

MITTHEILUNGEN UND ABHANDLUNGEN.

Über einige neue mikroskopisch-chemische Reactionsmethoden.

Von **Dr. Julius Sachs.**

(Mit 2 Tafeln.)

(Vorgelegt in der Sitzung vom 4. November 1858.)

I.

Kupfervitriol und Kali als mikrochemisches Reagens.

Die Thatsache, dass Gummi, Dextrin, Rohrzucker, Traubenzucker, wenn man sie nach der Trommer'schen Methode behandelt, sehr auffällige, charakteristische Farbenreactionen und Niederschläge zeigen, dass ferner, wie von Piotrowsky und Čermák gezeigt wurde, die verschiedensten Eiweissstoffe, ebenso behandelt, sämtlich dieselbe charakteristische Färbung hervorrufen, das liess in mir den lebhaften Wunsch entstehen, das CuOSO_3 und KO als Reagens auf die in den Zellen enthaltenen Säfte anzuwenden; denn es zeigte sich hier die verlockende Aussicht, durch eine einzige Reaction zugleich eine ganze Reihe der wichtigsten Stoffe in ihrer natürlichen Anordnung innerhalb der Pflanzengewebe nachweisen zu können.

Ich habe mich durch vielfach wiederholte und auf verschiedene Weise angestellte Versuche davon überzeugt, dass Kupfervitriol und Kali in der That geeignet sind, innerhalb der Zellen, Reactionen hervorzurufen, wodurch Dextrin und Traubenzucker, Gummi, Rohrzucker, Eiweissstoffe und gewisse Modificationen der Cellulose erkannt und unterschieden werden können, und dass häufig mehrere dieser Reactionen zugleich in verschiedenen Zellen eines und desselben Längs- oder Querschnittes von Pflanzentheilen auftraten, wenn

man dieselben in geeigneter Weise mit Lösungen von CuOSO_3 und KO behandelt. Man hat demnach ein Mittel, die Vertheilung dieser Stoffe innerhalb der Pflanze in jedem beliebigen Stadium auf ebenso wohlfeile, als zeitsparende Weise kennen zu lernen, ihr erstes Auftreten und ihr Verschwinden in gewissen Theilen zu studiren, mithin die topologisch - anatomischen Ergänzungen zu den Analysen der Chemiker zu liefern.

Es ist natürlich, dass, wenn man ein Reactionsverfahren, welches zunächst nur für in Reagensgläsern aufgelöste, unvermischte Stoffe gilt, auf die in den unverletzten Zellen selbst enthaltenen Säfte in Anwendung bringen will, dass dann auf diejenigen Umstände Rücksicht zu nehmen ist, unter welchen die Reagentien auf die Zellsäfte einwirken müssen. Vor Allem ist zu bedenken, dass die in den Zellen enthaltenen Lösungen von Dextrin, Zucker u. s. w. in den seltensten Fällen, vielleicht nie reine Lösungen sein werden, dass vielmehr ein Gemenge von zweien, oder mehreren dieser Stoffe im Zellsaft aufgelöst sein wird. Demnach muss vorerst die Frage entschieden werden, wie CuOSO_3 und KO auf Mischungen von Gummi, Dextrin, Zucker, Eiweiss u. s. w. einwirken? Nicht weniger zu berücksichtigen ist der Umstand, dass die genannten Reagentien nur mit Hilfe der Endosmose auf die Zellsäfte einwirken können; es ist daher zu untersuchen, in welcher Concentration und während wie langer Zeit die fremden Flüssigkeiten auf die in den Zellen enthaltenen einwirken müssen. Ferner kommt hier die Frage in Betracht, wie die in den Reagensgläsern dargestellten Niederschläge und Färbenercheinungen bei starken Vergrösserungen sich ausnehmen.

1. Um das Erste dieser Bedenken zu beseitigen, erlaube ich mir hier etwas genauer auf die Erscheinungen einzugehen, welche CuOSO_3 und KO in den Lösungen der Kohlehydrate und Eiweissstoffe hervorruft, da die hierüber in den Lehrbüchern der Chemie enthaltenen Angaben nicht unsern speciellen Zweck berücksichtigen. Vorher muss ich jedoch bemerken, dass das Trommer'sche Verfahren nicht nur auf die löslichen, sondern auch auf die unlöslichen Kohlehydrate als Reagens angewendet werden kann.

a) Cellulose. Wenn man Stückchen von reinem schwedischen Filtrirpapier einige Zeit in Kupfervitriollösung liegen lässt, dann mit einer Pinette herausnimmt und geschwind einigemal durch reines Wasser schwankt, um die äusserlich anhängende Salzlösung

zu entfernen, so erscheint, selbst wenn die Lösung concentrirt war, das Papier kaum merklich gebläuet. Bringt man es nun in eine starke Kalilösung bei gewöhnlicher Temperatur, so färbt es sich alsbald hellblau. Kocht man das Papier dann im Kali, so nimmt diese Färbung an Intensität ein wenig zu; eine Schwärzung tritt, wenn man gut abgewaschen hatte, nicht ein, zum Zeichen, dass die durch kaltes Kali hervorgerufene Bläuung nicht von ausgeschiedenem CuOH herrührt, welches beim Kochen in schwarzes CuO übergeführt werden müsste. Ich werde weiter unten eine Reihe von Fällen anführen, aus denen klar hervorgeht, dass auch die aus reiner Cellulose bestehenden Zellhäute an Quer- und Längsschnitten aus lebendigen Pflanzentheilen, mit CuOSO_3 und KO behandelt, eine deutliche, schön hellblaue Färbung zeigen, welche so intensiv ist, dass sie bei einer dreihundertmaligen Vergrößerung an sehr dünnen Schnitten noch sehr deutlich zu erkennen ist. Solche Zellhäute dagegen, deren Zellstoff mit fremden Substanzen verunreinigt ist, zeigen diese Bläuung nicht, häufig werden sie bei der angegebenen Behandlung deutlich hellgelb. Auch dafür werde ich weiter unten Beispiele anführen.

b) Stärke. Wenn man Stärke mit viel Wasser kocht, bis es eine klare Flüssigkeit gibt, und dann einige Tropfen CuOSO_3 Lösung zusetzt, so erscheint die Flüssigkeit kaum merklich blau. Setzt man alsdann eine hinreichende Menge Kalilösung hinzu, so entsteht ein intensiv und schön blau gefärbter flockiger Niederschlag, welcher beim Kochen in der alkalischen Flüssigkeit sich in grössere Klumpen zusammenballt. Diese Reaction hat mit der des Gummi die grösste Ähnlichkeit, und wenn man Pflanzenschnitte mit CuOSO_3 und KO behandelt, so könnte man leicht einen, in gewissen Zellen enthaltenen wolkigen hellblauen Niederschlag für Gummi halten, während es Stärke ist. Indessen kann man darüber nicht zweifelhaft bleiben. Versetzt man nämlich den in der alkalischen Flüssigkeit enthaltenen Niederschlag mit Säure, am besten Essigsäure, um das Kali zu neutralisiren, und fügt dann Jodlösung hinzu, so quellen die zusammengeballten Flecken auf und nehmen die tiefe violetblaue Färbung der Jodstücke an. Dasselbe lässt sich innerhalb der Zellen wiederholen.

c) Gummi, in der bei der Stärke angegebenen Art behandelt, gibt einen ähnlichen klumpigen, hellblauen Niederschlag, der sich beim Kochen in der alkalischen Flüssigkeit weder schwärzt noch auflöst.

d) Dextrin, mit CuOSO_3 und dann mit kaltem KO im Überschuss versetzt, gibt eine blaue Flüssigkeit. In dem käuflichen Dextrin welches ich untersuchte, findet sich noch unveränderte Stärke, welche dann in der blauen Flüssigkeit Flocken bildet. Bei dem Erwärmen der alkalischen Flüssigkeit steigen zuerst gelbliche Wolken auf, die dann orange, endlich roth werden; bei dem Kochen wird so das ganze CuO zu Cu_2O reducirt, welches sich beim längeren Stehen unten als ziegelrothes Pulver absetzt, während die Flüssigkeit farblos wird. Das niedergeschlagene Cu_2O erscheint unter einer 300maligen Vergrößerung als kleine, rundliche, vereinzelte Körnchen, welche eine lebhafte Brown'sche Bewegung zeigen. Diese Kleinheit der Körnchen bedingt es, dass sich der Niederschlag erst nach Stunden aus der Flüssigkeit ganz absetzt.

e) Traubenzucker, ebenso behandelt, gibt eine in der Kälte sehr schöne blaue Flüssigkeit, ohne den geringsten Stich in's Rothe, also ein kaltes, reines Blau. Schon vor dem Kochen tritt hier eine reichliche Ausscheidung von reducirtem Cu_2O mit prächtig gelbrother Farbe auf. Unter dem Mikroskop erscheint dieser Niederschlag dem des Dextrins ähnlich, jedoch sind die Körnchen grösser und in unzählige grössere Flocken versammelt, welches bei dem Dextrin nicht stattfindet. Die Körnchen sind öfter zu gross, um Brown'sche Bewegung zu zeigen. Die Flockenbildung macht, dass man hier schon mit blossem Auge, rothe Körnchen in der Flüssigkeit hinabsinken sieht; und dass sich der Niederschlag viel eher ganz absetzt, ist ein weiterer Beweis, dass die Körnchen des Cu_2O bei dem Traubenzucker grösser sind als bei dem Dextrin.

f) Rohrzucker. Die blaue Flüssigkeit ist von der des Traubenzuckers in der Farbe kaum zu unterscheiden; sie ist ebenfalls kalt blau; bei dem Kochen findet lange keine Reduction von Cu_2O Statt; für unsern Zweck ist diese erst nach sehr langem Kochen eintretende Reduction nicht zu benützen. Dagegen ist die durch CuOSO_3 und KO bei gewöhnlicher Temperatur erscheinende blaue Färbung von Wichtigkeit, da sie auch in ziemlich dünnen Schichten noch deutlich wahrzunehmen ist, was zusammengehalten mit dem Umstand, dass bei kurzem Kochen kein Niederschlag erfolgt, als charakteristisches Kennzeichen für die Gegenwart des Rohrzuckers zu betrachten ist.

g) Die Eiweissstoffe geben alle eine und dieselbe violette Färbung, wenn sie mit CuOSO_3 und KO behandelt werden; auch bei sehr langem fortgesetzten Kochen findet kaum eine merkliche Reduction von Cu_2O Statt. Hühnereiweiss, Käse, Lagumin und Kleber aus den Körnern des Mais gaben ganz gleichgefärbte Flüssigkeiten, welche sich nach zweimonatlichem Stehen nicht verändert hatten. Die Färbung dieser Flüssigkeiten ist dadurch besonders charakterisirt, dass sie im auffallenden Lichte gleichförmig dunkelviolett erscheinen, im durchfallenden dagegen aus dem Violeten in das Weinrothe spielen; sie hat die unschätzbare Eigenschaft, auch in sehr dünnen Schichten, und in sehr verdünntem Zustand noch deutlich erkennbar zu sein. Eine Verwechslung dieser Färbung mit der des Rohrzuckers ist geradezu unmöglich, mit der des Traubenzuckers und Dextrins, welche bei dem Kochen Niederschläge geben, eben so wenig. Die Färbung dünner Schichten dieser violetten Flüssigkeit macht es möglich, auch an sehr dünnen Schnitten, und bei starken Vergrößerungen innerhalb der Zellen noch Eiweissstoffe nachzuweisen.

