

ausserdem noch Folgendes zu sagen. Das Blatt ist centrisch gebaut und besteht in seiner ganzen Dicke aus Pallisadengewebe, das durch seine blasebalgartig gefalteten Seitenwände auf Wasserspeicherung hindeutet. Die beiderseitigen Epidermisplatten sind gleich beschaffen und tragen zahlreiche Spaltöffnungen, welche, wie bei der nächst verwandten Gattung *Dobera* und bei *Azima*¹⁾, von mehreren gewöhnlichen Epidermiszellen umstellt sind. Die Holzstructur zeigt dieselben Verhältnisse, wie bei den übrigen Salvadoraceen: Gefässe mit einfachen Durchbrechungen und mit Hoftüpfelung auch in Berührung mit Parenchym, einfach getüpfelte Holzfasern, dann auch zum Theil etwas breitere (bis vierreihige) Markstrahlen und ziemlich reichlich entwickeltes Holzparenchym. Der äussere Weichbast ist in ansehnlicher Menge ausgebildet.

München, K. botanisches Museum, October 1896.

45. E. Zacharias: Ueber einige mikrochemische Untersuchungsmethoden.

Eingegangen am 23. October 1896.

In der Zeitschrift für physiologische Chemie (Bd. XXI) hat neuerdings HEINE eine Arbeit unter dem Titel „Die Mikrochemie der Mitose, zugleich eine Kritik mikrochemischer Methoden“ publicirt. Ausgehend von Untersuchungen LILIENFELD's²⁾ behandelt HEINE die Frage, ob etwa in den „mitotischen Kernschleifen“ freie, im ruhenden Kerngerüste hingegen gebundene Nucleinsäure vorkomme, und unterwirft dabei die verfügbaren mikrochemischen Untersuchungsmethoden einer Kritik. Bei der Besprechung der Färbungsmethoden betont HEINE mit Recht, dass die Vorbehandlung der Objecte einen wesentlichen Einfluss auf den Ausfall der Färbung haben kann. Dass es erforderlich ist, diese Thatsache noch immer wieder zu betonen, kann allerdings erstaunlich erscheinen, indessen werden irriger Weise nicht selten, wenn es sich darum handelt die Vertheilung von Eiweiss, Nuclein etc. im Zellinhalt zu ergründen, ohne Weiteres die Resultate

1) Nur bei *Salvadora* kommen zum Spalte parallele Nebenzellen vor.

2) Ueber die Wahlverwandtschaft der Zellelemente zu gewissen Farbstoffen Verhandl. der physiolog. Gesellsch. zu Berlin, Jahrg. 1892/93, Nr. 11.

differenten Verfahren so mit einander verglichen, als ob diese Verfahren gleichartig wären.

Nach HEINE entsprechen die Angaben über Kernfärbung „durchaus nicht dem Schema, welches man bei einseitiger Berücksichtigung der chemischen Eigenschaften erwarten sollte. So färbte sich nach MIESCHER¹⁾ die dicke Hülle der Spermatozoenköpfe des Rheinlachs (Sitz der Nucleinsäure) durchaus nicht intensiv mit Safranin, Methylgrün u. s. w., wohl aber der Inhalt der Köpfe, welcher kein Nuclein enthält“. Hinsichtlich dieser Angabe MIESCHER's habe ich schon in meiner Mittheilung über Chromatophilie bemerkt²⁾: „Da MIESCHER in seiner kurzen Mittheilung nicht angiebt, wie die Samenfäden vor der Färbung behandelt und in welcher Lösung die Farbstoffe angewendet wurden, diese Dinge aber für das Resultat der hier in Betracht kommenden Färbungen von Wichtigkeit sind, so lassen sich die Angaben MIESCHER's für die Beurtheilung der Färbungsergebnisse anderer Forscher zunächst nicht verwerthen.“ Nunmehr liegen in einer neueren Arbeit MIESCHER's³⁾ nähere Angaben über sein Färbungsverfahren vor: „Behandelt man (sagt MIESCHER) schneeweisses Sperma von einem lebenden Lachs mit einer Flüssigkeit, die 1 pCt. Essigsäure, 9 bis 10 pCt. Glaubersalz und ziemlich viel Methylgrün enthält, so sieht man mit ZEISS' Apochromat 4 mm, Ocul. 12, eine prächtig grüne und scharfe Färbung des Innenraumes, der wie von Smaragd glänzt, während die Hülle (des Spermatozoenkopfes) sich gar nicht oder nur schwach färbt.“

