stengeln, welche in der entgegengesetzten Richtung centrifugirt waren, der Inhalt der Siebröhren ebenso vollständig herausgeschleudert. Nach dem Centrifugiren konnte die Gipsform leicht aus dem Glascylinder herausgenommen und zerbrochen werden, wobei die Trennung immer an dem Stengel entlang erfolgte und ihn selber unverletzt liess.

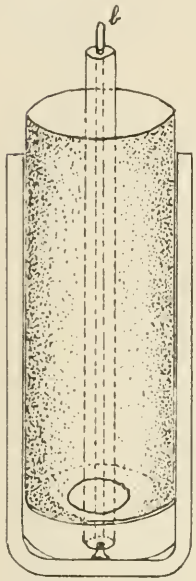


Figur 2.

Wie wiederum Freihand- und Mikrotomschnitte ergaben, war der Inhalt der Siebröhren vollständig herausgeschleudert, in vielen Fällen durch das ganze Stück hindurch. In allen übrigen Zellen war bei diesen beiden Experimenten der Inhalt ebenfalls vollständig verlagert. Schon in einer Stunde hatte die starke Plasmaströmung, die in diesen Zellen vorhanden ist, den Inhalt wieder in die normale Lage zurückgeführt. Diese Plasmaströmung war besonders auffällig und lebhaft in den Knotenzellen.

Bei den jungen Stengeln von *Cucurbita Pepo* wurde dieselbe Anordnung wie in Fig. 2 getroffen. Da diese jungen Stengel hohl sind, wurden die zarten Wände, welche die centrale Höhlung begrenzten, durch die Centrifugalkraft zerrissen und der Inhalt der Zellen herausgeschleudert, sodass in Folge der dadurch herbeigeführten Schrumpfung der Stengel zusammensank, sich von dem

Gips loslöste und durch den Kanal hindurchgepresst wurde. Um das zu verhindern, wurde ein Glasstab, der gerade dick genug war, um die centrale Höhlung bequem auszufüllen, sorgfältig in dieselbe hineingesteckt, bis sein unteres Ende auf der Korkscheibe auf dem Boden des Cylinders ruhte (Fig. 3). Nach dieser Behandlung konnte man sowohl an Freihand- als auch an Mikrotomschnitten ebenso wie an den Objecten der beiden vorhergehenden Experimente constatiren, dass der Inhalt stets vollständig aus den Siebröhren herausgeschleudert war.



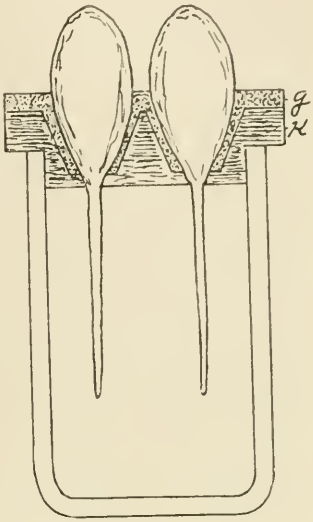
Figur 3.

In derselben Weise wurden auch Sprossspitzen von *Momordica* centrifugirt. Es wurden solche Spitzen ausgewählt, welche wenige kleine Blättchen besassen. Diese wurden in den Glascylindern in umgekehrter Lage befestigt, sodass die Centrifugalkraft nach der Spitze zu wirkte. Es wurde besonders darauf geachtet, dass die Blätter Gelegenheit hatten, sich flach auf den Boden des Cylinders zu legen. Ohne diese Vorsicht brachen sie immer ab und machten das Misslingen des Experimentes unvermeidlich. Bei Anwendung der stärksten Centrifugalkraft wurde gefunden, dass der Inhalt vieler Siebröhren verlagert war, und sehr oft in den Siebröhren nach der Spitze zu sich aufgehäuft hatte. Sowohl bei diesem Experiment als auch bei allen den anderen, die angestellt wurden, war in keinem einzigen Falle zu beobachten, dass die Hautschicht eine Verlagerung zeigte.

Da wir nun gesehen haben, dass die Verlagerung des Inhalts in den Siebröhren möglich ist, wurde die folgende Reihe von Experimenten angestellt:

Samen von *Cucurbita Pepo* wurden in Sägemehl bei 26° C. keimen gelassen, bis sie eine Länge von 3 cm erreicht hatten. Pflänzchen von dieser Länge haben schon vollständig entwickelte Siebröhren und sind widerstandsfähig genug, um die Wucht der Centrifugalkraft ohne grössere Schädigung zu ertragen. Die Sämlinge wurden so in die durch nasses Filtrirpapier feucht gehaltenen Glascylinder hineingesetzt, dass die Wurzeln durch die Löcher des Korkdeckels gesteckt und die Kotyledonen durch daraufgegossenen

Gips fest mit der Korkscheibe verbunden wurden, wie das Fig. 4 zeigt. Auf diese Weise wurden je 4 Keimlinge[1]) in 8 Cylindern befestigt, und es war mithin möglich, 32 zu gleicher Zeit zu centrifugiren. Von diesen 32 Keimlingen waren 16 der Wurzelspitze etwa 5 mm von dem Ende beraubt, um die Siebröhren zu durchschneiden. Centrifugirt wurde 2 Stunden hindurch bei einer Centrifugalkraft von 4400 g. Nachher wurde ein Exemplar mit und ein Exemplar ohne Wurzelspitze wie früher 3 Minuten in siedendem Wasser fixirt. Die übrigen 30 wurden bei 26° C. in Sägemehl gepflanzt. Alle zwei Tage wurde je einer von jeder Sorte entfernt und mit der Hand und dem Mikrotom geschnitten. Der Zweck dieses Experimentes war, zu ermitteln, in welcher Zeit der Inhalt der Siebröhren bei einer Temperatur von 26° C. wiederhergestellt sein würde. Schon die Freihandschnitte, welche unmittelbar nach dem Centrifugiren angefertigt wurden, zeigten, dass der Inhalt der Siebröhren aus dem oberen Theile der Wurzel entfernt war. Doch musste wegen der geringen Grösse der Wurzelspitze von *Cucurbita Pepo* und wegen ihrer ausserordentlichen Weichheit nach der Fixirung in heissem Wasser die Untersuchung dieses Theils ausschliesslich an Mikrotomschnitten gemacht werden.



Figur 4.

Erst nachdem die Pflanzen sechs Tage hindurch gewachsen waren, kehrte unter günstigen Bedingungen der Inhalt in die Siebröhren zurück. Vor und bis zu dieser Zeit war das Wachsthum zweifellos wegen der durch das Centrifugiren hervorgerufenen Benachtheiligung ziemlich verlangsamt, wurde jedoch kurz nachher wieder rascher.

Da der Inhalt der Siebröhren im oberen Theile der Wurzel entfernt war, wurde versucht, festzustellen, ob der Inhalt dieser Zellen nicht in den näher nach der Spitze gelegenen Siebröhren aufgehäuft sei. Es wurden demgemäss Schnitte in dieser Region

1) Fig. 4 stellt einen Längsschnitt durch den Cylinder dar und zeigt demgemäss nur zwei Keimlinge.

gemacht und es wurde gefunden, dass Reihen von Siebröhren auf eine Strecke von in manchen Fällen 12 oder mehr Zellen vollständig dicht mit dem Inhalt der weiter nach oben befindlichen jetzt entleerten Zellen gefüllt waren. Immer liess sich bei obigen Versuchen beobachten, dass diese Anhäufung des Inhaltes in den Siebröhren wieder vollständig verschwand. Die Zeit, welche zur Entfernung dieser Substanzen nöthig war, betrug im Durchschnitt drei Tage. Es ist höchst wahrscheinlich, dass diese Anhäufung des Zellinhalts und die Functionsstörung der Siebröhren die erhebliche Anschwellung verursacht, welche immer an dieser Stelle auftritt. Obwohl der in den Siebröhren aufgesammelte Inhalt in kurzer Zeit wieder entfernt war, so war doch ein Wachsthum von beinahe 30 Tagen nöthig, bevor jene oben erwähnte Anschwellung gänzlich verschwand. In den Geleitzellen war wie in allen anderen Zellen der Wurzel der Inhalt in das centrifugale Zellende geschleudert, kehrte jedoch in drei Stunden vollständig in die normale Lage zurück.