Das Jod ist zwar ein sehr leicht zu brauchendes Reagens auf Eiweissstoffe unter dem Mikroskop, es hat aber leider die unangenehme Eigenschaft, auch solche Stoffe gelb zu färben, welche keine Eiweissstoffe sind. Zellhäute, welche mit Jod gelb werden, müssten, wenn sie mit einem eiweissartigen Stoff durchtränkt wären, mit CuOSO_3 und KO violett werden, was durchaus nicht der Fall ist. Alle Stoffe, soweit ich die Sache bis jetzt kenne, welche mit CuOSO_3 und KO violette Flüssigkeiten geben, werden auch mit Jod gelb, aber nicht Alles, was mit Jod gelb wird, gibt mit CuOSO_3 und KO violette Flüssigkeiten. Demnach ist dieses ein besseres Reagens auf Eiweissstoffe als das Jod. Vor der Reaction mit Zucker und Schwefelsäure hat die mit CuOSO_3 und KO grosse Vorzüge. Einmal ist die violette Färbung mit unserem Reagens sehr leicht und sicher zu erzielen, während die Röthung mit Zucker und SO_2 häufig misslingt. Andererseits werden durch die Schwefelsäure Gasblasen entwickelt, die Zellhäute zerstört u. s. w., was Alles für den Beobachter mit Unannehmlichkeiten verbunden ist.

h) Über die Art und Weise, wie die Färbungen und Niederschläge in Gemengen der verschiedenen Kohlehydrate und Eiweissstoffe, zu je zweien, dreien und vierten stattfinden, habe ich vielfältige Versuche gemacht. Die Resultate derselben sind folgende :

Gummi und Stärke geben in allen Gemengen bei gewöhnlicher Temperatur wie bei dem Kochen ihren hellblauen flockigen Niederschlag.

Dextrin und Traubenzucker veranlassen in jeder Mischung mit den Andern Reduction von Cu_2O .

In Gemengen, welche wenig Dextrin und viel Rohrzucker oder Eiweiss enthalten, findet bei dem Kochen ein rother Niederschlag von Cu_2O Statt, während die überstehende Flüssigkeit blau (Rohrzucker) oder violet (Eiweissstoffe) bleibt. Dagegen wird in jedem Gemenge, welches Traubenzucker enthält, durch kurzes Kochen ein reichlicher rother Niederschlag erhalten, während die blaue oder violette Flüssigkeit farblos oder gelblicher wird; der Traubenzucker zieht also die mit ihm gemengten Stoffe (Rohrzucker, Eiweiss) mit in seine Zersetzung.

Ein Gemenge aus Rohrzucker und Eiweiss reducirt nach kurzem Kochen Cu_2O , jedoch wird die Flüssigkeit nicht farblos; Rohrzucker und Eiweiss, jedes für sich reduciren in derselben Zeit kein Cu_2O .

Jedes Gemenge von Dextrin, Rohrzucker und Traubenzucker gibt bei gewöhnlicher Temperatur eine rein blaue Flüssigkeit, man mag wenig CuOSO_3 oder bis zur Sättigung hinzufügen, nur die Dunkelheit der Färbung wird durch vermehrten Zusatz von Kupfervitriol-lösung (unterhalb der Sättigungsgrenze) vermehrt.

Dagegen findet in einem beliebigen Gemenge dieser drei Stoffe mit wenig oder viel Eiweissstoffen eine Änderung der Färbung Statt. Nach Zusatz einer kleinen Quantität CuOSO_3 färbt sich die Flüssigkeit violet, als ob der Eiweissstoff allein zugegen wäre; setzt man dann immer mehr Vitriol hinzu, so geht die Färbung immer mehr in das Blaue, zuletzt ist sie rein blau. Die Eiweissstoffe müssen also bei Gegenwart von KO eine grössere Verwandtschaft zu dem CuOSO_3 haben, da sie mit der zuerst zugesetzten Menge desselben allein reagieren. Das endliche Verschwinden der violetten Färbung (eigentlich sollte das Endresultat eine violettblaue Farbe sein) scheint daher zu rühren, dass die rein blaue Flüssigkeit der Kohlehydrate die violetten Strahlen völlig absorbiert, so dass die violette Färbung der Eiweissstoffe optisch vernichtet wird.

Die mikroskopischen Eigenschaften der bei dem Kochen entstehenden Niederschläge von Cu_2O wechseln mit der Art des Gemenges. Ist vorwiegend Traubenzucker zugegen, so ist der Nieder-

schlag meist grosskörnig und die Körnchen zu Flocken vereinigt. Besteht dagegen die Hauptmasse des Gemenges aus Dextrin oder aus Eiweissstoffen, so besteht er aus sehr kleinen und vereinzelt Körnchen. Dieser Unterschied macht sich auch dem unbewaffneten Auge geltend; je grosskörniger nämlich ein Niederschlag ist, desto röther erscheint es, je kleiner die Körnchen sind, desto heller, in das Gelbe spielend. Viel Dextrin und wenig Eiweiss geben einen rein gelben Niederschlag, der aus sehr kleinen und einzelnen Körnchen besteht.

Ich habe in diesen Angaben nur das zusammengefasst, was für die Behandlung von ziemlich dünnen Pflanzenschnitten von einigem Werthe sein kann. Mit Rücksicht auf die unten anzugebende Behandlung solcher Schnitte mit CuOSO_3 und KO , wurden die Lösungen immer mit einem sehr grossen Überschuss von KO versetzt, dagegen die Hinzufügung des Kupfervitriols unter dem möglichen Maximum unterbrochen. Das Kochen wurde so lange fortgesetzt, bis keine merkliche Änderung in der Flüssigkeit mehr eintrat, was bei den angewendeten Quantitäten binnen einer halben Minute geschah.

Wenn man nun die genannten Resultate anwendet auf die bei Pflanzenschnitten statthabenden Modalitäten, so zeigt sich, dass die Gegenwart von Gummi in Zellen durch Mengung mit Dextrin, Rohr- und Traubenzucker und Eiweissstoffe nicht verdeckt wird; dass ein in den Zellen entstehender Niederschlag von Cu_2O jederzeit das Vorhandensein von Dextrin oder Traubenzucker, oder beider zugleich anzeigt, dass man aber nicht immer im Stande ist anzugeben, ob beide, oder welcher von beiden zugegen ist. Zwar gibt Rohrzucker und Eiweiss ebenfalls einen geringen Niederschlag von Cu_2O , jedoch ist derselbe bei kurzem Kochen so unbedeutend, dass er selbst wenn er stattfindet, mit dem reichlichen Niederschlag von Dextrin und Traubenzucker nicht verwechselt werden kann; ferner: die Gegenwart von Eiweissstoffen in den Zellen wird durch Mengung mit Dextrin, Rohr- und Traubenzucker niemals ganz unkenntlich gemacht, wenn man die Quantitäten des in die Zellen eintretenden CuOSO_3 reguliren kann.

Wenn man demnach dem CuOSO_3 mit KO , als Reagens auf die in den Zellen enthaltenen Säfte, einen Vorwurf machen will, so ist es der, dass damit Dextrin und Traubenzucker nicht immer unterschieden werden können. Indessen scheint es mir immerhin ein

Gewinn, nachweisen zu können, dass überhaupt einer dieser beiden Stoffe zugegen ist oder beide zugleich, wenn man auch nicht angeben kann, welcher, und ob beide zugegen sind. Dies ist von desto geringerm Gewicht, als diese beiden Stoffe ohnehin in ihrem chemischen und physikalischen Verhalten einander so nahe stehen.

Bevor ich indessen darauf eingehe zu zeigen, wie Pflanzenschnitte mit CuOSO_3 und KO zweckmässig behandelt werden können, erlaube ich mir noch in einigen Beispielen zu zeigen, wie man aus den auftretenden Reactionen auf die Gegenwart eines oder mehrerer der genannten Stoffe schliessen kann.

Angenommen, man erhielte in den Zellen eines Schnittes der mit CuOSO_3 behandelt wurde, auf Zusatz von KO eine violette Flüssigkeit, so ist dies ohne Weiteres als der Beweis für die Gegenwart von Eiweissstoffen anzusehen, aber es ist damit noch nichts über das Vorhandensein oder Fehlen von Rohrzucker, Dextrin und Traubenzucker entschieden. Man muss zu diesem Zwecke einen eben solchen Schnitt so behandeln, dass eine grössere Quantität des Kupfervitriols in die betreffenden Zellen eintreten kann. Bleibt auch dann nach Einwirkung des KO die Färbung noch rein violet, so bedeutet diess, dass entweder nur Eiweissstoffe vorhanden sind, oder ausserdem noch eine ausserordentlich geringe Menge von einem der genannten Kohlehydrate; denn wäre eines derselben in nur etwas bedeutenderer Menge zugleich mit den Eiweissstoffen zugegen, so müsste bei hinreichendem Kupfervitriol die violette Färbung in reines kaltes Blau übergehen. Nehmen wir an, es wäre dies in einem anderen Falle wirklich geschehen, d. h. es wäre bei Gegenwart von wenig CuOSO_3 eine rein blaue Flüssigkeit in denselben Zellen aufgetreten, so ist damit bewiesen, dass Eiweissstoffe zugleich mit löslichem Kohlehydrate zugegen sind. Die Gegenwart von Dextrin oder Traubenzucker oder beider zugleich, wird in diesem Falle durch Kochen des Schnittes in KO sich zu erkennen geben: entsteht ein lebhaft roth, oder rothgelb gefärbter Niederschlag von Cu_2O in den Zellen, so ist Traubenzucker oder Dextrin, oder beide zugegen; entsteht nach kurzem Kochen kein solcher Niederschlag, so konnte die blaue Färbung nur Rohrzucker bedeuten.

Nehmen wir ferner an, es sei bei jeder beliebigen Quantität von CuOSO_3 in den Zellen durch KO eine blaue Flüssigkeit erzeugt worden, so bedeutet dies, dass entweder gar kein, oder äusserst

wenig Eiweissstoff zugegen sein musste; denn wäre solcher in namhafter Menge vorhanden, so hätte bei Gegenwart von wenig CuOSO_3 eine violete Färbung erscheinen müssen. Wird nun die blaue Flüssigkeit durch das Kochen in KO nicht verändert, oder gar dunkler, so rührt sie allein von Rohrzucker her; erscheint dagegen in den Zellen ein rother oder gelbrother Niederschlag, so bedeutet dies die Gegenwart von Traubenzucker oder Dextrin, oder beider zugleich, wobei jedoch die Gegenwart des Rohrzuckers nicht ausgeschlossen ist. In diesem Falle ist es allerdings unmöglich den Rohrzucker nachzuweisen.