MIESCHER hat demnach ein Verfahren eingeschlagen, welches von dem Verfahren derjenigen Forscher abweicht, welche Methylgrün zum Nachweis von Nuclein benutzen. Das letzteres Verfahren für den Nachweis des Nuclein ungeeignet sei, kann auf Grund der Versuche MIESCHER's nicht behauptet werden; und doch wird das zweifellos von manchen Seiten geschehen.

Methylgrün ist namentlich von CARNOY⁴⁾ für den Nachweis des Nuclein verwendet worden, und zwar in essigsaurer Lösung ohne Zusatz von Glaubersalz. Ebenso habe ich⁵⁾ schon in meiner Arbeit über den Zellkern mitgetheilt, dass in den Kernen von *Phajus*-Wurzeln nach der Behandlung mit künstlichem Magensaft durch Essigsäure-Methylgrün bei bestimmtem Verfahren nur die Nucleinkörper gefärbt werden.

1) Fragments physiologiques sur le saumon du Rhin. Arch. des sciences physiques et naturelles, 3. période, t. XXVIII. Genève, déc. 1892.

2) Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft 1893.

3) Physiologisch-chemische Untersuchungen über die Lachsmilch. Nach den hinterlassenen Aufzeichnungen und Versuchsprotokollen des Autors bearbeitet und herausgegeben von O. SCHMIEDEBERG, Leipzig 1896.

4) La Biologie cellulaire, p. 211. Liège 1884.

5) Ueber den Zellkern. Botan. Ztg. 1882, S. 656.

Neuerdings habe ich die Wirkungsweise von Methylgrün-Essigsäure mit und ohne Zusatz von Glaubersalz einer erneuten Prüfung unterzogen:

Frische Epidermis von *Tradescantia*-Blättern wurde in eine Lösung von Methylgrün eingelegt, welche auf 100 g Wasser 1 g reine concentrirte Essigsäure enthielt. Die Leucoplasten verquollen sofort, während die Kerne nach einiger Zeit ungequollen und gut gefärbt hervortraten. Derselben Behandlung wie die *Tradescantia*-Epidermis wurde frische Epidermis der Blätter von *Leucojum aestivum* unterworfen. Stets färbten sich die nucleinhaltigen Theile der Kerne, während die Nucleolen ungefärbt blieben. Dasselbe Resultat wurde bei der Verwendung von *Leucojum*-Epidermis erzielt, welche 48 Stunden in Alkohol gelegen hatte und darauf in Wasser abgespült worden war. Intensive Färbung der Nucleinkörper, während die Nucleolen farblos blieben, erfolgte sofort nach Zusatz der essigsauren Methylgrünlösung in Epidermisstücken, welche die folgenden Arten der Vorbehandlung erfahren hatten: 1. Frisch 24 Stunden Salzsäure von 0,3 pCt., in Wasser abgespült, oder 24 Stunden absoluten Alkohol. 2. 48 Stunden Alkohol, 24 Stunden Salzsäure 0,3 pCt., in Wasser abgespült, oder 24 Stunden Alkohol abs. 3. Frisch 24 Stunden künstlicher Magensaft bei Zimmertemperatur, in Wasser abgespült, oder 24 Stunden Alkohol. 4. 48 Stunden Alkohol, 24 Stunden künstlicher Magensaft bei Zimmertemperatur, in Wasser abgespült, oder 24 Stunden Alkohol.