Bei jenen zuerst erwähnten (p. 19), ihrer Spitzen beraubten Wurzeln war, da ja der Inhalt gänzlich aus den Siebröhren herausgeschleudert war, eine längere Zeit zu seiner Neubildung nöthig, denn er wurde erst nach 10 Tagen wieder sichtbar.

Da eine so lange Zeit für die Rückkehr des Inhalts in den Siebröhren erforderlich war, selbst ohne Entfernung der Wurzelspitze und bei ungestörter Assimilationsthätigkeit, so bot sich jetzt die Frage dar, wie lange derselben Behandlung unterworfene *Cucurbita*-Pflanzen zur Restitution ihres Inhalts gebrauchen würden, wenn sie nach dem Centrifugiren in vollkommener Dunkelheit kultivirt wurden. Zu diesem Zweck wurden die Pflanzen nach dem Centrifugiren mit einem Dunkelcylinder bedeckt, und es wurde an jedem dritten Tage ein Exemplar untersucht. Unter diesen Bedingungen kehrte der Inhalt in solchen Siebröhren, in welchen er entfernt war, erst nach 12 Tagen zurück. Es ist somit wiederum wie bei den früheren Experimenten auch hier zu constatiren, dass, wenn die Pflanze oder der Samen sich unter dem Einflusse energischer Stoffwechselvorgänge befindet, die Restitution des Inhalts immer sehr beschleunigt ist.

Theil IV.

Wachsthum.

Eine weitere Aufgabe bestand darin, zu untersuchen, welchen Einfluss eine intensive und lange wirkende Centrifugalkraft auf das Wachsthum kräftiger Keimlinge haben würde.

Als erstes Object für diese Experimente wurden Samen von *Cucurbita* gewählt. Nachdem sie in feuchtem Sägemehl bei 26° C. gekeimt und die Keimlinge eine Länge von 3,5 cm erreicht hatten, wurden 32 von ihnen von der Wurzelspitze ab auf eine Entfernung von 1 cm mit Tuschemarken im Abstand von 0,5 mm versehen. Zwei weitere Marken wurden ausserdem angebracht und bezeichneten das zweite und dritte cm von der Wurzelspitze aus. Diese 32 Keimlinge wurden dann zu je vier in den 8 Cylindern befestigt (Fig. 4, p. 19). Um weiter zu constatiren, welche durchschnittliche Differenz das Wachsthum in verschiedenen Medien zeigen würde, wurden 16 Keimlinge in Wasser und die anderen 16 in durch benetztes Filtrirpapier feucht gehaltener Atmosphäre centrifugirt. 16 andere Pflanzen, welche in derselben Weise gewachsen waren, wurden ähnlich markirt, bei 26° C. in Sägemehl kultivirt und dienten als Controllpflanzen. Ueberdies wurde, um die Bedingungen so gleich wie möglich zu machen, das Zimmer, in welchem sich die Centrifuge befand, auf 26° C. einige Zeit vor Beginn des Versuches erwärmt. Die Blumentöpfe mit den Controllpflanzen wurden ebenfalls in dasselbe Zimmer gebracht. Die Keimlinge wurden dann 3 Stunden hindurch centrifugirt bei ca. 4400 g, dann der Längenzuwachs der Wurzel gemessen und mit dem der Controllpflanze verglichen. In allen Fällen wurde ein Durchschnitt von 12 Pflanzen genommen. Das Resultat zeigt die Tabelle auf p. 24.

Die centrifugirten Pflanzen wurden dann aus dem Gips entfernt und in Sägemehl bei einer Temperatur von 26° C. kultivirt, um zu untersuchen, wie das weitere Wachsthum unter den wiederhergestellten normalen Bedingungen verlief. Die centrifugirten Pflanzen begannen bald wieder zu wachsen, blieben jedoch kürzer und waren weniger kräftig als die nicht centrifugirten. So z. B. hatten die Wurzeln der im Wasser centrifugirten Pflanzen eine durchschnittliche Länge von 5,5 cm in drei Tagen erreicht, während die

nicht centrifugirten unter denselben Bedingungen 12 cm lang geworden waren.

In 20 Tagen hatten sich die in Luft centrifugirten Pflanzen erholt, sie waren jetzt ebenso gross, wie die Controllpflanzen, und maassen beide im Durchschnitt 22 cm. Gleich wie die oben erwähnten in Wasser centrifugirten Pflanzen war die Grössendifferenz anfangs viel bedeutender, da das Wachsthum verlangsamt war. Doch wurde der Unterschied um so weniger deutlich, in dem Maasse, als die Pflanzen heranwuchsen. Die Wurzeln hatten eine gelbliche Farbe angenommen, welche jedoch allmählich verschwand. Der Inhalt war vollkommen verlagert, kehrte jedoch wie vorher innerhalb drei Stunden vollständig zurück. Es ist bemerkenswerth, dass, obwohl die in Luft centrifugirten Pflänzchen ansehnlicher benachtheiligt wurden als die in Wasser centrifugirten, doch ihre Reconvalescenzzeit kürzer und ihr Wachsthum schneller war.

Die in Wasser centrifugirten Kürbispflänzchen schienen sich nicht so wohl zu befinden, denn es dauerte 30 Tage, bis die Folgen dieser Behandlung, die sich in ihrer Grösse und Wachsthumsgeschwindigkeit äusserten, vollständig verschwanden. Wie vorher waren die Wurzeln, soweit sie in das Wasser eingetaucht waren, während des Centrifugirens so mit Wasser injicirt, dass sie durchscheinend waren. Mit der Zeit verschwand dieses Aussehen, doch blieb ziemlich lange die erwähnte gelbe Farbe zurück, die hier viel prononcirter war als an den in Luft centrifugirten Pflanzen. Weiter war ganz deutlich zu bemerken, dass derjenige Theil der Wurzel, der sich unter dem Einflusse des Wasserdruckes befunden hatte, auch eine bemerkenswerthe Einbusse im Dickenwachsthum erlitten hatte. Dies war besonders augenfällig da, wo der Wasserspiegel gewesen war; hier war eine plötzliche und sehr deutliche Abnahme der Dicke bemerklich. Das 2. und 3. cm von der Wurzelspitze aus war während des Centrifugirens nicht gewachsen. Das gesammte Wachsthum war vielmehr auf die Zuwachszone im 1. cm beschränkt, und eine Verlängerung durch die mechanische Zerrung war in keiner Weise eingetreten.

Das zweite Object für diese Experimente war *Pisum sativum*. Wie bei *Cucurbita Pepo* wurden 32 Keimlinge von 3,5 cm Länge auf dieselbe Weise und unter denselben Bedingungen drei Stunden hindurch centrifugirt. Der Erfolg war ähnlich wie oben und ist in der Tabelle auf p. 24 registrirt. Wie bei *Cucurbita* war das

gesammte Wachsthum auf das 1. cm von der Wurzelspitze beschränkt, hier wie dort war eine plötzliche und beträchtliche Abnahme des Durchmessers hervorgerufen, eine Erscheinung, die auch sonst bei Wechsel der Bedingungen vorkommt. Wiederum wurden die Pflänzchen, nachdem sie centrifugirt und gemessen waren, in Sägemehl bei 26° C.[1]) gepflanzt, um die weitere Wirkung auf das Wachsthum zu beobachten. Die Wurzeln der in feuchter Luft centrifugirten Keimlinge begannen sich bald normal weiterzuentwickeln; in 12 Tagen hatte sich jeder Unterschied in Grösse und Stärke zwischen ihnen und den Controllpflanzen verwischt. Wie bei *Cucurbita* war die Schädigung bei den in Wasser centrifugirten Keimlingen grösser und allgemeiner. Gegen die empfindlichere und dem grössten Druck ausgesetzte Wurzelspitze zu wurden überhaupt keine Seitenwurzeln entwickelt. Ihre Anlage war beinahe gänzlich auf diejenige Region der Wurzel beschränkt, welche sich ausserhalb des Wassers befunden hatte, und hier bildeten in den meisten Fällen die Seitenwurzeln einen dichten Knäuel. Bald wurden sie jedoch auch weiter nach unten zu angelegt. In 15 Tagen waren diese Pflanzen ebenso gross als die Controllpflanzen.