Die hier aufgedeckten Mängel unserer Methode verlieren indessen durch eine merkwürdige Thatsache, von welcher man sich bei Untersuchung vieler Schnitte bald überzeugt, sehr an Gewicht. Es zeigt sich nämlich, dass in einem System von Zellen die verschiedenen Reactionen sich in verschiedenen Gegenden vertheilen; innerhalb jeder Zellgruppe findet eine Reaction so Statt, als ob dort nur Rohrzucker, oder nur Eiweiss, oder nur Dextrin und Traubenzucker zugegen wäre. Es zeigt sich also, dass die Zellen chemisch charakterisirt sind, dass sie einen Stoff, oder einige sehr ähnliche Stoffe in überaus verringender Menge enthalten; dass somit die verschiedenen Stoffe in verschiedene Regionen vertheilt sind.

Auch darf man nicht vergessen, dass Reactionen unter dem Mikroskop die chemische Analyse in keiner Weise überflüssig machen können noch sollen. Die mikrochemische Nachweisung kann sich nur an die schon vorhandenen chemischen Analysen anschliessen, sie topologisch ergänzen, indem sie die schon in einem Pflanzentheile als vorhanden erwiesenen Stoffe nun mit den schon bekannten Reagentien an Ort und Stelle selbst aufsucht.

Insofern es sich um Erreichung dieses Zweckes handelt, wird man mit der hier behandelten Methode selten in Verlegenheit kommen.

2. Sollen Quer- und Längsschnitte mit CuOSO_3 und KO geprüft werden, so ist das Verfahren etwas abweichend, je nachdem man auf die Zellhäute oder auf die flüssigen Zellinhalte reagiren will. In beiden Fällen ist es dienlich, eine grössere Menge von Schnitten aus demselben Pflanzentheile zu machen, und zwar von sehr verschiedener Dicke. Wenn es sich um Reaction auf Zellhäute handelt, so können die dünnsten Schnitte dünner sein, als eine Zellenlänge oder Zellendicke, so dass der Zellinhalt austritt, was natürlich bei der

Untersuchung auf Zellsäfte nicht stattfinden darf. Im ersteren Falle müssen die Schnitte in der Kupfervitriollösung längere Zeit, einige Stunden, zuweilen einen Tag liegen bleiben, bevor eine hinreichende Menge des Kupfersalzes in die Zellhäute eingedrungen ist. Zu diesem Zwecke sind concentrirtere Lösungen geeigneter, als verdünnte, sie veranlassen in kürzerer Zeit auffallendere Färbungen. Man nimmt die Schnitte alsdann aus der Flüssigkeit und legt sie einige Secunden lang in reines Wasser, um das äusserlich anhängende Salz abzuspielen. Es ist zu diesem Zwecke durchaus nöthig, die Schnitte in eine grössere Wassermasse zu bringen, nicht etwa blos durch einen Tropfen auf dem Objectglas zu reinigen. Wo es sich thun lässt, ist es am besten, den Schnitt mit der Pincette zu fassen und in reinem Wasser einigemal hin und her zu schwanken. Alsdann bringt man sie in starke Kalilösung, wo nach kurzer Zeit die Bläuung an gewissen Stellen der Gewebe auftritt, während andere farblos bleiben oder gelb wurden. In einem Tropfen der alkaligen Flüssigkeit liegend, kann der Schnitt sogleich mit der Loupe und dem Compositum untersucht werden. Es ist zweckmässig, sobald dies geschehen ist, den Schnitt noch einmal in ein kleines Porcellainschälchen mit Kalilösung zu bringen und darin einige Secunden kochen zu lassen. Die Färbungen treten dann meist intensiv hervor oder sie erscheinen überhaupt erst jetzt. Zugleich gewinnt man erst beim Kochen die Überzeugung, dass die Bläuung nicht durch ausgeschiedenes CuOSO_3 erzeugt wurde, denn dieses müsste dann in schwarzen CuO übergehen. Wo eine solche Schwärzung eintritt, da hat man nicht rein abgewaschen. Übrigens findet dieser schwarze Niederschlag von CuO immer dann Statt, wenn unverletzte Zellen längere Zeit in CuOSO_3 gelegen haben, so dass sie sich mit überschüssigem Kupfervitriol füllen konnten. Eben dieser Umstand macht es nöthig, zur Untersuchung der Zellhäute und Zellinhalte verschiedene Schnitte zu nehmen. Denn wenn es darauf ankommt, die Zellinhalte kennen zu lernen, so dürfen die Schnitte nicht so lange in der Vitriollösung liegen bleiben. Die Zellinhalte würden in diesem Falle durch Exosmose austreten, und so viel CuOSO_3 eindringen, dass dann bei dem Kochen in KO sich schwarzes CuO niederschlägt. Eine bestimmte Dauer des Liegens in der Kupfervitriollösung lässt sich nicht angeben; nur so viel lässt sich sagen, dass je dünner ein Schnitt ist, eine desto kürzere Zeit hinreicht, um das nöthige Salz eindringen zu lassen. Wenn man

daher zuerst eine grössere Anzahl von verschieden dicken Schnitten gemacht hat, so kann man die weitere Untersuchung mit den dünnsten beginnen, und dann immer dickere aus der Vitriollösung nehmen. Da eine solche Untersuchung ohnehin Stunden in Anspruch nimmt, so werden unterdessen die dicksten Schnitte hinreichendes Salz aufgenommen haben. Die Dicke der Schnitte richtet sich immer nach dem Durchmesser der Zellen und der Concentration der Zellsäfte. Bemerkt man in den Zellen durch eine vorläufige Untersuchung intensive Farbenercheinungen und starke Niederschläge, so ist es zweckmässig dünnere Schnitte zu untersuchen, weil dadurch die Arbeit schneller von Statten geht und die Anwendung der starken Vergrösserungen erleichtert wird. Sind die Färbungen zu hell, so muss man so dicke Schnitte nehmen, bis man sie deutlich und charakteristisch findet. Jedoch darf auch bei sehr grosszelligen Geweben der Schnitt nicht unnöthig dick genommen werden; denn dann füllen sich die äusseren Zellen mit Vitriollösung und geben ihre Säfte zum grossen Theil an diese nach aussen ab; während die inneren erst anfangen das Salz aufzunehmen; in jenen entsteht dann bei dem Kochen in KO schwarzes CuO , wodurch der ganze Schnitt unbrauchbar wird. Wo es irgend angeht, wird man immer gut thun, möglichst dünne Schnitte, die nur eine oder zwei unverletzte Zellschichten enthalten, anzuwenden.

Das weitere Verfahren besteht hier ebenfalls darin, dass man den mit CuOSO_3 imprägnirten Schnitt in Wasser einigemal hin und her schwenkt und dann schnell in concentrirte Kalilauge bringt. Ich bekomme auf diese Weise niemals bei dem nachherigen Kochen schwarzes Kupferoxyd. Jedoch gibt es Zellen, welche keine Spur von löslichen Kohlehydraten zu enthalten scheinen, weil sie bei jeder Behandlungsweise schwarzes CuO nach dem Kochen enthalten. Bevor man indessen dies als Thatsache ansehen darf, muss man vorher auf jede Art versuchen irgend eine der Reactionen auf Kohlehydrate zu erzielen.

Was die Stärke der Kalilauge anbetrifft, so habe ich immer gefunden, dass die Reactionen schneller und intensiver auftreten, wenn man die Schnitte in eine völlig concentrirte Lösung bringt, als in verdünnte. Es ist nöthig, diese Kalilösung in einem flachen und weissen Porzellan-Schälchen bereit zu halten, und den Schnitt sobald er hineingebracht ist, mit der Loupe zu beobachten, um

auf dem weissen Hintergrunde den Eintritt der Farbenänderungen wahrnehmen zu können. Die aus den löslichen Kohlehydraten entstehende Flüssigkeit hat leider die unangenehme Eigenschaft schnell zu exosmosiren, so dass nach einigen Minuten des Liegens in KO die Intensität dieser Bläuung wieder abnimmt und bläuliche Wolken von den Zellen in die Lauge ausströmen. Dies macht eine öftere Wiederholung desselben Experimentes mit verschiedenen Schnitten nöthig, um bei schwachen Reactionen Gewissheit zu erlangen.

Das Kochen des Schnittes in KO kann entweder so geschehen, dass man ihn in die kalte Lösung bringt, welche sich in einem sehr kleinen Porzellan-Schälchen befindet, und dieses dann über einer Spirituslampe bis zum Kochen erhitzt, oder so dass man das KO erst zum Kochen bringt, und dann den abgewaschenen Schnitt in die kochende Flüssigkeit wirft. Diese ganze Manipulation erfordert, wenn sie überzeugende Resultate geben soll, dieselbe Präcision und Übung, wie man sie bei chemischen Untersuchungen überhaupt voraussetzt. Zumal muss man das Wasser zum Abwaschen der Schnitte öfter erneuern, die Kupfersalzlösung, welche man am besten in einem flachen Schälchen vor sich hat, nur für gleichzeitig aus derselben Gegend gemachte Schnitte benützen, endlich muss die Kalilösung vollkommen farblos sein und das zum Kochen bestimmte Schälchen muss zu jedem neuen Versuch mit neuem Kali gefüllt werden.

Gewöhnlich findet die Reduction des Cu_2O als rother, oder rothgelber Niederschlag in den ersten 5 — 6 Secunden des Kochens Statt, zuweilen vorher, zuweilen erst später. Als Regel muss man festhalten, den Schnitt keine Secunde länger kochen zu lassen, als durchaus nöthig ist; denn das kochende Kali macht die Gewebe so zerfliesslich, dass man dann Mühe hat, den Schnitt unverletzt auf das Objectglas zu bringen.

Um bequem in dem kleinen Schälchen zu kochen, mache ich aus Drath eine runde Öse, etwas kleiner als der obere Rand des Schälchens, so dass es in dieser Öse sicher festsitzt, und leicht herausgenommen werden kann; die Enden des Drathes wickle ich um einander und den so gebildeten Stiel der Öse stecke ich dann in einen hölzernen Griff. An diesem hält man während des Kochens den kleinen Apparat oder man steckt ihn horizontal in die Zange eines hölzernen Halters, wie sie in den chemischen

Laboratorien benützt werden, was zumal dann sehr bequem ist, wenn man die Schnitte gleich in kochendes Kali bringen will.

Man hebt dann die Schnitte vorsichtig mit einer Starnadel heraus und legt sie in einen Tropfen Kalilösung auf das Objectglas. Dieses liegt auf einem weissen Papier, um die Farben auf dem weissen Hintergrunde besser zu erkennen. So gibt gewöhnlich schon das freie Auge, wenn in grösseren Quer- und Längsschnitten Niederschläge und Farbenercheinungen aufgetreten sind, ein schönes Bild von der Vertheilung der betreffenden Stoffe in den verschiedenen Geweben. Jedenfalls muss aber eine möglichst genaue Prüfung mit der Loupe der Untersuchung mit starken Vergrösserungen vorhergehen.