Frische Epidermisstücke der Blätter von *Platanthera bifolia* zeigten, nachdem sie mit Salzsäure 0,3 pCt. und darauf mit Alkohol behandelt worden waren, in Essigsäure-Methylgrün von der vorerwähnten Concentration intensive Färbung der Nucleinkörper. Ebenso verhielt sich die Blattepidermis von *Orchis latifolia* (Alkoholmaterial).

Durchaus abweichende Resultate wurden mit einer Methylgrünlösung erzielt, welche auf 100 g Wasser 1 g reine concentrirte Essigsäure und 10 g Glaubersalz enthielt.

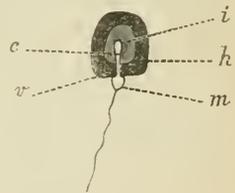
Nach dem Eintragen frischer Epidermis von *Tradescantia virginica* in die genannte Lösung färbten sich zuerst die Kerne lebhaft grün, während die Leucoplasten farblos erschienen; bald aber wurden die Kerne tief blau, fein granulirt, und die Leucoplasten färbten sich gleichfalls blau. Nun erfolgte eine Quellung im Kern, die Granulirung verschwand. Während die Nucleolen deutlich hervortraten, verbreitete sich in der Umgebung des Kernes eine bläuliche Färbung, als ob gefärbte Substanz sich vom Kern aus in der Zelle verbreitete. Schliesslich erkannte man im Kern ein sehr substanzarmes, zartes Gerüst, in welchem die Nucleolen lagen. Das Gerüst war wie die Nucleolen, Leucoplasten und das Zellplasma blau gefärbt, die Maschenräume des Gerüstes waren farblos, in einzelnen Kernen von einer hellgrünen, homogenen Substanz erfüllt. Ein anderes Verhalten als die frische

Epidermis zeigte Alkoholmaterial, wenn es nach dem Abspülen mit Wasser in die Farblösung eingetragen wurde. Hier fand an den Kernen keine oder doch nur eine geringfügige Quellung statt. Nach längerer Einwirkung der Lösung waren die Kerngranulationen grünblau gefärbt, die Nucleolen, Leucoplasten und das Zellprotoplasma rein blau.

Blattepidermis von *Leucojum aestivum*, frisch in die Lösung eingetragen, zeigte ein ähnliches Verhalten wie die *Tradescantia*-Epidermis. Die Nucleinkörper quollen, das Kerninnere wurde homogen und färbte sich zunächst schön grün. Die Nucleolen blieben jedoch ungequollen. Dieselben Resultate ergab das Einlegen der Blattepidermis von *Leucojum* in eine Methylgrünlösung, welche auf 89 g Wasser 1 g reine concentrirte Essigsäure und 10 g Glaubersalz enthielt.

Blattepidermis von *Orchis latifolia*, welche 6 Wochen in Aether-Alkohol gelegen hatte, wurde mit Wasser abgespült und dann in eine Methylgrünlösung gebracht, welche auf 100 g Wasser 1 g Essigsäure enthielt. Die Nucleinkörper färbten sich schön grün, ohne zu quellen, während der Nucleolus sich nicht färbte. Nun wurde eine glaubersalz-haltige Methylgrünlösung zugesetzt. Darauf quollen die Nucleinkörper, wobei sich ihre Färbungsintensität nicht wahrnehmbar verminderte, die Nucleolen hingegen quollen gar nicht.