Als letztes Beispiel wurden 3 cm lange Keimlinge von *Helianthus annuus* demselben Experiment wie die vorhergehenden Pflanzen unterworfen. Den Einfluss auf das Wachsthum zeigt wiederum die Tabelle auf p. 24. Diese Pflanzen wurden ebenfalls nachher in Sägespähne bei 26° C. gepflanzt, um die Zeit der Reconvalescenz und die Wirkung auf das Wachsthum zu beobachten. Letzteres war hier wiederum stets auf das 1. cm beschränkt. Die in Luft centrifugirten Pflanzen erholten sich rascher und waren in sieben Tagen ebenso gross und kräftig als die Controllsamen, während die im Wasser centrifugirten aus bereits erwähnten Gründen längere Zeit, nämlich neun Tage dazu gebrauchten. Ein Vergleich zeigt, dass sich *Helianthus* stets rascher erholt, sowohl in Luft wie in Wasser, als *Cucurbita* und *Pisum*.

Die Wurzelspitzen aller drei Pflanzen zeigten eine mehr oder weniger deutliche Neigung, sich nach dem Centrifugiren zu krümmen. Ich werde die Beschreibung dieser Erscheinung auf *Helianthus* beschränken.

1) Diese Temperatur liegt nur 0,6° C. unter dem Optimum für *Pisum sativum* (Pfeffer, Pflanzenphys. 1901, II. Aufl., Bd. 2, p. 88).

Sobald die Maschine zum Stillstehen gebracht werden konnte, was etwa 10 Minuten dauerte, war zu bemerken, dass von den 20 in Wasser centrifugirten Keimwurzeln 19 eine Krümmung von beinahe 90° gemacht hatten. Die Richtung dieser Krümmung lief theils mit, theils gegen die Drehung der Trommel. Einige von den Cylindern, welche solche gekrümmten Wurzeln enthielten, wurden einige Stunden zu weiterer Beobachtung beiseite gesetzt. Nach 24 Stunden waren sie noch um beinahe 90° gekrümmt. Bei weiterem Wachsthum der Wurzeln nahm jedoch die Krümmung schnell ab, bis sie schliesslich verschwand. Diese Neigung der Wurzeln, sich auf die erwähnte Weise zu krümmen, kann theilweise wohl auf eine Wundwirkung zurückgeführt werden, besonders da die in Luft centrifugirten, weniger geschädigten Wurzeln eine entsprechend geringere Krümmung aufwiesen. Zum Theil kann sie jedoch durch das Wasser verursacht sein, da bekannt ist, dass Wurzeln in Wasser oft Krümmungen ausführen. In Sägespähnen verschwand diese Krümmung rascher, als wenn die Keimlinge in Wasser gelassen wurden. In allen Zellen dieser drei Pflanzen, deren Wachsthum ich durch die Centrifugalkraft zu beeinflussen versuchte, war der Inhalt, wie schon für *Cucurbita* erwähnt wurde, nach dem centrifugalen Ende geschleudert, kehrte jedoch in Folge der lebhaften Plasmaströmung schon in zwei oder drei Stunden vollständig zurück.

Wenn wir jetzt das Wachsthum dieser drei Keimlinge mit demjenigen der Controllpflanzen vergleichen, so zeigt ein Blick auf die Tabelle, dass es stets verzögert wurde, aber nicht aufhörte.

Durchschnittlicher Zuwachs von 12 Samen während 3 Stunden bei 26° C. in mm	*Cucurbita*	*Pisum*	*Helianthus*
unter normalen Bedingungen	3,5	2,8	2,9
in Luft centrifugirt	2,5	2,2	1,5
in Wasser centrifugirt	2,1	1,5	2,1

Theil V.

Milchsaft.

Um zu sehen, ob eine Trennung des Milchsaftes der Pflanzen und seiner schwereren Bestandtheile überhaupt möglich sei, wurden

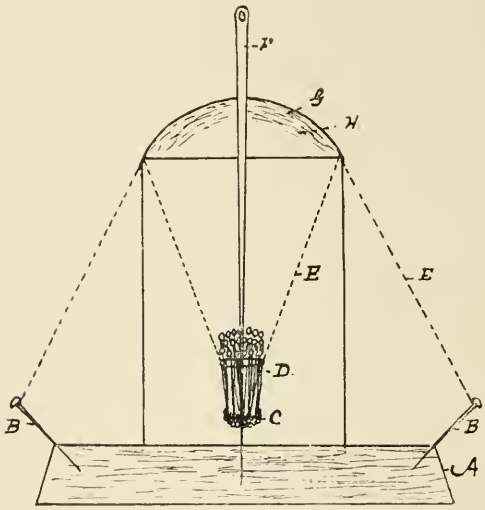
Glascapillaren mit Milchsaft gefüllt und centrifugirt. Die Röhren hatten eine Länge von 4 cm und wurden entweder durch Ansaugen mit dem Munde oder unter der Luftpumpe gefüllt. Das eine Ende der Glasröhren wurde dann vorsichtig in einer Flamme zugeschmolzen, indem dafür Sorge getragen wurde, dass keine Luft eindringen konnte. Zu sechsen wurden dann diese Röhren zwischen Korkplatten gelegt, in welche seichte Rinnen geschnitten waren, diese zwischen zwei Objectträger mittels Gummibändern geklemmt und das Ganze in den Cylinder gesteckt. Die Röhren wurden dann anderthalb Stunden hindurch einer Centrifugalwirkung von ungefähr 4400 g ausgesetzt. Die mikroskopische Untersuchung zeigte, dass eine gewisse Trennung stattgefunden hatte. Denn die schwereren Bestandtheile, wie die Stärkekörner, füllten in einer dichten klumpigen Masse das centrifugale Ende vollständig aus.

Da sich somit die Möglichkeit ergeben hatte, eine Trennung oder Umlagerung der Bestandtheile des Inhalts in diesen dünnen Röhren zu bewirken, wurde zunächst mit kleinen Pflanzen dasselbe Experiment angestellt, und zwar mit Keimpflanzen von *Papaver somniferum* und *Euphorbia Lagascae*.

1. *Papaver somniferum*.