Es liegt in der Art dieser Reactionen, dass nur sehr aufmerksame und wiederholte Betrachtung und Vergleichung der kalt und kochend behandelten Schnitte mit der Loupe und mit dem Compositum zu Resultaten führen können; Eins ohne das Andere würde in allen Fällen nichts lehren oder beweisen. Wenn überhaupt in der Mikroskopie, so ist es hier nöthig, jede gelungene Reaction durch Abbilden mit Farben festzuhalten, denn man überzeugt sich bald, dass das Gedächtniss nicht für das an einem einzigen Tage Untersuchte hinreichend ist.

Die Dauer des Liegens in Kupfervitriollösung kann man dazu benützen, um über die Natur des Gemenges von Lösungen in den Zellen näheren Aufschluss zu bekommen. Dextrin, Traubenzucker und Rohrzucker geben nämlich, auch wenn nur geringe Mengen von CuOSO_3 zugesetzt sind, sogleich eine, wenn auch helle, doch rein blaue Flüssigkeit. Sind diese Stoffe dagegen mit Eiweissstoffen gemengt, so erfolgt bei Zusatz von wenig CuOSO_3 zuerst eine violette Färbung, der Eiweissstoff scheint zu dem Kupfersalze eine grössere Verwandtschaft zu haben; erst wenn man nach und nach mehr CuOSO_3 zusetzt, tritt die blaue Färbung der Kohlehydrate in der Flüssigkeit auf. Wenn man demnach einen Schnitt kurze Zeit in Vitriollösung liegen lässt, so kann man unter Umständen in den Zellen eine violette Flüssigkeit erhalten, womit die Gegenwart von Eiweissstoffen erwiesen ist; lässt man dann einen eben solchen Schnitt länger in dem Kupfersalze liegen, so kann an den entsprechenden Stellen bei Einwirkung des Kali eine rein blaue Flüssigkeit auftreten, was unter den Eiweissstoffen noch die Gegenwart von einem oder einigen löslichen Kohlehydraten anzeigt.

3. Ich erlaube mir nun, an einigen leicht zugänglichen Objecten die Anwendbarkeit des CuOSO_3 und KO als Reagens auf die in den Zellen enthaltenen Flüssigkeiten, sowie auf den Reinheitszustand des Zellstoffes zu zeigen.

a) Reaction auf Zellhäute.

Nimmt man von einer keimenden Pferdebohne (*Vicia Faba*), deren Wurzel eben die Samenschale durchbricht, einen dünnen Querschnitt aus der Mitte der Keimwurzel, lässt ihn einige Stunden in einer concentrirten Lösung von CuOSO_3 liegen, wäscht ihn dann ab und legt ihn in kalte concentrirte Kalilauge, so sieht man nun bei Betrachtung mit der Loupe, dass die Peripherie des Schnittes blau, alles Übrige aber röthlich violet geworden ist. Eine dreihundertmalige Vergrößerung zeigt dann, dass die röthlich violette Färbung einer in den Zellen enthaltenen Flüssigkeit angehört, es ist die Reaction der Eiweissstoffe, welche in allen diesen jugendlichen Zellen reichlich vorhanden sind; am intensivsten ist diese Färbung im Cambiumring. Das was unter der Loupe als blauer peripherischer Saum des Querschnittes erschien, zeigt jetzt bei starker Vergrößerung zwei Farben. Nämlich die äussersten Zellschichten sind gleich den übrigen mit der violeten, von Eiweissstoffen herrührenden Flüssigkeit angefüllt, die ziemlich stark verdickten Häute dieser Zellen dagegen erscheinen intensiv blau gefärbt. Diese blaue Färbung ist bei dem durchfallenden Lichte durch einen eigenthümlichen Glanz ausgezeichnet. Versucht man diesen Farbenton mit dem Pinsel zu mischen, so erreicht man ihn am besten, wenn man ein wenig Berlinerblau mit vielem Bleiweiss mischt.

Wird ein dünner Querschnitt von einer Bohnenwurzel (*Phaseolus multiflorus*), welche soeben die Samenschale durchbricht, ebenso behandelt, und dann in KO gekocht, so sieht man einen peripherischen Saum von violetter Farbe, alles Übrige Parenchym dagegen mit einem dichten schwarzen Kupferoxydniederschlag erfüllt, nur ein schmaler, zwischen Mark und Rinde liegender, an mehreren Stellen unterbrochener Ring, zeigt die oben geschilderte blaue Färbung. Bei dreihundertmaliger Vergrößerung löst sich dieser hellblaue Ring in Zellenquerschnitte auf; die blaue Färbung gehört den Zellhäuten der noch sehr jungen Gefässe und Holzzellen; das Lumen derselben ist ebenfalls mit schwarzem Kupferoxyd erfüllt. Die Bläunung ist so intensiv, dass sie auch an den dünnen Häuten

der Cambiumzellen noch deutlich zu erkennen ist. Der peripherisch violete Saum des Schnittes entstand dadurch, dass die Zellen der äussersten Schichten viel Eiweissstoffe enthalten, welche bei dem Liegen in der Vitriollösung nicht exosmosirt sind, während aus dem Parenchym der Rinde und des Markes die Kohlehydrate ausgetreten sind. Die Zellhäute der äussersten Schichten erscheinen ebenfalls blau.

Sehr intensiv tritt die Bläuung der Zellhäute an den jungen Bastzellen der Bohne auf. Wenn man aus dem unteren fadenförmigen Theil der Hauptwurzel von älteren Keimpflanzen der Bohne Quer- und Längsschnitte macht, dieselben lange in starker Vitriollösung liegen lässt, und dann mit concentrirter kalter Kalilauge behandelt, so erscheinen die vier Bastbündel auf dem Querschnitte schon als intensiv leuchtend blaue Punkte, wenn man eine Loupe zu Hilfe nimmt (Taf. I, Fig. 18 b). Das Compositum zeigt dann die einzelnen Querschnitte der Bastzellenhäute als Träger dieser Färbung (Taf. I, Fig. 19).

Häufig tritt die blaue Färbung der Cellulose schon dann auf, wenn die Vitriollösung nur einige Minuten eingewirkt hatte. In diesem Falle erhält man dann die Zellstoffreaction zugleich mit den Reactionen auf Eiweissstoffe, und lösliche Kohlehydrate davon nachher.

Die gelbe Färbung von Zellhäuten mit CuOSO_3 und KO tritt nur bei solchen auf, welche auch mit Jod gelb werden. Wenn man nun auch dieser Jodreaction auf die Gegenwart von Proteinstoffen innerhalb der Zellhäute als Verunreinigung derselben schliessen könnte, so zeigt dagegen das Gelbwerden mit CuOSO_3 und KO , dass eiweissartige Stoffe hier nicht vorhanden sein können, denn sonst müsste eine violette Färbung eintreten.

Taf. I, Fig. 14 stellt ein kleines Stückchen der Rinde eines blühenden Kürbiszweiges vor, welches nach kurzem Liegen in CuOSO_3 dann mit kalter KO -Lauge behandelt wurde. Die unter der Epidermis liegenden, in den Berührungswinkeln verdickten Zellen sind blau geworden; ich habe gefunden, dass alle so verdickten Zellen, welche ich bisher untersuchte, ebenso reagiren. Bei X in Fig. 14 sind die Querschnitte von langgestreckten Zellen, welche ringsum das stärkeführende Parenchym von dem Oberhautsystem abgrenzen. Diese Zellwände sind mit CuOSO_3 und KO gelb geworden. Eine eben solche Färbung nehmen die Holz- und Bastzellen im Gefässbündel des Maisstengels an (Taf. I, Fig. 8 und 9). Alle diese

gelb werdenden Zellen nehmen im Jugendzustand die blaue Farbe des reinen Zellstoffes an.

b) Reactionen auf den flüssigen Zellinhalt.

Macht man einige nicht allzudünne Längsschnitte parallel der Äquatorebene eines beinahe reifen Maiskorns (*Zea-Mais*) und lässt sie etwa 10 Minuten in Vitriollösung liegen, so geben sie nach gutem Abwaschen und nachheriger Behandlung mit KO, eine schöne Farbenreaction. Taf. I, Fig. 1 stellt einen so behandelten Schnitt dar, wie er in kaltem KO erscheint. Das Endosperm (*e*) ist an der Peripherie violet, im Centrum gegen den Keim hin blau; jenes ist die durch den zwischen den Stärkekörnern enthaltenen Kleber verursachte Eiweissstoffreaction; dieses dagegen rührt von löslichem Kohlehydrat her, welches später bei völliger Reife verschwindet. Ein dünner Schnitt durch irgend einen Theil des Keimes zeigt alle Zellen dicht mit Öl gefüllt; an unserem Schnitt erscheint der Kotyledon (*K*) grünlich blau, der Keimstengel, die Keimwurzel, die Plumula dagegen violet. Die noch im völlig cambialen Zustand befindlichen Gefässbündel sind dunkelviolet. Die grünlich blaue Färbung des Kotyledon rührt von dem fetten Öle her. Durch Kochen in KO verschwindet diese Färbung nicht, wie Fig. 2 zeigt; auch die violete Farbe der Eiweissstoffe ist nicht aus dem Keim verschwunden; dagegen ist aus der blauen Flüssigkeit im Endosperm rothes Cu_2O niedergeschlagen worden, und auch in der violetten Region von Fig. 1 ist gelber Niederschlag (Fig. 2) im Endosperm erfolgt; demnach bedeutet jene violete Färbung ein Gemisch aus viel Eiweiss und wenig löslichem Kohlehydrat. Jedenfalls rührt der rothe und gelbe Niederschlag wenigstens zum Theil von Traubenzucker her, denn wäre Dextrin allein vorhanden, so müsste das Centrum des Endosperms nach dem Kochen in KO noch violet erscheinen, da das Dextrin auch in grösserer Menge die violete Färbung der Eiweissstoffe nicht vernichtet; solche sind aber nachweislich auch an der blauen Stelle zugegen.

Die mit dem rothen Niederschlag zugleich erscheinende gelbe Farbe rührt von unvollständiger Reduction her, dieselbe Färbung findet immer bei dem Erwärmen eines Gemenges vor dem Kochen Statt.

Fig. 3 stellt einen Längsschnitt durch die Mitte einer sehr jungen Maispflanze dar, nach dem Kochen in KO. Ein Theil des Endosperms zeigt die Reaction von Traubenzucker und Dextrin; der

Kotyledon ist jetzt violett; er enthält, wie man leicht sehen kann, wenig fettes Öl, und hat aus dem Endosperm Eiweissstoffe aufgenommen. Das Parenchym der Rinde und des Markes im jungen Stengel und der Wurzel zeigt nur an einzelnen Stellen rothen Niederschlag; hätte der Schnitt länger im Kupfersalz gelegen, so wäre der Niederschlag an allen Stellen gleichmässiger erfolgt. Das Eindringen von Lösungen in Längsschnitte ist immer schwieriger als in Querschnitte. Die Spitzen der Nebenwurzeln zeigen die violette Farbe der Eiweissstoffe. Die hellblaue Färbung der Gefässbündel, welche Stengel und Wurzel durchziehen, rührt von der Reaction der Zellhäute her. Fig. 5 stellt einige Zellen des Stengels von Fig. 3 dar, um die Form des Cu_2O -Niederschlages zu zeigen. Es sind ziemlich grosse Körnchen, wie man sie durch Kochen der Traubenzuckerflüssigkeit erhält; die von Dextrin herrührenden sind immer kleiner, und selbst bei starken Vergrösserungen schwer wahrzunehmen.