Längere Zeit in Alkohol aufbewahrte, aus dem lebenden Fisch gewonnene reife Spermatozoen des Rheinlachs zeigten bei der Behandlung mit Methylgrünlösungen Folgendes: In einer Lösung, welche auf 100 g Wasser 1 g reine concentrirte Essigsäure enthielt, färbten sich die „dicken Hüllen“ der Köpfe [*h* in dem nebenstehenden Holzschnitt¹⁾] sehr schön ohne zu quellen. Schwanz, Mittelstück (*m*), sowie der schmale, die Hülle durchsetzende Verbindungsstrang (*v*), welcher vom Mittelstück bis zum Innenraum²⁾ (*i*) reicht, färbten sich nicht, ebenso wenig der Innenraum. Auf Zusatz einer Methylgrünlösung, welche in 100 g Wasser 1 g reine concentrirte Essigsäure und 10 g Glaubersalz enthielt, quollen die Hüllen sofort stark, und die Intensität der Färbung verminderte sich. Die Schwänze quollen nicht; auch schien es, als ob eine äusserst zarte, nicht gequollene Haut die Köpfe umgäbe. Dasselbe Verhalten wurde an Spermatozoen beobachtet, welche direct in die



1) Der Holzschnitt ist eine Copie einer Figur MIESCHER's. (Die Spermatozoen einiger Wirbelthiere. S.-A. aus Verhandl. der Naturf. Gesellsch. in Basel, VI. Heft I, 1874, Fig. II b). Letztere wurde nach Präparaten entworfen, welche nach mehrstündiger Einwirkung von Goldchlorid ($\frac{1}{2}$ pCt.) dem Lichte ausgesetzt worden waren.

2) Der Innenraum enthält noch ein besonderes Gebilde, das „Centralstäbchen“ (*c*) MIESCHER's.

obige Lösung oder in eine Methylgrünlösung, welche auf 89 *g* Wasser 1 *g* reine concentrirte Essigsäure und 10 *g* Glaubersalz enthielt, eingetragen worden waren.

Die Kopfhüllen der Lachsspermatozoen, welche nach MIESCHER (Fragments physiologiques etc. l. c.) das Nuclein der Samenfäden enthalten, verhalten sich demnach gegen Methylgrünlösungen, insoweit das untersucht worden ist, im Wesentlichen ebenso wie diejenigen Theile der Zellkerne, welche auf Grund ihres gesammten Verhaltens gegen Reagentien als nucleinhaltig zu bezeichnen sind. Frisches Sperma wird noch zu vergleichen sein, namentlich unter Berücksichtigung der Ausführungen SCHMIEDEBERG's auf Seite 50 (l. c.).

Im Anschluss an seine Mittheilung über die Einwirkung von Methylgrün auf Lachssperma bemerkt MIESCHER: „Dass nach dem Behandeln der Lachsspermatozoen mit Salzsäure auch die Hülle derselben die gewohnten Kernfarbstoffe wieder aufnimmt, wie ZACHARIAS findet, ist ein schlechter Trost für diejenigen Histologen, welche die elective Beziehung zu den genannten und noch anderen Farbstoffen ohne Weiteres als directe und sichere Reactionen auf Nucleinkörper zu betrachten pflegen, denn wie viele Tinctionspräparate vertragen es, bis zur Erschöpfung mit Salzsäure behandelt zu werden.“ Der Schlusssatz ist nicht verständlich. Dass nach dem Behandeln der Lachsspermatozoen mit Salzsäure die Hülle derselben die gewohnten Kernfarbstoffe wieder aufnimmt, habe ich nicht gesagt, sondern lediglich, dass die Hülle sich nach dem Behandeln mit Salzsäure von bestimmter Concentration mit Methylenblau besonders intensiv färbt¹⁾. Selbstverständlich betrachte ich ebenso wenig wie MIESCHER „die elective Beziehung zu den genannten und anderen Farbstoffen ohne Weiteres als directe und sichere Reactionen auf Nucleinkörper“, wohl aber bin ich auf Grund der von mir ausführlicher mitgetheilten Thatsachen der Meinung, dass sich unter gleichzeitiger Berücksichtigung anderer Reactionen bestimmte Färbungsreactionen bei Untersuchungen über die Vertheilung des Nucleins in den Geweben verwerthen lassen.

Die Lösung der vielfach (auch jüngst noch wieder von HEINE) discutirten Frage, ob die in Rede stehenden Färbungsvorgänge als chemische im gewöhnlichen Sinne des Wortes zu bezeichnen sind oder nicht, ist an sich ja von wesentlichem Interesse, für die Beurtheilung der Brauchbarkeit der Färbungsreactionen in dem von mir präcisirten Sinne aber ohne Bedeutung.