Die Samen dieser Pflanze wurden in feuchtes Sägemehl gesät bei 26° C. Sie begannen nach 72 Stunden zu wachsen und wurden, nachdem die ganze, noch durchsichtige Pflanze eine Länge von 1,25 cm erreicht hatte, centrifugirt. Sie wurden in ihrer Lage wiederum durch Gips festgehalten. Das Eingipsen geschah folgendermassen. Ein kleines Bündel der Pflanzen wurde auf die in Figur 5 angegebene Weise in der Papierform aufgehängt und dann diese mit flüssigem Gips gefüllt. Im Moment, wo letzterer erstarrte, wurde die grosse Nadel herausgezogen und dadurch eine Linie geringerer Festigkeit geschaffen, die den Gipscylinder leicht in der Mitte auseinanderbrechen liess und so die spätere Entfernung der Pflanzen sehr erleichterte. Die Gipsform wurde dann in einem Glascylinder 2 Stunden mit einer Kraft von ca. 4400 g nach der Wurzel zu centrifugirt. Sofort nach Beendigung des Versuches wurde der Gipsblock einige Minuten in siedendes Wasser gelegt und hierdurch eine augenblickliche Fixirung des Inhalts der Pflanzenzellen bewirkt. Dann wurden die Pflanzen durch Zer-

brechen der Form befreit. Zur weiteren Erleichterung des Herausnehmens wurden übrigens auch die Pflänzchen leicht mit Paraffinöl oder Vaseline überzogen. Dies hatte, wenn das Oel nicht zu reichlich angewandt wurde, keinen Einfluss auf das spätere Wachsthum der Pflanzen. Nach der Fixirung wurden die Pflanzen in eine schwache Lösung (3 %) von Kalilauge zur Aufhellung gelegt. Man konnte jetzt unter dem Mikroskop von der Stengel- bis zur Wurzelspitze die Verlagerung des Inhalts ver-



Figur 5.
A = Korkplatte; B = Nadeln; C = Watte; D = Pflanzen; E = Bindfaden; F = Nähnadel; G = Papierform; H = Gyps.

folgen. In allen Zellen war wie gewöhnlich der Inhalt in das centrifugale Ende gedrängt. In den Milchgefässen war deutlich zu sehen, dass der Inhalt durch die ganze Länge der Pflanze in die Wurzel getrieben war und hier eine sehr dichte, körnige Masse bildete. Da es also möglich war, den Milchsaft auf diese Weise zu verlagern, wurden jetzt 50 Pflanzen von *Papaver somniferum* der Wurzelspitze beraubt, so dass die Milchgefässe offen waren, und in der oben beschriebenen Weise eingegipst. Damit der Gips nicht die Schnittflächen verstopfen konnte, wurde etwas Baumwolle in den Cylinder gelegt, in welche die Wurzeln hineinragten. Wenn dann 2 Stunden hindurch wie vorher centrifugirt wurde, war der Milchsaft vollständig aus der Pflanze entfernt, wie sich durch sorg-

fältige Beobachtung feststellen liess. Die aus der Form befreiten Pflanzen wurden jetzt bei 16° C. in Sägemehl gepflanzt, um zu untersuchen, ob und in welcher Zeit der Milchsaft zurückkehrte und wie das Wachsthum beeinflusst wurde. Alle 24 Stunden wurde eine Pflanze in Alkohol fixirt, 2 Stunden in Benzol gelegt und schliesslich in Balsam eingeschlossen. Durch diesen Process wurde die Pflanze vollständig durchsichtig gemacht, sodass auch die geringste Spur Milchsaft bemerklich wurde. Auf diese Weise fand ich, dass innerhalb 7 Tagen der Milchsaft in der ganzen Pflanze bis zu dem normalen Dichtichkeitsgrade zurückgekehrt war. Die verwundeten Wurzelspitzen heilten bald und wurden geschlossen, indem sie rasch eine bräunliche Farbe annahmen. Zum Vergleich wurde das Wachsthum von 12 normalen Pflanzen 7 Tage hindurch beobachtet. Das Resultat zeigt die Tabelle auf dieser Seite.

2. *Euphorbia Lagascae.*

Bei der Kultivirung dieser Pflanzen stellte es sich heraus, dass sich die Wurzeln in Sägemehl sehr schlecht entwickelten und bald zu dick für die Beobachtung wurden. Legte man die Samen jedoch zwischen feuchtes Filtrirpapier in eine feuchte Kammer bei 20° C., so keimten und wuchsen sie rasch. Wenn die Pflanzen 1 cm lang waren, wurden sie genau wie vorher eingegipst und centrifugirt. Nachdem ich mich dann mikroskopisch von der Abwesenheit des Milchsaftes überzeugt hatte, wurden die Pflanzen in Sägemehl bei 20° C. gesetzt und durch dreitägige Beobachtung des Wachsthums die durchschnittlichen Zahlen gewonnen, wie sie die folgende Tabelle zeigt.

Durchschnittlicher Zuwachs
in cm von 12 Pflanzen in 3 Tagen für *Euphorbia Lagascae*
und in 7 Tagen für *Papaver somniferum*.

	Normale Pflanzen	Centrifugirt, Wurzelspitze abgeschnitten	Nicht centrifugirt, Wurzelspitze abgeschnitten	Centrifugirt, Wurzelspitze nicht abgeschnitten
Euphorbia Lagascae . .	4,4	1,5	2	1,8
Papaver somniferum . .	4,6	2,8	3,3	2,9

Nach 3 Tagen war wieder in der ganzen Pflanze Milchsaft vorhanden und lief bei Verwundung heraus. Er kehrte also bei *Euphorbia Lagascae* in weniger als der halben Zeit zurück wie bei *Papaver somniferum*. Bei beiden Pflanzen waren die Exemplare ohne Milchsaft während der Zeit seiner Rückkehr schwächlicher im Aussehen und im Wachsthum (siehe die Tabelle). Nächst ihnen war am meisten das Wachsthum jener Pflanzen gehindert, deren Milchsaft einfach verlagert oder in der Wurzel aufgehäuft war. Dann kamen diejenigen, deren Schädigung nur im Wundreiz bestand, und schliesslich die Controllpflanzen, deren Wachsthum natürlich am schnellsten war.

Eine weitere Aufgabe bestand darin, zu untersuchen, ob sich der Milchsaft ähnlich wie in den Capillaren auch in der Pflanze selbst in seine Bestandtheile zerlegen lasse. Zu diesem Experiment wurden von jeder der folgenden Pflanzen: *Euphorbia splendens*, *Regis Jubae*, *grandidens*, *atropurpurea*, *antiquorum*, *caput Medusae* je 2 Stengelspitzen von 4 cm Länge centrifugirt. Da *Euphorbia splendens* das günstigste und typischste Object ist, werde ich meine Beobachtungen nur von dieser Species mittheilen. Die Milchröhren in dieser Pflanze sind sehr weit und eignen sich in Folge dessen gut für unser Experiment. Wie Molisch[1]) constatirt hat, liegen die Stärkekörner an der Wand des Plasmaschlauches und zwar mit ihrer langen Achse parallel zu der der Milchröhren. Bei Verletzung derselben fliesst der Milchsaft rasch und in grossen Quantitäten aus und führt die Stärkekörner mit sich. Von den zwei Stücken jeder Pflanze wurde eins der Spitze beraubt, um die Milchröhren zu öffnen. Alle wurden dann eingegipst (Fig. 2) und 2 Stunden bei ca. 4400 g centrifugirt. Sofort nachher wurden Längsschnitte gemacht und untersucht.

Wo die Spitze nicht entfernt war, waren an manchen Stellen die Stärkekörner deutlich aufgehäuft, besonders da, wo die Milchröhren eine kurze Strecke gerade verliefen. Eine ebenso schöne Trennung, wie sie in Capillaren zu erreichen ist, war selbstverständlich wegen des unregelmässigen Verlaufs der Milchröhren nicht zu erwarten.

In den Stengeln ohne Spitzen konnte beobachtet werden, dass in den geraden Partien der Milchröhren in der Nähe der Schnitt-

1) Molisch, Studien über den Milchsaft und Schleimsaft der Pflanzen, 1901, p. 115 ff.

fläche die Stärkekörner und der gesammte Inhalt herausgeschleudert war. In den bogigen Theilen jedoch, wo die Centrifugalkraft mehr oder weniger gegen die Zellwand wirkte, war der Inhalt nur unvollständig entleert. Dasselbe Resultat wurde bei den Wurzeln von *Taraxacum* erzielt. Schliesslich wurde die Milch einiger Milchpflanzen in engen einseitig zugeschmolzenen Glasröhrchen eine Stunde lang mit ca. 4400 g centrifugirt. Auf diese Weise konnte eine deutliche Trennung der Bestandtheile erreicht werden. Im centrifugalen Ende des Röhrchens waren stets die Stärkekörner zu finden, die einen weissen Haufen bildeten. Dann kam das Wasser, welches nach dem centrifugalen Ende zu klar war, nach dem anderen Ende jedoch allmählich trüber und trüber wurde und schliesslich in den milchigen Theil des Milchsaftes überging, der stets den grössten Theil der centrifugirten Masse ausmachte. Ganz oben am centripetalen Ende des Röhrchen war das Oel des Milchsafts zu finden, welches sich nach Anwendung von Osmiumsäure schwärzte [1]).