Fig. 4 ist ein Querschnitt bei $x - x$ der Fig. 3 geführt, und ebenso behandelt. Fig. 6 ein Querschnitt des Keimstengels von Fig. 3. Der Niederschlag von Cu_2O in Rinde und Mark erscheint hier zugleich mit der Bläuung der Zellhäute im Gefässbündelringe. Ein Stück dieser Figuren ist in Fig. 10 vergrössert; $g g g$ sind Gefässe, die in einem kleinzelligen vermehrungsfähigen Gewebe liegen, dessen Häute blau geworden sind; das Mark (m) und die Rinde (r) enthalten unter den Körnchen des Cu_2O auch noch die gelbe Materie, welche durch unvollständige Reduction entstanden ist.

Fig. 7 stellt einen Querschnitt aus einer älteren Wurzel einer Maispflanze vor. Die blaue Färbung gehört hier ebenfalls den Zellhäuten; dagegen findet in dem Parenchym von Mark und Rinde keine Reduction von Cu_2O Statt; es erscheint nur schwarzes CuO ; demnach muss in diesen Zellen gar kein oder nur eine Spur von löslichem Kohlenhydrat vorhanden sein.

Fig. 8 stellt einen Längsschnitt, Fig. 9 einen halben Querschnitt aus einem der obersten Stengelglieder einer fruchttragenden Maisstaude dar. Alle gelben Stellen bedeuten langgezogene Zellen (Bastzellen), alles Rothe ist Traubenzucker, das Blaue Rohrzucker. Der Traubenzucker findet sich nur in der nächsten Umgebung der Gefässbündel, der Rohrzucker im Markparenchym.

In der Zuckerrübe findet sich der Rohrzucker ebenfalls im Parenchym, weniger in der unmittelbaren Nähe der Gefässbündel. Wenn man Längs- und Querschnitte der Zuckerrübe mit CuOSO_3 und KO behandelt, so treten besonders nach dem Kochen in KO concentrische Zonen auf; hellblaue, in denen die Gefässbündel liegen, und dunkelblaue zwischen je zwei Gefässbündelzonen; in diesen ist also die Hauptmasse des Rohrzuckers enthalten. Niederschlag von Cu_2O fand ich nur in der Nähe des Blätteransatzes. In den Blattstielen findet sich gar kein Rohrzucker, dagegen erhält man reichliche Niederschläge von rothem Cu_2O .

Fig. 13 ist der Querschnitt des ersten Internodiums aus einer sehr jungen Keimpflanze von *Phaseolus multiflorus*, nach kurzem Liegen in CuOSO_3 mit KO gekocht. Hier hat die Reduction von Cu_2O in Rinde und Mark ähnlich wie im Maiskeimstengel stattgefunden. Bei starker Vergrößerung findet man, dass der bläuliche Grundton durch die Reaction der sämtlichen Zellhäute des Parenchyms veranlasst ist. Die violette Zone zwischen Mark und Rinde zeigt den Eiweissstoffgehalt der cambialen Gewebe. Die rothen Punkte darin (*gb*) sind kein Niederschlag, sondern der durch KO in ein rothes Oxydationsproduct übergeführte Gerbstoff in gewissen Zellen, wie ich im zweiten Abschnitt zeigen werde (siehe Taf. I, Fig. 24 bei *gb*).

Fig. 16 ist ein ähnlich behandelter Schnitt aus dem oberen Theil einer Keimwurzel; bei W^2 sind die noch nicht durchgebrochenen Nebenwurzeln mit der violetten Eiweissflüssigkeit zu sehen. Fig. 17 ist die Spitze dieser Wurzel, am Vegetationspunkt und in den Gefässbündeln violette Flüssigkeit, in Mark und Rinde bis unten hin rother Niederschlag von Cu_2O .

Fig. 18 ist ein Querschnitt durch den fadenförmigen Theil einer älteren Bohnenwurzel mit kaltem KO behandelt. Das Rindenparenchym (*r*) zeigt eine sehr geringe Bläuung, durch Kochen wird da schwarzes CuO niedergeschlagen; hier ist jedenfalls äusserst wenig Dextrin und Traubenzucker zugegen. Das Violette sind die Nebenwurzeln, das Blaue sind Zellstofffärbungen.

Fig. 11 und Fig. 12 sind Querschnitte aus dem Griffel der weiblichen Kürbisblüthe; 11 mit kaltem KO, Fig. 12 in solehem gekocht; in den von den Gefässbündeln eingefassten Gewebesystemen ist Dextrin oder Traubenzucker oder beide vorhanden.

Fig. 13 ist ein Querschnitt durch die Stamina der männlichen Kürbisblüthe mit KO gekocht; das Hellblaue ist Zellstofffärbung, in den centralen Gefässbündeln hat die Reduction in ungleicher Weise stattgefunden; hier sind Eiweissstoffe mit Zucker oder Dextrin zugleich vorhanden.

II.

Über mikroskopische Nachweisungen von Gerbstoffen in den Zellen.

Neben den Kohlenhydraten und Eiweissstoffen dürften die Gerbstoffe zu den am meisten verbreiteten Stoffen im Pflanzenreich gehören. Schon dieser Umstand müsste dazu auffordern, dieselben in ihrem mikroskopischen Verhalten der physiologischen Beobachtung zugänglich zu machen. Was dieser Reihe von organischen Verbindungen aber ein viel höheres physiologisches Interesse verleiht, das ist der vielseitige Zusammenhang der Gerbstoffe mit anderen Stoffreichen, zumal mit den Kohlenhydraten und den Fetten. „Durch Einwirkung von Säuren und Alkalien zerfallen Galläpfelgerbstoff, Chinovagerbsäure u. s. w. in verschiedene Producte, ein Kohlenhydrat wird dabei jedesmal gebildet; es ist gewiss, dass Fermente existiren, die, wie die Säuren oder Alkalien, die Spaltung dieser Stoffe bewirken“ (Roehleder: *Phytochemie*, Seite 327. 1854). Und (ebenda): „Mit der Frage über die Entstehung der Glykosegenide hängt die über die Bildung der Kohlenhydrate auf das innigste zusammen.“ Diese wichtige Stellung, welche hierdurch den Gerbstoffen, als Glykosegeniden, angewiesen wird, macht sich in sehr auffällender Weise auch bei der mikroskopischen Verfolgung der Entwicklung der Pflanzen geltend. Wenn es gelingt, das erste Auftreten der Kohlenhydrate und Gerbstoffe, ihre gleichzeitige Vertheilung innerhalb einer Pflanze mikroskopisch zu verfolgen, so sind hiervon folgenreiche Daten für die Pflanzenphysiologie zu erwarten. In diesem Sinne erschien mir das Verhalten der Gerbstoffe während der Keimung, wo immerfort auffallende und schnelle Veränderungen in den Zellinhalten stattfinden, besonders lehrreich zu sein. Was ich hierüber im Laufe eines Jahres schon beobachtet habe und ferner beobachten werde, soll in einer grösseren Arbeit über die Keimung veröffentlicht werden. Hier erlaube ich mir zu zeigen, dass die Nachweisung der Gerbstoffe unter dem Mikroskope nicht nur physiologisch

von hohem Werthe ist, sondern auch leicht und mit Sicherheit ausgeführt werden kann.

Unter den Reactionen der Gerbstoffe mit den üblichen Reagentien zeichnen sich die durch Eisensalze hervorgerufenen Färbungen und die durch Kali bei Luftzutritt bewirkten Oxydationsproducte durch ihre Anwendbarkeit für mikroskopische Untersuchung aus. Die Eisenoxydsalze geben mit den Gerbstoffen schwarzblaue oder grünliche Niederschläge. Wenn man demnach Lösungen derselben auf gerbstoffhaltige Zellen einwirken lässt, so werden sie durch Endosmose eindringen und mit dem in den Zellen enthaltenen Gerbstoff Niederschläge bilden, die sich dann als Niederschlagskörner bei starker Vergrößerung in den Zellen auffinden lassen und bei auffallendem Licht mit der Loupe an ihrer Färbung erkannt werden. Die durch KO aus den Gerbstoffen entstehenden Oxydationsproducte sind rothe, gelbrothe oder braunrothe Flüssigkeiten. Diese haben mit den durch Eisensalze hervorgerufenen Färbungen die werthvolle Eigenschaft gemeinsam, dass sie auch in sehr dünnen Schichten, und selbst dann wenn die Lösung nur äusserst wenig Gerbstoff enthielt, noch deutlich gefärbt erscheinen, wodurch es möglich wird an Schnitten, welche nur eine unverletzte Zellschicht enthalten, sowohl unter der Loupe als unter dem Compositum die Gegenwart und Vertheilung der Gerbstoffe kennen zu lernen. Sollte man durch die mit Eisensalzen und mit Kali eintretenden Reactionen noch nicht überzeugt sein, dass man es mit einem Gerbstoff zu thun habe, so finden sich noch andere Reagentien, deren Wirkungen zwar nicht so eclatant sind, die aber dennoch die Überzeugung feststellen, dass die durch Eisensalze und KO erhaltenen Reactionen von der Gegenwart eines Gerbstoffes herühren. Die meisten Metalloxyde bilden mit den Gerbstoffen unlösliche Verbindungen, die häufig charakteristisch gefärbt sind, und so in den Zellen erkannt werden, wenn die gelösten Salze der Metalloxyde durch Endosmose in die Zellen eindringen. Andererseits liefert das Ammoniak mit den Gerbstoffen durch Oxydation derselben charakteristisch gefärbte Flüssigkeiten, welche häufig mit den durch Kali veranlassten Färbungen übereinstimmen. Welche dieser Mittel anzuwenden sind, lässt sich nicht allgemein bestimmen; es hängt dies von der Concentration der Zellsäfte bezüglich des Gerbstoffes, ferner von dem endosmotischen Verhalten der Zellhäute gegen die betreffenden Salzlösungen und endlich von den mit den Gerbstoffen

gleichzeitig vorhandenen Stoffen ab. Dagegen treten die durch KO und Fe_2O_3 Salze zu erzielenden Reactionen unter allen Umständen deutlich hervor, mit ihnen wird man also die Untersuchung beginnen müssen. Die Wirkung der Eisenoxydsalze tritt selbst dann noch mit grösster Deutlichkeit hervor, wenn sie zu einem Gemenge von wenig Gerbstoff mit viel Zucker, Eiweiss, Dextrin gesetzt werden. Auch die Wirkung des Kali tritt in derartigen Gemengen noch deutlich, wenn auch etwas modificirt, hervor.