Die Einwirkung einer Vorbehandlung der Objecte mit verdünnter Salzsäure auf das Färbungsergebnis ist auch von HEINE geprüft worden. „Behandlung der Schnitte mit Salzsäure 0,3 pCt. (sagt HEINE) für

1) E. ZACHARIAS, Ueber Chromatophilie. Ber. der Deutschen Botan. Gesellsch. Bd. XI, S. 190, 1893.

12 bis 15 Stunden bewirkte nach meinen Beobachtungen durchaus nicht, wie ZACHARIAS angiebt, eine erhöhte Empfänglichkeit des Chromatins für basische Farbstoffe, sondern setzte in sämtlichen chromatischen Substanzen die Farbenreactionen wesentlich herab.“ „Selbstverständlich müssen die Schnitte nach Behandlung mit den betreffenden Agentien gründlichst in destillirtem Wasser ausgewaschen werden, geringe Mengen zurückgehaltener Säuren oder Alkalien erhöhen die Tingirbarkeit.“ Von basischen Farbstoffen im Allgemeinen habe ich nicht gesprochen, sondern lediglich von Methylenblau. Dass bei meinem Verfahren gründliches Auswaschen mit destillirtem Wasser nicht erfolgte, hätte HEINE aus meiner Mittheilung ersehen können. Würde HEINE seine Objecte genau ebenso behandelt haben wie ich die meinigen, so würde er wahrscheinlich auch dieselben Resultate erzielt haben wie ich. Uebrigens muss hier betont werden, dass HEINE's Fragestellung eine andere ist als die meinige. Mir kam es darauf an zu untersuchen, ob ein bestimmtes Farbstoffgemisch, in bestimmter Weise verwendet, zur Erkennung der Nucleinvertheilung in der Zelle verwerthet werden könne. Nur nebenbei habe ich die Vermuthung ausgesprochen¹⁾, „die intensivere Färbung des mit Säure vorbehandelten Sperma könne möglicher Weise damit zusammenhängen, dass die Salzsäure das Protamin aus den Samenfäden entfernte, so dass die in die Farbstofflösung eingetragenen Spermatozoen freie Nucleinsäure enthielten“²⁾.“ Für HEINE hingegen steht die Frage im Vordergrund, ob besonders intensive Methylenblaufärbung auf freie Nucleinsäure hindeutet oder nicht. Nach HEINE erhöhen geringe Mengen zurückgehaltener Säure die Tingirbarkeit; er wäscht daher, um seine Frage zu entscheiden, „gründlichst“ in destillirtem Wasser aus. Dann ist die Tingirbarkeit seiner Objecte wesentlich herabgesetzt. Inwieweit aber diese Herabsetzung durch die Säurebehandlung bewirkt wurde oder durch Veränderungen, welche die gründliche Wasserbehandlung (abgesehen von der Entfernung der etwa zurückgehaltenen Säure) herbeiführte, steht nicht fest.

Die Wirkungsweise des schon früher von mir verwendeten Gemisches von Methylenblau und Fuchsin S habe ich einer erneuten Prüfung unterzogen und dabei die folgenden, meine früheren Resultate theils bestätigenden, theils ergänzenden Ergebnisse erhalten:

Aus dem lebenden Fisch gewonnenes, längere Zeit in Alkohol aufbewahrtes reifes Lachssperma wurde auf 20 Stunden in Salzsäure von 0,3 pCt. eingelegt und dann nach kurzem Verweilen in absolutem Alkohol in der Methylenblau-Fuchsin-S-Mischung untersucht. Die

1) Ueber Chromatophilie l. c. S. 190.

2) Vergl. E. ZACHARIAS, Ueber die chemische Beschaffenheit von Cytoplasma und Zellkern. Ber. der Deutschen Botan. Gesellsch., Bd. XI, S. 299, 300.