Wenn wir jetzt die Capacität der Glasröhre, deren Durchmesser gleichmässig ist, berechnen, so sind wir in der Lage, annähernd den procentischen Gehalt des Milchsafts an Stärke anzugeben. Auf diese Weise habe ich in Glasröhrchen, in denen der Milchsaft 5,5 cm hoch stand und deren Durchmesser überall 2 mm betrug, natürlich unter Berücksichtigung des gekrümmten Centrifugalendes der Röhre, folgende Werthe für den Stärkegehalt in den verschiedenen Pflanzen gefunden. In *Euphorbia antiquorum* 2,61 cbmm = 1.52 %; in *Euphorbia regis Jubae* 2,09 cbmm = 1,22 %; in *Euphorbia atropurpurea* 3,14 cbmm = 1,83 %; in *Euphorbia Wulfenii* 2,79 cbmm = 1,62 %; in *Euphorbia splendens* 4,18 cbmm = 2.43 %. Bei den letzten beiden Pflanzen wurde Milchsaft sowohl von der Spitze als von der Basis genommen. Es stellte sich jedoch heraus, das der Stärkegehalt oben und unten vollkommen gleich war.

Man könnte auf diese Weise noch durch eine andere Methode als die, welche Schullerus [2]) gebraucht hat, nachweisen, dass der Stärkegehalt in Euphorbiaceen an Menge während des Aushungerns abnimmt. Gleicherweise könnte der Wechsel im Gehalt zu verschiedenen Jahreszeiten in derselben Pflanze berechnet werden.

1) Molisch, l. c., p. 36.

2) Pfeffer, Pflanzenphysiologie. 1897. 2. Aufl., Bd. I. p. 591.

Wie ich oben sagte, konnte bei *Euphorbia Wulfenii* und *Euphorbia splendens* kein Unterschied im Stärkegehalt in dem oberen und unteren Ende der Pflanze entdeckt werden. Damit ist bewiesen, dass die Stärke gleichmässig im Milchsaft vertheilt ist und nicht etwa, wie man vermuthen könnte, wegen ihres grösseren specifischen Gewichtes herabsinkt. Wenn also ein Wechsel in ihrer Lage vorkommt, so ist dies auf eine Strömung des Milchsaftes, die in intacten Pflanzen oft vorkommt, zurückzuführen[1]). Folgendes von Schwendener[2]) angestellte Experiment zeigt ein ähnliches Verhalten der Stärkekörner in Milchsaft. Wenn er einen Tropfen frischen Milchsaftes zwischen Deckglas und Objectträger brachte und diesen dann vertical hinstellte, so fand er, dass die Stärkekörner nicht sinken, und schreibt dieses dem emulsionsartigen Charakter des Milchsafts zu. Dies Experiment wurde auch durch Molisch[3]) bestätigt. So lange als die Glasröhren, in welchen der Milchsaft centrifugirt war, in verticaler Lage gehalten wurden, trat keine Vermischung der klaren Wasserschicht und der milchigen Flüssigkeit darüber ein, selbst wenn sie mehr als einen Monat lang standen. Wurden die Röhren jedoch nur ein paar Minuten horizontal gelegt, so wurde die Wasserschicht sofort trübe, weil sie sich rasch mit der milchigen Flüssigkeit wieder vermischte.

Zum Vergleich wurden Röhrchen von derselben Grösse und Capacität mit gewöhnlicher frischer Milch gefüllt und centrifugirt. Das Caseïn der Milch war wie die Stärke wegen seines grösseren specifischen Gewichtes in das centrifugale Ende geschleudert. Der Gehalt der Milch an Caseïn belief sich auf 5,5 %, ist also mehr als zweimal so gross als der an Stärke im günstigsten Falle im pflanzlichen Milchsaft ist. Das Caseïn ging allmählich in eine klare Wasserschicht über, ganz oben war der Rahm oder der ölige Theil der Milch, der mit Osmiumsäure sich tief schwärzte und ungefähr 4,1 % der ganzen Masse betrug. Dieses stimmt ungefähr mit der Angabe Dammar's[4]) überein, welcher 4,3 % Fett in der Milch angiebt.

1) Pfeffer, Pflanzenphysiologie, 1897, 2. Aufl., Bd. I, p. 594.

2) Schwendener, Botanische Mittheilungen, 1898, Bd. II, p. 100.

3) Molisch, l. c., p. 80.

4) Dammar, Chemisches Handwörterbuch, 1876, p. 187.

Theil VI.

Krystalle.

Theile von krystallführenden Pflanzen wie *Agave americana* und *Tradescantia fluminensis* wurden centrifugirt, um zu sehen, ob es möglich war, die grossen nadelartigen Krystalle oder Raphiden durch die Wand der Krystallzellen zu schleudern.

Agave americana.

Die Krystalle von *Agave americana* sind die grössten und eignen sich deswegen am besten für unsern Zweck. Bekanntlich kommen zwei Krystallarten in den Blättern dieser Pflanze vor, nämlich grosse Raphidenbündel und besonders grosse Einzelkrystalle. Alle liegen im Mesophyll des Blattes. Aus dem dickeren Theil des Blattes wurden 1 cm hohe und 2 cm breite runde Scheiben geschnitten, die genau in die Glascylinder hineinpassten. Nach 2stündigem Centrifugiren bei ca. 4400 g stellte es sich heraus, dass es selbst unter diesen Bedingungen nicht möglich war, die Krystalle durch die Zellwand zu schleudern. Das ganze Raphidenbündel war in allen Fällen nach dem centrifugalen Ende der Zelle geschleudert, und es war deutlich zu sehen, wie die Spitzen die Membran berührten, sie jedoch in keinem Falle durchbohrten. Die Stücke wurden wieder in die Glascylinder gelegt, und von Zeit zu Zeit nachgesehen, ob irgend welche Zellen durch diese Behandlung getödtet waren, besonders die Krystallzellen. Der gesammte Inhalt einschliesslich der Krystalle war nach 24 Stunden so vollkommen in die normale Lage zurückgekehrt, dass keine Spur der Centrifugenwirkung zurückgeblieben war.

Da das Gewicht dieser Krystalle unzureichend ist, um die Zellwand zu durchbohren, wurde eine andere Versuchsanordnung für *Agave americana* getroffen. Im oberen Theil des Glascylinders wurde eine Scheibe wie vorher befestigt, und zwar so weit, dass sie ihre Lage erst dann aufgab, wenn die Maschine ihre volle Kraft entwickelt hatte. Die Scheibe wurde so durch einen plötzlichen Stoss auf den Boden des Cylinders geschleudert. Auf diese Weise konnte wenigstens in einem Falle constatirt werden, dass drei Raphiden durch die Zellwand gedrungen waren (Fig. 9, Taf. I). Die

Zellen, in welche sie hineinragten, waren 24 Stunden nach dem Experiment noch am Leben. Während dieser 24 Stunden war der Inhalt wieder normal angeordnet, nur die eingedrungenen Krystalle waren natürlich nicht zurückgekehrt, weil sie festgehalten wurden. Die unteren Zellen der Scheibe waren zerdrückt und getödtet, die oberen lebten weiter, und in einigen von ihnen war noch nach 7 Tagen Plasmaströmung sichtbar.