Indessen muss ich auch hier auf die für die Untersuchung günstige Thatsache hinweisen, dass wo Gerbstoff einmal in Zellen nachweisbar ist, die Reactionen meist mit solcher Evidenz stattfinden, dass man sich zu der Annahme berechtigt sieht, dass man es nicht nur mit ziemlich concentrirten Lösungen zu thun hat, sondern auch, dass in solchen Zellen ausser dem Gerbstoff andere Stoffe nur in sehr geringen Quantitäten zugegen sein können.

Je mehr man sich überhaupt mit den chemischen Eigenthümlichkeiten der Zelleninhalte beschäftigt, desto mehr gewinnt man die Überzeugung, dass die Zellen nicht blos durch ihre Gestalt und durch ihre Lage im Complex der Gewebe charakterisirt sind, dass hiermit vielmehr immer eine chemische Charakteristik der Inhaltsflüssigkeit verbunden ist; oder mit anderen Worten, es lässt sich nachweisen, dass die anatomischen und morphologischen Unterschiede der Gewebeformen mit physiologischen, chemischen Unterschieden Hand in Hand gehen. Es tritt dies schon deutlich genug bei der Betrachtung der Vertheilung der löslichen und unlöslichen Kohlenhydrate hervor, viel auffallender aber zeigt es sich bei der Vertheilung der Gerbstoffe in den verschiedenen Geweben.

Ich habe das erste Auftreten und die Vertheilungsweise des Gerbstoffes in der Bohne (*Phaseolus multiflorus*) in den verschiedensten Entwicklungszuständen studirt und in vielen andern Culturpflanzen während der Keimung verfolgt. Eine genauere Betrachtung einiger Beispiele wird das oben Gesagte rechtfertigen, und ausserdem dazu dienen, die Methode der Nachweisung der Gerbstoffe in den Zellen zu verdeutlichen; zugleich werden einige dieser Beispiele zeigen, dass man gleichzeitig mit den Gerbstoffen an demselben Quer- oder Längsschnitt andere Stoffe nachweisen kann, so dass man hierdurch ein deutliches Bild von der Vertheilung mehrerer

Stoffe innerhalb eines Pflanzentheils, also eine chemische Charakteristik der Gewebe gewinnt.

An sehr dünnen Querschnitten, welche man aus dem Cauliculus des Keimens der reifen Bohne (*Phaseolus multiflorus*) nimmt, sieht man bei starken Vergrößerungen innerhalb des Cambiumringes zwischen den kleinen Zellen desselben die Querschnitte von grösseren, welche die benachbarten um das Zwei- bis Dreifache übertreffen. An gelungenen Längsschnitten aus derselben Gegend zeigt sich, dass diese weiteren Zellen in Längsreihen geordnet sind; sie haben horizontale Querwände und enthalten grosse Zellkerne. Behandelt man solche Schnitte mit Eisenoxydsalzen, oder mit KO, so tritt nirgends eine Gerbstoffreaction auf. Lässt man dagegen die Bohnen 24 Stunden bei 16 — 18° R. im feuchten Boden liegen, so dass sie das in Taf. I, Fig. 20 dargestellte Keimungsstadium erreichen, und nimmt als dann aus der Gegend *a* wieder feine Querschnitte, welche man mit starker Kalilösung einige Minuten lang liegen lässt, so findet man, dass die oben beschriebenen Zellen innerhalb des Cambiumringes sich mit einer rothen Flüssigkeit gefüllt haben, deren Farbe aber erst durch das KO hervorgerufen wurde, denn ohne dieses erscheint ihr Inhalt farblos; jedoch kommt es an manchen Exemplaren vor, dass dieselben Zellen gleich bei dem Durchschneiden einen schön karminrothen Saft reichlich hervorquellen lassen. Auch in diesen tritt mit KO bald diejenige rothe Färbung ein, welche man durch Zusatz von KO in vielen Gerbstofflösungen erhält. Sowohl in den farblosen als in den farbstoffhaltenden erwähnten Zellen bringen Eisenoxydsalze eine schwarzblaue Färbung hervor. Die genannten Zellen enthalten demnach Gerbstoff, aber auch nur diese; ausser ihnen findet man in der ganzen Keimpflanze keinen solchen. Diese Gerbstoffzellen nehmen während der Keimung immerfort an Weite zu, ausserhalb derselben beginnen sich die Bastzellen auszubilden; nach innen liegen die eigentlichen Cambiumzellen, welche gegen das Mark hin Gefässe und Holzzellen bilden. In Taf. I, Fig. 21 ist ein Querschnitt abgebildet aus der Gegend *x* in Fig. 20, welcher erst mit KO behandelt wurde, dabei färbten sich die beschriebenen Zellen (*gb*, *gb*) roth; dann wurde der Schnitt mit Wasser überspült, mit ein wenig verdünnter Essigsäure das noch vorhandene KO neutralisirt und endlich Jod zugesetzt, wodurch der ganze Cambiumring, wie die Fig. 21 zeigt, gelb, alles Parenchym blau wurde, von der in den Zellen

enthaltenen und durch das KO aufgequollenen Stärke. Dasselbe Resultat erzielt man dadurch, dass man sogleich Jodkalium in welchem freies Jod aufgelöst ist, zusetzt; dadurch nimmt der Gerbstoff eine gelbbraune Farbe an, während das freie Jod auf Eiweisstoffe und Stärke in bekannter Weise reagirt.

Da die durch KO hervorzurufende rothe Färbung der Gerbstofflösung in einer Oxydation des Gerbstoffes besteht, so muss man auf das Eintreten derselben gewöhnlich mehrere Minuten warten. Ich fand es zweckmässig, den Schnitt auf einem Objectglas über weissem Papier liegend mit einem Tropfen starker KO-Lauge zu bedecken; um die zur Oxydation nöthige Luft den Gerbstoffzellen zuzuführen, genügt dann der Zusatz von wenigen Tropfen Wasser. Die Färbung tritt zwar auch ohne dieses ein, jedoch viel langsamer. Auch bei dem Zusatz von essigsauerm Eisenoxyd oder Eisenchlorid muss man einige Vorsicht anwenden; es ist besser verdünnte Lösungen anzuwenden. Auch hier tritt die Schwärzung nach einigen Minuten ein.

Schon bei Betrachtung mit der Loupe machen sich dann auf dem weissen Hintergrunde die durch Eisensalze schwarz, durch KO eigenthümlich roth gewordenen Zellen in der in Fig. 21 angegebenen Weise geltend. An Querschnitten wird durch das Zerschneiden der Zellen gewöhnlich das Austreten von einigem Gerbstoff und dadurch Verunreinigung der Nachbarzellen verursacht. Jedoch bringt man es bei einiger Übung bald dahin, reine Objecte zu erzielen. Hauptsache bleibt immer ein scharfes und blank geputztes Messer, sonst tritt schon bei dem Schneiden eine Schwärzung der Gerbstoffzellen ein; sodann müssen die Schnitte schnell und ohne sie zu drücken oder zu zerren von der Klinge auf das Objectglas gebracht werden. Wenn man sich vor diesen Reactionen eine genaue Kenntniss der mikroskopischen Anatomie des untersuchten Theiles erworben hat, so sind Verwechslungen der Gerbstoffzellen mit solchen, welche durch ausgetretenen Gerbstoff bloß verunreinigt sind, kaum möglich. Etwas Zweifel in dieser Beziehung werden durch Längsschnitte, welche auch bei sehr geringer Dicke noch unverletzte Gerbstoffzellen enthalten können, völlig beseitigt.

Je weiter die Keimung fortschreitet, desto weiter verbreiten sich die gerbstoffführenden Zellen gegen die Terminalknospe hin und in die Gefässbündel der Blätter; sie behalten überall dieselbe

Lage in Bezug auf die andern Elemente der Gefässbündel; sie liegen überall ausserhalb der eigentlichen Cambiumzellen, innerhalb der Bastzellen.

Fig. 23 stellt einen mit KO, dann mit Jod behandelten Querschnitt aus der Mitte eines Blättchens der Plumula der Bohne dar, deren Wurzel dreimal so lang als in Fig. 20 war, während die Plumula noch scheinbar unthätig zwischen den Kotyledonen lag. Die mit *gb* bezeichneten rothen Stellen sind die Querschnitte der Gerbstoffzellen, die schwarzen Punkte die mit Luft gefüllten Spiralgefässe; alles Blaue bedeutet Stärke, alles Gelbe Eiweissstoffe.

Fig. 22 ist der Längsschnitt durch die Terminalknospe und den oberen Stengeltheil eines Keimes, der schon mehrere Nebenwurzeln hatte, und dessen Plumula eben aus den Kotyledonen sich heraus hob. Er ist ebenso behandelt wie Fig. 21 und 23. Parallel mit den Spiralgefässen (*sg*) laufen die Gerbstoffzellen (*gb*) bis unter die Terminalknospe. *sp, sp* sind die durchschnittenen Stipulae der Plumularblätter, *B* das erste gedreite Blatt. Ich habe in allen diesen Fällen durch Eisensalze die Schwärzung im den hier mit KO roth gewordenen Zellen nachgewiesen. Die Gerbstoffzellen treten nur in den oberen Theil der Wurzel ein, in fadenförmigen unteren fehlen sie immer, dagegen verbreiten sie sich in allen überirdischen Theilen und lassen sich bis zur Fruchtreife nachweisen. Viele Exemplare von *Phaseolus multiflorus* haben unter der Oberhaut und in derselben einen rothen Farbstoff; in allen diesen Zellen erhält man mit KO und mit Eisensalzen Gerbstoffreactionen; auch unter der Oberhaut des Keimstengels von *Acer pseudoplatanus* finden sich zahlreiche mit einem schön karminrothen Saft gefüllte Zellen, welche durch wenig Ammoniak, durch sehr verdünntes KO und durch blosses Liegen an der Luft blau werden. Auch hier tritt durch essigsaures Eisenoxyd, Eisenchlorid und KO die Reaction des Gerbstoffes auf; die Eisensalze geben eine tief schwarzblaue Färbung, das KO macht den rothen Farbstoff zuerst schön blau, dann gelblichroth, wolkig.

Es ist wahrscheinlich, dass viele rothe Farbstoffe, welche durch Ammoniak blau werden, ihre Röthe der Gegenwart einer Gerbsäure verdanken, wie es bei der Bohne und bei *Acer pseudoplatanus* der Fall ist. Etwas Ähnliches beobachtet man an den sehr jungen Keimstengeln der Kirsche.

Fig. 24 ist ein Stückchen von dem Querschnitt des Stengels unmittelbar über den Kotyledonen einer Bohnenpflanze, welche schon mehrere ausgebildete Blätter hatte. Es ist nach längerem Liegen in einem Tropfen KO mit Wasser und Essigsäure gewaschen und dann mit Jod behandelt, bei dreihundertmaliger Vergrößerung gezeichnet; *gb* sind die Gerbstoffzellen, mit der durch KO erzeugten ziegelrothen, schmierigen Flüssigkeit erfüllt; mit Eisensalzen erscheinen sie mit einer schwarzblauen Flüssigkeit, in welcher schwarze Niederschlagskörner liegen; *b* sind die Bastzellen, *ca* Cambium, *h* das Holz mit den Gefässen.