Köpfe färbten sich rasch intensiv leuchtend blau, die Schwänze rein roth. Bei guter Beleuchtung und sorgfältiger Einstellung erkannte man im Innern der Köpfe eine nicht gefärbte Partie. Es waren nur die nucleinhaltigen Hüllen blau gefärbt worden. In einer gleichzeitig unter demselben Deckglase befindlichen Probe des nicht mit Salzsäure behandelten, in Alkohol aufbewahrten Sperma färbten sich die Köpfe sehr viel blasser, die Schwänze gar nicht. Nach zweistündiger Einwirkung der Farblösung waren die Färbungsunterschiede des mit Säure vorbehandelten und des nicht mit Säure vorbehandelten Materiales noch dieselben. Auswaschen des Säurematerials mit destillirtem Wasser vor der Färbung verhinderte das Eintreten einer intensiven Blaufärbung der Köpfe nicht. Ein kleines Quantum mit Salzsäure behandelten Spermas wurde in ein grösseres, mit destillirtem Wasser gefülltes Gefäss gebracht. Das Wasser wurde nach 5 Stunden, sodann nach 20, 24, 48 und 24 Stunden gewechselt. Nach jedem Wasserwechsel erfolgte ein Färbungsversuch an einer dem Material entnommenen Probe. Stets färbten sich die Hüllen der Köpfe intensiv blau. Nach dem vorletzten Wasserwechsel war eine Rothfärbung der Schwänze nicht mehr zu erkennen. Spermaproben, welche nach dem zweiten und dritten Wasserwechsel auf feuchtes blaues Lakmuspapier aufgetragen wurden, hinterliessen einen schwach rothen Fleck. Nach dem dritten und vierten Wasserwechsel aufgetragene Proben veranlassten eine sehr schwache Röthung. Da sich zahlreiche Bacterien einstellten, wurde das Auswaschen nicht weiter fortgesetzt. Uebrigens ist es unsicher, ob die andauernd schwach saure Reaction des mit Salzsäure behandelten Sperma von geringen Mengen zurückgehaltener Salzsäure herrührte oder von Verbindungen, welche während der lang andauernden Wasserbehandlung aus dem Sperma in Lösung gingen. Die Untersuchung der Blattepidermen von *Orchis latifolia*, *Platanthera bifolia*, *Tradescantia virginica* und *Leucojum aestivum* ergab, dass diejenigen Zellbestandtheile, welche in ihren sonstigen Reactionen sich an die Kopfhüllen der Lachsspermatozoen anschliessen, auch hinsichtlich der Färbung ein gleiches Verhalten wie die letzteren zeigen.

Blattepidermis von *Orchis latifolia* gelangte auf einige Tage in absoluten Alkohol. Ein Theil des Materiales wurde nun auf 20 Stunden in Salzsäure 0,3 pCt. eingelegt und darauf wieder in absoluten Alkohol gebracht. Bei gleichzeitiger Untersuchung des lediglich mit Alkohol und des ausserdem mit Säure behandelten Materials in Methylenblau-Fuchsin S-Lösung färbten sich im Säurematerial Zellprotoplasma, Leucoplasten und Nucleolen sofort intensiv roth, darauf die Nucleinkörper der Zellkerne blau. In derselben Zeit färbten sich in dem lediglich mit Alkohol behandelten Materiale die Nucleinkörper sehr schwach blau, alles sonstige blieb farblos.

Blattepidermis von *Platanthera bifolia* wurde frisch auf 20 Stunden

in Salzsäure 0,3 pCt. eingetragen und gelangte dann successive auf kurze Zeit in Wasser, Methylenblau-Fuchsin S, Alkohol, Xylol und Canada-Balsam. Die Nucleinkörper waren nunmehr schön blau, der sonstige plasmatische Zellinhalt gefärbt.