Die grossen Krystalle konnten nicht durch die Zellwand getrieben werden, wenngleich in einem Falle ein grosser Krystall die Wand der Nebenzelle eine ziemliche Strecke weit trichterartig eingestülpt hatte. Es ist wahrscheinlich, dass trotz der ausserordentlich hohen Centrifugalkraft jene 3 Raphiden nicht durch ihr eigenes Gewicht allein durch die Wand getrieben wurden, sondern auch durch das der anderen, in welche sie fest eingezwängt waren (Fig. 9, Taf. I), unterstützt wurden.

Um eine ungefähre Vorstellung davon zu gewinnen, welcher Druck eine Nadel in das Gewebe treibt, wurde ein möglichst scharf geschliffenes Nadelstückchen unter besonderen Vorsichtsmassregeln auf ein Stück Gewebe gesetzt und oben mittelst kleiner Gewichte soweit belastet, bis es etwas herabsank. An mikroskopischen Schnitten wurde dann festgestellt, ob es die Zellwände durchbohrt hatte. Es wurde gefunden, dass die Nadel sammt den Gewichten ca. 4 mg wiegen musste, bis sie die Membran durchdringen konnte.

Eine einzelne Raphide wiegt ungefähr 0,0000038 mg, übt also während des Centrifugirens einen Druck von ca. 0,016 mg aus; die entsprechenden Werthe für die grossen Einzelkrystalle sind ca. 0,00055 mg und 2,5 mg.

Bei *Tradescantia fluminensis* wurden die Raphiden ebenfalls in das centrifugale Zellende geschleudert, durchbohrten jedoch die Membran nicht. Kurze Zeit nach dem Centrifugiren waren sie wieder in ihre normale Lage zurückgekehrt.

Theil VII.

Vaucheria.

In besonderem Hinblick auf das Oel, welches oft sehr reichlich in einigen Species von *Vaucheria* vorhanden ist, wurde auch dieses Object in den Kreis meiner Untersuchungen gezogen.

Um Exemplare von geeigneter Grösse zum Centrifugiren zu erhalten, wurden die Pflänzchen aus Schwärmsporen gezogen, die man jederzeit leicht nach Klebs'[1]) Methode durch Verdunkeln erhalten kann. Wenn diese eine Länge von 1 cm erreicht hatten, wurden sie auf dem Objectträger in derselben Weise befestigt, wie es bereits von Mottier[2]) für *Cladophora* angegeben ist. Diese Methode der Fixirung ist deswegen besonders zweckmässig, weil die Algen zu jeder Zeit beobachtet werden können, ohne sie irgendwie zu stören. Die Höhe der Centrifugalkraft betrug wieder ca. 4400 g.

Nach zweistündiger Einwirkung waren alle beweglichen schweren Bestandtheile in das centrifugale Ende der Schläuche getrieben. In dem äussersten Ende war eine geringe Menge von beinahe durchsichtigen, farblosen Körperchen sichtbar, welche sich, da sie von Salzsäure ohne Aufbrausen gelöst wurden, als Calciumoxalat[3]) herausstellten.

Dann folgte eine dichte verworrene Masse von Chlorophyllkörnern, in der hier und da noch einige Krystalle von Calciumoxalat lagen, welche durch die Dichtigkeit der ganzen Chlorophyllmasse zurückgehalten wurden.

Das centripetale Ende des Fadens war ganz klar; nach dieser Richtung hatte sich das Oel bewegt und sich sehr reichlich eine Strecke weit hinter dem Chlorophyll angesammelt. Auch hier kamen oft vereinzelte Tropfen im Chlorophyll vor, die festgehalten und an ihrer Bewegung gehindert worden waren.

Nach ein paar Stunden machte sich in den unverletzten Fäden eine deutliche Rückwärtsbewegung der Inhaltsbestandtheile bemerklich. Fast in allen Fällen trat, und zwar unter günstigen Bedingungen innerhalb vier Tagen, vollkommene Wiederumlagerung ein. Die Oeltropfen waren dann ganz wie vorher durch die Zelle vertheilt. Wenn die Sporen, aus denen sich die Fäden entwickelt hatten, von dem Gips freigelassen waren, wurden sie, falls die aus ihnen hervorgegangenen Fäden lang genug waren, um den ganzen Inhalt bequem aufzunehmen, vollständig entleert und blieben als durchsichtige Kugeln zurück.

---

1) Klebs, Die Bedingungen der Fortpflanzung bei einigen Algen und Pilzen. 1896, p. 19.

2) l. c., p. 327.

3) Poulsen, Botanical Micro-chemistry, 1886, p. 96.

In anderen Fällen lagen einzelne Fäden eine Strecke weit rechtwinklig zur Richtung der Centrifugalkraft, wobei natürlich der Inhalt gegen die Längswand gepresst wurde. Unter diesen Umständen gebrauchte die Rückwanderung eine etwas geringere Zeit, da sich die einzelnen Substanzen in Folge ihrer grösseren Berührungsfläche leichter wieder mischen konnten.

Theil VIII.

Lebermoose.

Das Vorhandensein der sogenannten Oelkörper[1]) in den Lebermoosen gab Veranlassung, auch mit diesen Pflanzen zu experimentieren, und zwar wurden *Jungermannia albicans*, *Jungermannia barbata*, *Trichocolea tomentella*, *Lophocolea bidentata*, *Mastigobryum trilobatum*, *Lepidozia reptans*, *Plagiochila asplenioïdes*, *Catypogeia trichomanis* und *Radula complanata* benutzt. Ueberall, wo Oelkörper vorhanden sind, ist ihre Zahl nicht gross und ihr Aussehen in einzelnen Fällen verschieden (Fig. 6 u. 7, Taf. I).

Kräftige Exemplare wurden ähnlich wie bei *Vaucheria* (p. 33) auf dem Objectträger befestigt und 2 Stunden lang bei ca. 4400 g centrifugirt, und zwar so, dass die Centrifugalkraft möglichst in der Richtung der langen Achse der meisten Zellen wirkte. Die Beobachtung zeigte, dass die Oelkörper stets in das centrifugale Zellende geschleudert waren (Fig. 6 u. 7, Taf. I). Alle Oelkörper färbten sich mit Osmiumsäure schwarz und zeigten dadurch den Gehalt von Oel an. Ihre durch das Centrifugiren bewirkte Lage weist jedoch noch auf eine andere specifisch schwerere Substanz hin. Dieses stimmt mit den Resultaten Pfeffer's[2]) überein, der zuerst gezeigt hat, dass diese Körper hauptsächlich, aber nicht ausschliesslich aus fettem Oel bestehen, und dass dieses in eine Hülle einer eiweissartigen Substanz[3]) eingeschlossen ist. Dieses stimmt gut mit der oben constatirten Thatsache überein, dass das Proteïn stets nach dem centrifugalen Ende geschleudert wird. Die Lage der Oelkörper nach dem Centrifugiren ist somit leicht verständlich.

---

1) Pfeffer, Die Oelkörper der Lebermoose. Flora, 1874. p. 2.

2) l. c., p. 2.

3) l. c., p. 21.

Weiter wurde auch ein Versuch gemacht, Oel und Proteïn mit 2 bis 3 Theilen mit Wasser verdünnten Alkohols nach den Angaben Pfeffer's[3]) zu trennen. Bei dieser Behandlung konnte man winzige Oeltröpchen aus den Oelkörpern ausfliessen sehen, die sich jedoch bald auflösten. Wenn dies nicht der Fall gewesen wäre, würde es auch hier, wie in den öl- und proteïnhaltigen Samen (Theil II), möglich gewesen sein, durch Centrifugalkraft das Oel in das centripetale und die Proteïnhülle in das centrifugale Ende zu bringen. Es ist überraschend, wie fest nach Fixirung mit selbst so schwachem Alhohol die Zellbestandtheile in ihrer Lage gehalten werden; denn es war absolut unmöglich, sie durch die Centrifugalkraft zu bewegen.