In allen jungen Theilen der Bohne ist die Nachweisung des Gerbstoffes leicht, die Farben und Niederschläge treten schnell und intensiv hervor; dagegen ist es schwer die Reactionen in älteren Theilen zu erzielen; die Gerbstofflösung scheint hier sehr verdünnt zu sein; die Färbung wird nicht intensiv, und tritt mit KO erst spät ein.

Ganz ebenso verhält sich der Gerbstoff in *Dolichos Lablab*.

Das Vorhandensein von bestimmt charakterisirten Zellreihen im Bohnenkeim, welche noch keine Spur von Gerbstoff enthalten, dann das Auftreten desselben in den ersten Stunden der Keimung innerhalb jener Zellen, das regelmässige Fortschreiten des Gerbstoffes in dem sich erst bildenden Theile, sein Vorhandensein in den Farbstoffzellen, endlich die gesetzmässige Lage der Gerbstoffzellen im Verhältniss zu den anderen Zellensystemen, also das Dasein eines streng charakterisirten Gerbstoffsystems ist für *Phaseolus* und *Dolichos* eine erwiesene Thatsache. In dem Maasse als sich die Gefässbündel innerhalb der Kotyledonen ausbilden, und Spiralgefässe auftreten, kommen dort auch die Gerbstoffzellreihen zur Ausbildung; auch dies zeigt, dass der Gerbstoff bei der Keimung schon eine wichtige physiologische Rolle spielt.

Das eben Gesagte findet seine Bestätigung bei der Keimung der Eiche, der essbaren Kastanie, der Wallnuss, der Pinie, der *Thuja orientalis*, des *Helianthus annuus*, *Xanthium strumarium*, *Prunus cerasus*, *Ricinus communis* u. s. w.

Tab. II, Fig. 1 stellt einen Längsschnitt durch die Spitze der Keimwurzel einer essbaren Kastanie dar. Das Parenchym der Rinde und des Markes sind mit Gerbstoff erfüllt, die Gefässbündel, der Vegetationspunkt der Wurzel und die Wurzelhaube (*xh*) dagegen

enthalten keinen. Ganz ähnlich verhält sich der Samenkeim der Eiche.

Hatten wir an der Bohne ein Beispiel, wie der Gerbstoff gleich im Anfang der Keimung in einem Keim auftritt, welcher keine Spur von Gerbstoff enthält (die Samenschale der Bohne dagegen enthält viel), und nur das Parenchym der Kotyledonen mit Stärke erfüllt ist, und haben wir andererseits an der Eiche ein Beispiel von einem Samen, wo neben Stärke in allen Theilen schon vor der Keimung reichlich Gerbstoff vorhanden ist, so bietet endlich die Pinie und die Sonnenrose die interessante Erscheinung dar, wie bei der ersten Lebensregung in einem mit Öl erfüllten Keime, der gar keinen Gerbstoff enthält (auch hier ist in den Sehalen solcher enthalten), zugleich Gerbstoff und Stärke in gewissen Zellen auftreten, während das Öl des Keimes in demselben Masse verschwindet.

Weder in dem Endosperm, noch in den Kotyledonen, noch in der Wurzel des Samens der Pinie (*Pinus pinea*) ist vor der Keimung mit Eisensalzen oder mit KO ein Gerbstoff nachzuweisen. Wenn aber der dickschalige Same einige Wochen bei etwa 20° R. in feuchter Erde gelegen, und die Keimwurzel so eben die gespaltene Samenschale zu durchbrechen beginnt, dann findet sich in der Spitze der Keimwurzel, also in dem jetzt eben am meisten physiologisch thätigen Theile, reichlich Gerbstoff. Taf. II, Fig. 2 stellt den Längsschnitt durch einen solchen Pinienkeim und sein Endosperm (*e*) dar, nachdem er einige Stunden in verdünnter Eisenvitriollösung gelegen hatte; die hier schwarzblau gewordene Wurzelspitze nimmt mit KO nach kurzer Zeit eine gelblichrothe Färbung an. Später, wenn das Endosperm von den Kotyledonen bereits ausgesogen und die Keimpflanze grün geworden ist, findet man den Gerbstoff in allen Theilen der Wurzel, des Stengels, der Kotyledonen und jungen Blätter. Fig. 5 stellt einen Längsschnitt durch die Terminalknospe eines Pinienkeimes dar, der eben die Samenschale und das entleerte Endosperm von den Kotyledonen abgeworfen hatte. Dieser Schnitt hat einige Zeit in KO gelegen; alle in der Fig. 5 roth bezeichneten Stellen (mit KO behandelt) werden mit Eisensalzen schwarz. Die Terminalknospe und die Cambiumzellen enthalten keinen Gerbstoff, das Chlorophyll führende Parenchym der Rinde und das mit Stärke gefüllte Mark ebenfalls nicht.

Eine bestimmte Vorstellung gewinnt man, wenn man einen dünnen Querschnitt des Keimstengels unterhalb der Kotyledonen mit KO oder Eisenvitriol, oder essigsauerm Eisenoxyd behandelt. Taf. II, Fig. 3 stellt einen solchen mit Eisenvitriol auf weissem Grund mit der Loupe gesehen dar. Die schwarzblauen mit *gh* bezeichneten Stellen enthalten Gerbstoff, sie werden mit KO roth. Ohne diese Reagentien erscheinen sie völlig farblos. Ein kleines Stück dieses Schnittes ist in Fig. 4 bei 300maliger Vergrößerung dargestellt. Alle Oberhautzellen sind mit einer blauen Flüssigkeit erfüllt, welche schwarzblauen Niederschlag enthält. Unter der Oberhaut finden sich rosettenartig zusammengeordnete Querschnitte von Zellen, welche ebenfalls mit einer ziemlich concentrirten Gerbstofflösung gefüllt sind. Vor jedem Bündel von Spiralgefäßen (*sg*) findet sich eine ähnliche Rosette gerbstoffhaltender Zellen. Endlich sind die innerhalb und seitlich von den jugendlichen Holzbündeln (*h*) gelegenen Parenchymzellen mit Gerbstoff erfüllt, auch einige von den jungen Holzzellen enthalten solchen. Das Parenchym der Rinde und des Markes enthält jetzt kein Öl mehr, sondern nur Stärke, neben welcher sich in den Rindenzellen Chlorophyll findet, welches zum Theil an die Stärkekörner gebunden ist, zum Theil als grüne Wölken im Zellsaft enthalten ist.

Mit einigen Schwierigkeiten ist die Nachweisung des Gerbstoffes in der keimenden Sonnenrose verknüpft. Durch Behandlung von Längs- und Querschnitten von sehr jugendlichen Keimen mit KO erhält man überall eine gleichmäßige gelbe Färbung (Taf. II, Fig. 6 und 7), nur unter der Oberhaut und an gewissen Stellen des Gefäßbündelkreises tritt nach längerem Liegen eine deutlich rothe Färbung auf. An diesen Stellen findet mit essigsauerm Eisenoxyd oder mit Eisenvitriol nach einiger Zeit eine Schwärzung Statt, die sich dann auch in das übrige Parenchym weniger intensiv verbreitet. Betrachtet man den mit KO behandelten Querschnitt Fig. 7 aus der Gegend *a* von Fig. 6 bei einer 300maligen Vergrößerung, so findet man alle Zellen des Mark- und Rindenparenchyms mit Öltropfen erfüllt, welche in einer intensiv gelben Flüssigkeit liegen. Dagegen sind die beiden Oberhautzellschichten mit einer intensiv rothen schmierigen Flüssigkeit erfüllt. Die Gruppen von rothen Punkten in Fig. 7 endlich sind Intercellularräume, in denen eine ölige rothe Flüssigkeit enthalten ist. Neutralisirt man das KO durch Essigsäure und setzt dann Jod zu, so zeigt sich eine einzige Zellen-

schicht, welche die Gefässbündel verbindet, blau; diese Zellen enthalten, wie man nur bei starker Vergrößerung deutlich erkennt, neben der neugebildeten Stärke noch Öltropfen. Fig. 7 zeigt neben der Gerbstoffreaction diese stärkeführende Schicht, wie sie unter der Loupe erscheint.

Fig. 8 stellt den centralen Theil eines Querschnittes und einer etwas älteren Keimwurzel der Sonnenrose dar. Auch hier findet sich vor dem Gefässbündelkreis eine stärkeführende Zellschicht, welche durch die blauen Punkte angedeutet ist. Die vor diesen Stärkezellen liegenden viereckigen Zwischenzellräume zeigen sich nach längerer Einwirkung des Kali mit einer öligen rothen Flüssigkeit erfüllt. Hier enthalten die Parenchymzellen kein Öl mehr, aber eine durch das Kali gebildete intensiv gelbe Flüssigkeit, welche sich wolkenartig in dem farblosen Zellsaft vertheilt. Besonders intensiv erscheinen diese gelben Wolken in den Zellen, welche vor den gerbstoffhaltigen Inter-cellularräumen liegen. Über die Natur dieser interessanten Zwischenzellräume kann man durch Längsschnitte besseren Aufschluss erlangen. Ohne irgend ein Reagens sieht man in denselben eine farblose ölige Flüssigkeit; auf Zusatz von Eisensalzen wird diese in ihrer eigenthümlichen Consistenz nicht verändert, aber nach langer Einwirkung erscheint sie geschwärzt. KO färbt dieses in den Zwischenzellräumen enthaltene Öl intensiv roth; Taf. II, Fig. 9 stellt zwei Zellreihen mit einem von ihnen zum Theil begrenzten Inter-cellularräume vor, welcher mit dem roth gewordenen Öle erfüllt ist. Alles zusammengefasst, was ich bis jetzt über den in der keimenden Sonnenrose auftretenden Gerbstoff ermitteln konnte, ist es Folgendes: Der Gerbstoff tritt während der ersten Regung des Keimes auf. Es ist zweierlei Gerbstoff vorhanden; der eine ist in den Parenchymzellen und wird mit KO intensiv gelb, mit Eisensalzen nach längerer Zeit schwarz; der andere ist in den Oberhautzellen enthalten und wird mit KO roth, mit Eisensalzen intensiv schwarz; derselbe ist auch in den genannten Zwischenzellräumen vorhanden, aber innig gemengt mit einem dickflüssigen Öle, welches die Reactionen zwar nicht hindert, aber verlangsamt.