Ein Theil des mit Säure behandelten Materiales von *Platanthera* gelangte in Alkohol, ein anderer in destillirtes Wasser, letzteres wurde zunächst nach 4, dann nach 20 Stunden gewechselt. Eine Abnahme in der Tinctionsfähigkeit der Nucleinkörper des mit Wasser behandelten Materiales dem Alkoholmaterial oder dem sofort nach der Säurewirkung gefärbten gegenüber konnte nicht festgestellt werden.

Die Färbung der auf verschiedene Weise vorbehandelten Blattepidermis von *Leucojum aestivum* verhielt sich unmittelbar nach dem Einlegen in Methylenblau-Fuchsin S-Lösung wie folgt:

1. Alkohol, in Wasser ab gespült. Nucleinkörper schwach blau, alles andere farblos.

2. Frisch 24 Stunden Salzsäure 0,3 pCt., in Wasser ab gespült. Nucleinkörper intensiv blau, alles sonstige roth.

3. Frisch 24 Stunden Salzsäure 0,3 pCt., 24 Stunden Alkohol. Färbungsergebnis wie bei 2. Verhalten der Nucleolen innerhalb des intensiv blau gefärbten Kernes nicht sicher zu erkennen.

4. 48 Stunden Alkohol, 24 Stunden Salzsäure 0,3 pCt., in Wasser ab gespült, oder nach der Salzsäurebehandlung 24 Stunden Alkohol. Nucleinkörper intensiv blau, alles andere, besonders die Nucleolen, intensiv roth.

5. Frisch 24 Stunden künstlicher Magensaft, in Wasser ab gespült. Nucleinkörper intensiv blau, Nucleolarreste nicht kenntlich, Plasma kaum hellroth.

6. Frisch 24 Stunden künstlicher Magensaft, 24 Stunden Alkohol. Nucleinkörper, Nucleolarreste, Plasma blau.

7. 48 Stunden Alkohol, 24 Stunden künstlicher Magensaft, in Wasser ab gespült. Nucleinkörper intensiv blau. Nucleolarreste schwach blau mit röthlichem Schimmer. Plasma hellrosa.

8. 48 Stunden Alkohol, 24 Stunden künstlicher Magensaft, 24 Stunden Alkohol. Nucleinkörper intensiv blau, Nucleolarreste nicht kenntlich. Dickere Plasmaansammlungen deutlich roth.

Blattepidermis von *Tradescantia virginica* (Alkoholmaterial), welche auf 24 Stunden in 0,3procentige Salzsäure und darauf in Alkohol eingelegt worden war, zeigte das folgende Verhalten gegen das Farbstoffgemisch:

Gelangten die Epidermisstücke nach dem Abspülen mit Wasser in das Gemisch, so färbten sich sofort Zellprotoplasma, Leucoplasten und Nucleolen roth, und zwar letztere besonders intensiv. Die Nucleinkörper blieben zunächst farblos, um sich dann blau zu färben. Nach

24stündigem Verweilen von Epidermisstücken in der Farbstoffmischung war der ganze Zellinhalt blau gefärbt, am intensivsten die Nucleinkörper und Nucleolen; die Leucoplasten hatten noch einen röthlichen Schimmer. Nach kurzem Auswaschen mit Alkohol erschienen dann Zellplasma und Leucoplasten sofort roth, während die Nucleinkörper und Nucleolen ihre blaue Färbung bewahrten. Längeres Auswaschen bewirkte keine weitere Veränderung.