Wie auch sonst wurden die Pflanzen durch die Wirkung der Centrifugalkraft nicht getödtet; denn gleich nach dem Experiment war eine deutliche Bewegung in vielen Zellen, besonders längs der Plasmafäden (Fig. 6 u. 7, Taf. I) bemerklich. Es genügten bei 16° C. 36 Stunden zur vollkommenen Wiederumlagerung aller Zellbestandtheile.

Theil IX.

Der Kern.

Die Lage des Kerns nach dem Centrifugiren verdient mit ein paar Worten erörtert zu werden, besonders da einige Meinungsverschiedenheiten in Bezug auf sein specifisches Gewicht zu existiren scheinen.

Alle Kerne der vielen Pflanzen, die ich untersucht habe, wurden, wenn sie nicht auf irgend eine Weise rein mechanisch festgehalten wurden, in das centrifugale Zellende geschleudert.

Während meiner Untersuchungen erschien eine Schrift von Němec[2]), in welcher er die Behauptung aufstellt, dass in den Zellen der Wurzelspitze vieler Pflanzen der Kern vermöge seines geringeren specifischen Gewichtes in das physikalisch obere Ende steigt und sich damit als specifisch leichter als die übrigen Zellbestandtheile erweist.

1) l. c., p. 5.

2) Němec. Ueber die Wahrnehmung des Schwerkraftreizes bei den Pflanzen. Jahrb. f. wiss. Botan., 1901, Bd. XXXVI, p. 106 bis 120.

Um die Richtigkeit dieser Behauptung zu prüfen, habe ich dieselben Pflanzen, die ich vorher studirt hatte, wiederum auf diesen Punkt hin untersucht. Ich wählte einige der Pflanzen, die Němec ebenfalls benutzt hat, nämlich *Brosimum macrocarpum*, *Vicia Faba*, *Phaseolus multiflorus*, *Pisum sativum*, *Cucurbita Pepo* und *Helianthus annuus*.

Schon die Thatsachen, die es wahrscheinlich machen, dass die Lage des Zellkerns in erster Linie von physiologischen Momenten abhängt, liessen mir die Ansicht Němec's von vornherein ziemlich zweifelhaft erscheinen, und ich fand denn auch in der That, dass alle Kerne stets in das centrifugale Zellende geschleudert waren, ihr specifisches Gewicht also grösser war als das der übrigen Bestandtheile. Wäre die Ansicht von Němec richtig, so hätten die Kerne im centripetalen Ende bleiben müssen.

Meine Meinung ist somit die, dass die von Němec behauptete Lage der Zellkerne nicht auf physikalische, sondern auf physiologische Gründe zurückzuführen ist.

Theil X.

Nucleolus.

Bekannt ist, dass man mittelst der Centrifugalkraft den *Nucleolus* aus dem Kerne herausschleudern kann[1]), doch was sein späteres Schicksal ist, blieb unentschieden.

Um das zu untersuchen, befestigte ich Keimlinge von *Zea Mays*, *Vicia Faba*, *Helianthus annuus* und *Cucurbita Pepo*, deren Wurzeln ungefähr 3 cm lang waren, auf die oben angegebene Weise (Fig. 4, Taf. I) in den Cylindern und centrifugirte. Schon an Freihandschnitten konnte festgestellt werden, dass die Nucleolen oft aus den Kernen herausgeschleudert waren. Da dies besonders typisch bei *Cucurbita Pepo* wegen der Grösse und des anscheinend hohen specifischen Gewichtes des Nucleolus der Fall war, werde ich meine Bemerkungen ausschliesslich auf diese Pflanze einschränken.

Ein Theil von centrifugirten Kürbispflänzchen wurde sofort fixirt und zu gefärbten Dauerpräparaten verarbeitet (siehe p. 16); der andere Theil wurde in Sägemehl bei 26° C. gepflanzt, um das

1) Mottier, l. c., p. 354.

Schicksal des herausgeschleuderten Nucleolus zu verfolgen. Alle drei Tage wurde die Wurzel einer Pflanze fixirt, geschnitten und gefärbt.

In beinahe allen etwas in die Länge gestreckten Zellen war der Nucleolus herausgeschleudert und lag als roth gefärbte Kugel im centrifugalen Zellende, während der durch das Plasma festgehaltene Kern etwas weiter nach oben lag. Solange der Nucleolus existirte, näherte er sich nicht wieder dem Kern, sondern blieb in seiner Lage. Schliesslich begann er Anzeichen von Auflösung zu zeigen und nach 27tägigem Wachsthum bei 26° C. war keine Spur mehr von ihm übrig.

Die Abwesenheit des Nucleoles im Kern, in welchem er niemals neugebildet wurde, schien das Wohlbefinden des Kerns nicht zu beeinträchtigen. In allen Fällen blieb letzterer leben. Ich bin leider nicht in der Lage, die interessante Frage zu entscheiden, ob sich Kerne ohne Nucleolus noch theilen können, da es mir nicht gelang, einen nucleoluslosen Kern im Zustande der Theilung anzutreffen.

Es wurde vielfach versucht, den Nucleolus in den Haaren verschiedener Pflanzen, wie z. B. bei *Momordica*, *Cucurbita* und anderen, zu entfernen, doch war dies stets unmöglich.

Theil XI.

Chromatophoren.

Da die Chlorophyllkörner stets in das centrifugale Zellende geschleudert wurden, war es auch erwünscht, zu untersuchen, ob die Chromatophoren sich ähnlich verhielten. Unter einer grossen Anzahl von Pflanzen bewegten sich die Chromatophoren in das centripetale Ende bei ca. 4400 g nur bei einer einzigen, nämlich bei *Caltha palustris*. Ungeöffnete Knospen wurden einfach in Glasröhren eingegipst. Die Stärke in den Schliesszellen gab durch ihre Lage nach dem Centrifugiren die Richtung der Centrifugalkraft in den kleinen Blüthenblättern an. In den benachbarten Zellen konnte man deutlich sehen, dass die Chromatophoren im centripetalen Ende lagen. Bei allen übrigen Objecten befanden sie sich, wie gesagt, im centrifugalen Zellende.

Theil XII.

Plasmolyse.

Als letztes Experiment wurden die Blätter von *Elodea canadensis* sowie Zwiebeltheile von *Allium* und Stücke der Knollen von *Dahlia* in Chlornatrium- und Zuckerlösung plasmolysirt und centrifugirt. Bei *Elodea* genügte 10 % Zuckerlösung, um die Zellen hinreichend zu plasmolysiren. Dieses Experiment wurde durch die Vermuthung angeregt, dass vielleicht die plasmolysirten Zellen ein geringeres Gewicht als die plasmolysirende Flüssigkeit haben könnten. In allen Fällen jedoch wurden die plasmolysirten Zellen durch die Flüssigkeit hindurch nach dem centrifugalen Ende geschleudert.

Zusammenfassung.

Ueberblicken wir zum Schluss noch einmal den Gang unserer Untersuchung, so lassen sich die hauptsächlichsten Resultate kurz folgendermaassen zusammenfassen.

In centrifugirten Samen sucht der Inhalt in seine normale Lage zurückzukehren, einerlei ob sie am Keimen verhindert werden oder nicht. Im ersten Falle ist die Umlagerung nur unvollständig und dauert ziemlich lange, im letzteren geht sie rascher vor sich und zwar hängt die Schnelligkeit der Rückkehr von der Lebhaftigkeit des Wachsthums ab. Die normale Anordnung der Zellbestandtheile beginnt zuerst in den Zellen des Embryos, setzt sich dann längs der Gefässbündel fort und breitet sich von da weiter aus. Lebhaftes Wachsthum des jungen Keimlings setzt erst dann ein, wenn der normale Zustand wiederhergestellt ist.