Wenn man feine Längs- und Querschnitte aus Keimen und älteren Zuständen der Pferdebohne (*Vicia Faba*) mit KO versetzt, so tritt eine schön rothe Färbung in allen Parenchymen auf. Dasselbe findet Statt auf Zusatz von Ammoniak. Die Gefässbündel nehmen diese

Färbung nicht an. Auf Zusatz von Eisensalzen findet schnell eine Schwärzung Statt, die in das Grünlichgraue spielt. Besonders an sehr jungen Keimen sind diese Färbungen intensiv genug, um unter starker Vergrößerung an einzelnen Zellen erkannt zu werden. Nach der Einwirkung von Eisensalzen findet man neben der dunkeln Flüssigkeit schwarze Niederschlagskörnchen in den Zellen. Somit ist kein Zweifel, dass hier ein Gerbstoff durch alle Parenchymzellen verbreitet ist. Als ich an Schnitten der Pferdebohne andere Reagentien probirte, zeigte es sich, dass ein Tropfen Barytwasser nach einiger Zeit in allen Zellen eine tief bläulichgraue Färbung verursachte. Taf. II, Fig. 10 stellt ein Stückchen des Querschnittes aus einem Keimstengel der Pferdebohne nach längerem Liegen in Barytwasser dar, bei dreihundertmaliger Vergrößerung. Die Zellen der Oberhaut und des Rindenparenchyms enthalten einen aus schwarzblauen Körnern bestehenden Niederschlag neben einer bläulichgrauen Flüssigkeit. Diese Reaction auf Baryt, zusammengehalten mit denen auf KO, Ammoniak und Eisensalze macht es mehr als wahrscheinlich, dass man es hier mit Gallussäure zu thun hat, welche bekanntlich auch in anderen Pflanzen von den Chemikern nachgewiesen worden ist.

Von ganz besonderem Interesse ist das Verhalten des Gerbstoffes in den keimenden Eichen; hier färben sich sogar die Cambiumzellen mit KO sehr intensiv roth, mit Eisensalzen intensiv schwarz. Es ist gewiss, dass hier der Gerbstoff zugleich mit Eiweissstoffen in denselben Zellen und zwar in bedeutender Menge enthalten ist.

Erklärung der Abbildungen.

Tafel I.

- Fig. 1. Längsschnitt aus einem nicht ganz reifen Samen von *Zea Mais* mit CuOSO_3 und KO behandelt.
- „ 2. Dasselbe in KO gekocht.
- „ 3. Ein Stück der Keimpflanze von *Zea Mais* mit CuOSO_3 und kochendem KO behandelt.
- „ 4. Querschnitt des Vorigen bei $\alpha \alpha$, ebenso.
- „ 5. Zellen aus dem Stengel von Fig. 3 bei 300maliger Vergrößerung.
- „ 6. Querschnitt aus dem Keimstengel von Fig. 3, sowie dieses behandelt.
- „ 7. Querschnitt der Wurzel einer etwas älteren Maiskeimpflanze, ebenso.
- „ 8. Längsschnitt aus einem der oberen Stengelglieder einer beinahe reifen Maispflanze; mit CuOSO_3 und kochendem KO behandelt.
- „ 9. Ebenso behandelter Querschnitt aus derselben Gegend.
- „ 10. Ein Stück von Fig. 6, bei 300maliger Vergrößerung.
- „ 11. Querschnitt aus dem Griffel der weiblichen Kürbisblüthe mit CuOSO_3 und kaltem KO.
- „ 12. Dasselbe mit kochendem KO.
- „ 13. Querschnitt durch die Stamina der männlichen Kürbisblüthe mit CuOSO_3 und kochendem KO.
- „ 14. Querschnitt durch die Rinde eines blühenden Kürbiszweiges mit CuOSO_3 und kaltem KO, 300mal vergrößert.
- „ 15. Querschnitt aus dem Keimstengel von *Phaseolus multiflorus* mit CuOSO_3 und kochendem K.
- „ 16. Querschnitt durch den oberen Theil der Wurzel desselben Keimes, ebenso.
- „ 17. Spitze der Hauptwurzel desselben Keimes, ebenso.
- „ 18. Querschnitt durch den unteren fadenförmigen Theil der Hauptwurzel eines älteren Keimes von *Phaseolus multiflorus*, mit CuOSO_3 und kaltem KO behandelt.
- „ 19. Bastzellen des vorigen, 300mal vergrößert.
- „ 20. Keim von *Phaseolus multiflorus*, der rechte Kotyledon ist weggenommen.
- „ 21. Querschnitt bei a des Vorigen, mit KO behandelt, dann mit Essigsäure neutralisirt und mit Jod versetzt.
- „ 22. Ebenso behandelter Längsschnitt durch die Terminalknospe eines älteren Bohnenkeimes.

- Fig. 23. Querschnitt durch ein Plumularblatt eines ähnlichen Keimes, ebenso.
 „ 24. Querschnitt aus dem Stengel über dem Kotyledon einer mehrblättrigen Bohnenpflanze, mit KO, Essigsäure und Jod behandelt; 300mal vergrössert.

Tafel II.

- Fig. 1. Längsschnitt der Keimwurzel einer essbaren Kastanie, mit Eisenvitriol behandelt.
 „ 2. Längsschnitt durch das Endosperm und den Keim von *Pinus pinea*, mit Eisenvitriol.
 „ 3. Querschnitt durch den Keimstengel eines Pinienkeimes, welcher oben die Samenschale abstreifte, mit Eisenvitriol.
 „ 4. Ein Theil des vorigen bei 300maliger Vergrösserung.
 „ 5. Längsschnitt durch die Terminalknospe desselben Keimes nach längerem Liegen in KO.
 „ 6. Längsschnitt eines Keimes von *Helianthus annuus*, nach längerem Liegen in KO.
 „ 7. Querschnitt des Vorigen bei *a*, mit KO und Jod behandelt.
 „ 8. Mark, Gefässbündel-Kreis und Rindentheil eines Querschnittes aus der Wurzel eines wenig älteren Sonnenrosenkeimes; mit KO, Essigsäure und Jod. Alles Gelbe ist Kalireaction, alles Blaue Stärke und das Braune Jodreaction eines eigenthümlichen Eiweisstoffes; (*ab*) 300mal vergrössert.
 „ 9. Zellen aus einem Längsschnitt bei *x* des Vorigen, mit dem im Zwischenzellraum enthaltenen durch KO gerötheten Öl; 300mal vergrössert.
 „ 10. Rindentheil im Querschnitt des Stengels einer Keimpflanze von *Vicia Faba*, nach längerem Liegen in Barytwasser; 300mal vergrössert.

Bedeutung der Buchstaben bei den Figuren.

<i>a</i> Eiweisstoff,	<i>m</i> Mark,
<i>b</i> Bast,	<i>r</i> Rinde,
<i>c</i> Cauliculus,	<i>s</i> Spaltöffnung,
<i>a</i> Cambium,	<i>st</i> Stärkezellen,
<i>e</i> Endospermum,	<i>sp</i> Stipula,
<i>p</i> Epidermis,	<i>sg</i> Spiralgefässe,
<i>g</i> Gefässe,	<i>wh</i> Wurzelhaube,
<i>b</i> Gerbstoffzellen,	<i>zk</i> Zellenkerne im Parenchym von <i>Vicia</i>
<i>h</i> Holzzellen,	<i>Faba</i> , sie sind mit Barytwasser
<i>k</i> Kotyledon,	geschwärzt worden.

Erklärung der Farben.

Auf Tafel I, Fig. 1 bis Fig. 19 bedeutet:

Violet, Färbung der Eiweisstoffe mit CuOSO_3 und KO.

Blau in Fig. 8, 9, Rohrzucker mit CuOSO_3 und KO.

„ „ „ 1 und 11 lösliche Kohlenhydrate mit CuOSO_3 und KO.

36 Sachs. Über einige neue mikroskopisch-chemische Reactionsmethoden.

Blau in Fig. 3, 4, 6, 7, 10, 13, 14, 18, 19, Färbung der Zellhäute mit CuOSO_3 und KO.

Zinnoberroth, das in den Zellen niedergeschlagene Cu_2O .

Auf Tafel I, Fig. 21 bis 24 und auf Tafel II überall bedeutet:

Reines Blau, Stärke mit Jod.

Schwarzblau, Gerbstoff mit Eisenvitriol.

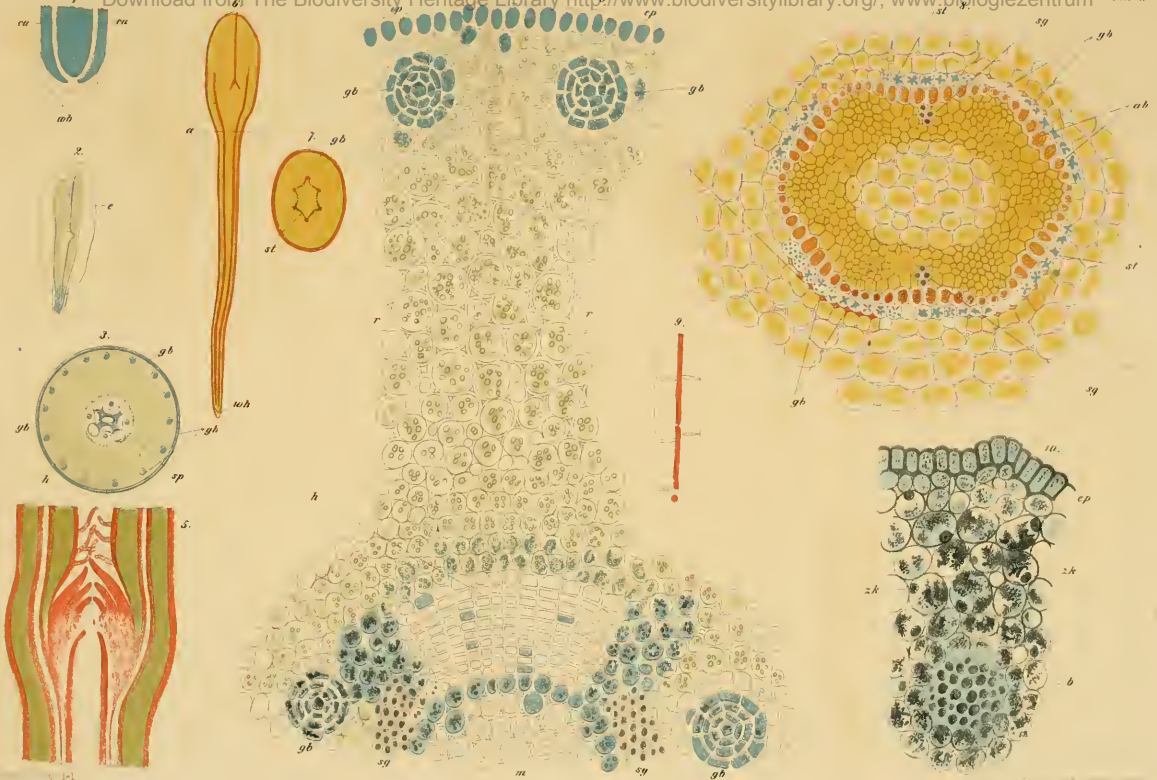
Zinnoberroth, Gerbstoff mit KO.

Grün, Chlorophyll.

Gelb, in Fig. 6, 7, 8 auf Tafel II, Gerbstoff mit KO.

Graublau in Fig. 10, Tafel II, Gallussäure (?) mit Baryt.





ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Sitzungsberichte der Akademie der Wissenschaften mathematisch-naturwissenschaftliche Klasse](#)

Jahr/Year: 1859

Band/Volume: [36](#)

Autor(en)/Author(s): Sachs Julius

Artikel/Article: [Über einige neue mikroskopisch- chemische Reactionsmethoden. \(Mit 2 Tafeln\). 5-36](#)