In einzelnen Samen setzte die ausserordentlich dichte Füllung der Zellen mit Reservestoffen ihrer Dislocirung einen so grossen mechanischen Widerstand entgegen, dass erst nach theilweiser Entleerung der Zellen durch Wachsthum die angewandte Centrifugalkraft den gewohnten Effect hervorbringen konnte.

Stärke und Proteïnkörner haben ein grösseres specifisches Gewicht als der Zellsaft; das Gleiche gilt für die Oelkörper der Lebermoose, die Chlorophyllkörner und die Chromatophoren, mit Ausnahme derer von *Caltha palustris*, während natürlich das Oel sich immer als der leichteste Zellbestandtheil erwies. Wie zu erwarten

war, hatten die plasmolysirten Zellen ein grösseres specifisches Gewicht als die plasmolysirende Flüssigkeit. Bei allen untersuchten Objecten waren die Kerne stets schwerer als der Zellsaft, sodass ihre gelegentlich beobachtete Lage im oberen Theil einer Zelle nicht auf physikalische Ursachen zurückgeführt werden kann.

Aus den Siebröhren verschiedener Pflanzen konnte der Inhalt durch Centrifugiren ziemlich vollständig herausgeschleudert werden und wurde nach einiger Zeit neugebildet. Die Neubildung ging doppelt so rasch vor sich, wenn die Pflanze im Licht ihre Assimilationsthätigkeit entfalten konnte, als wenn sie im Dunkeln wuchs.

Auch den Milchsaft gelang es durch Centrifugiren zu entfernen. Er wurde ebenso wie der Siebröhreninhalt wiedererzeugt. Gewöhnlich begannen erst die Pflanzen lebhafter zu wachsen. Doch kann man nicht entscheiden, ob das Fehlen des Milchsaftes oder die durch das Centrifugiren bewirkte allgemeine Störung die Wachsthumshemmung verursacht. In kleinen Glasröhrchen centrifugirter Milchsaft konnte leicht in seine Hauptbestandtheile zerlegt und die Menge der Stärke annähernd bestimmt werden.

Obwohl das Wachsthum junger Keimlinge während des Centrifugirens verzögert wurde, blieb es doch nie vollkommen still stehen. Die Nachwirkung äusserte sich in langsamerem Wachsthum noch ziemlich lange Zeit, verwischte sich jedoch schliesslich ganz.

Von besonderem Interesse ist es schliesslich, dass der Kern lange ohne Nucleolus existiren kann und dass dieser nicht neugebildet wird. Wichtiger würde es freilich sein, wenn es festzustellen gelänge, ob sich ein solcher nucleolusloser Kern noch theilen kann. Leider konnte hierüber nichts Sicheres mitgetheilt werden.

Schliesslich ist es mir ein Vergnügen, Herrn Prof. Pfeffer für die stete Freundlichkeit und die gütige Kritik, deren ich mich während meiner Arbeit zu erfreuen hatte, meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Figuren-Erklärung.

Tafel I.

Der Pfeil giebt in jeder Zeichnung die Richtung an, in welcher die Centrifugalkraft auf die Zelle gewirkt hatte. Mit Ausnahme der Figur 9, welche 250 mal vergrössert ist, sind alle Zeichnungen 700 mal vergrössert.

Fig. 1. Zelle aus dem Endosperm von *Ricinus communis*. Wie in Fig. 2 und 3 sind die heller gehaltenen Körper die Proteïnkörner, die dunkle Masse ist das Oel.

Fig. 2. Zelle aus dem Kotyledo von *Cucurbita Pepo*.

Fig. 3. Zelle aus dem Kotyledo von *Helianthus annuus*.

Fig. 4. Zelle aus dem Kotyledo von *Pisum sativum*.

Fig. 5. Zelle aus dem Kotyledo von *Phaseolus multiflorus*.

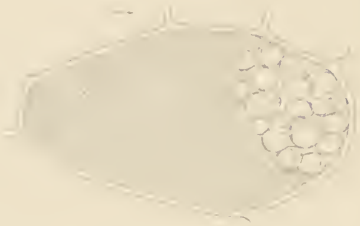
Fig. 6 und 7. Zellen aus dem Blatte der Lebermoose *Calypogeia trichomanis* und *Plagiochila asplenioïdes*. Sie zeigen die Chlorophyllkörner und die Oelkörper im centrifugalen Zellende.

Fig. 8 zeigt eine Zelle aus dem Kotyledo von *Phaseolus multiflorus*, die nach zehntägigem Wachsthum centrifugirt wurde. Die oft beobachtbare, netzartige Structur des Plasmas ist hier besonders gut zu sehen.

Fig. 9. Drei Raphiden von *Agave americana* sind durch die Centrifugalkraft durch die Zellwand getrieben.

Fig. 10. Ein grosser Einzelkrystall derselben Pflanze hat die Zellwand während des Centrifugirens trichterartig eingetrieben.

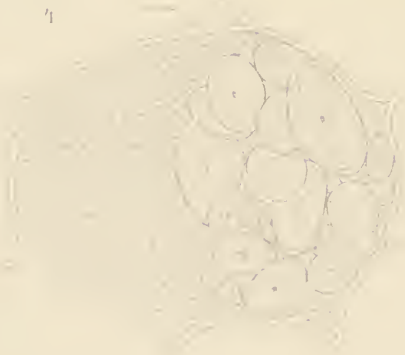
1.



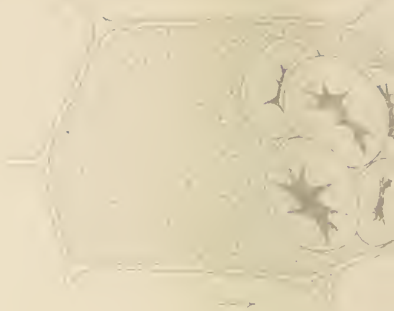
2

3.

4



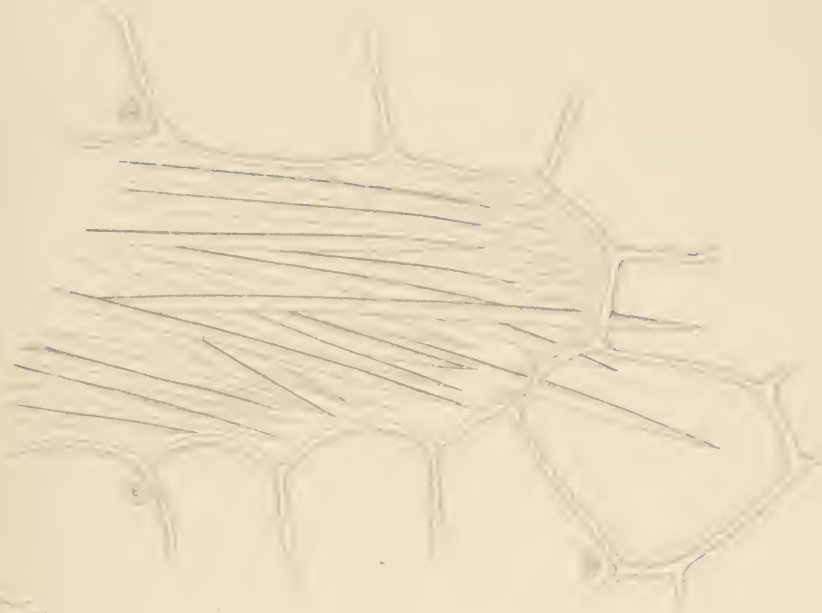
5



8.

6.

9



10

7.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik

Jahr/Year: 1903

Band/Volume: 38

Autor(en)/Author(s): Andrews F. M.

Artikel/Article: Die Wirkung der Centrifugalkraft auf Pflanzen. 1-40