In einer vor kurzem erschienenen Arbeit „Ueber die chemische Zusammensetzung des Zellkerns“ untersucht ZIMMERMANN¹⁾ bei 28 verschiedenen Species das Resultat eines bestimmten, ziemlich complicirten Färbungsverfahrens mit einer Mischung von Fuchsin und Jodgrün. Meist färbten sich die Chromatinkörper der Zellkerne grün, in vereinzelten Fällen aber roth. So z. B. im Blatt von *Primula sinensis*. „Die Kerne enthalten hier einen rothen Nucleolus und eine Anzahl grosser, der Kernwandung anliegender Klümpchen. Diese sind niemals grün gefärbt, sondern roth-violett oder fast rein roth, so dass sie sich vom Nucleolus nur äusserst wenig unterscheiden.“ Als ich einen Querschnitt des Blattes frisch in Salzsäure 0,3 pCt. untersuchte, zeigten die der Kernwandung anliegenden Klümpchen das scharf umschriebene, glänzende Aussehen, welches Nuclein haltigen Körpern nach der Behandlung mit verdünnter Salzsäure eigenthümlich ist. An Schnitten, welche 20 Stunden in der verdünnten Säure gelegen hatten, darauf successive auf kurze Zeit in Wasser, Methylenblau-Fuchsin S, absoluten Alkohol, Xylol gebracht und schliesslich in Canadabalsam eingeschlossen worden waren, traten die „Klümpchen“ intensiv blau gefärbt hervor, die sonstigen plasmatischen Inhaltsbestandtheile der Zellen hatten schöne rothe Färbung angenommen. Die Kerne der Pallisadenzellen entsprachen genau der Figur 27 von ZIMMERMANN, nur dass die „Klümpchen“ intensiv blau gefärbt waren.

Dass bei *Primula sinensis* und einigen anderen Pflanzen nach Anwendung des ZIMMERMANN'schen Verfahrens die Chromatinkörper sich anders färben als bei den meisten untersuchten Arten, kann damit zusammenhängen, dass vielleicht diejenigen Chromatinkörper, welche sich roth färben, ausser dem Nuclein (auf dessen Vorhandensein die angeführten Reactionen hinweisen²⁾) andere Stoffe enthalten, als diejenigen Chromatinkörper, welche grüne Färbung annehmen. Von den drei möglichen Erklärungen, welche ZIMMERMANN für das differente Verhalten der Chromatinkörper anführt, würde die von Z. unter 3. mitgetheilte, der in den vorstehenden Sätzen enthaltenen entsprechen.

1) Zeitschrift für wissensch. Mikroskopie, Bd. XII.

2) In Betreff der Angaben ZIMMERMANN's über *Ricinus communis* vergleiche E. ZACHARIAS, Ueber das Verhalten des Zellkerns in wachsenden Zellen, Flora 1895, Ergänzungsband, S. 229).

„Weitere Widersprüche (sagt HEINE bei seiner Besprechung der Färbungsreactionen) finden sich zwischen LILIENFELD und ZACHARIAS. Nach ersterem färbt sich durch Alkohol gefälltes Eieralbumin garnicht, nach letzterem jedoch rein roth (Fuchsin S).“

Dass LILIENFELD ein anderes Färbungsergebnis erhielt als ich, liegt meiner Meinung nach daran, dass er sein Eiweiss-Präparat in anderer Weise hergestellt haben wird, als ich das meinige. Bei Färbungsversuchen mit Hühnereiwass, welches durch Alkohol gefällt worden ist, muss man darauf Rücksicht nehmen, dass das Coagulat alkalisch reagirende, in Wasser lösliche Stoffe enthält, welche nachweislich verändernd auf Farbstoffe wie Fuchsin S und Methylenblau einwirken.

Der Umstand, dass sich die Zellbestandtheile nach verschiedenartiger Vorbehandlung gegen dieselben Farbstoffe verschiedenartig verhalten können, wird wahrscheinlich manche Autoren immer wieder veranlassen, vor der Verwendung der Färbungsreactionen überhaupt zu warnen, da man äusserst vorsichtig bei ihrer Verwendung und der Beurtheilung der gewonnenen Resultate sein müsse. Dem ist entgegenzuhalten, dass vorsichtiges Arbeiten und sorgfältige Ueberlegung bei der Beurtheilung der erzielten Beobachtungsergebnisse überhaupt bei jeder wissenschaftlichen Arbeit geboten sind.

Ausser den Färbungsreactionen hat HEINE noch einige Reactionen mit Lösungsmitteln nachgeprüft.

Hinsichtlich der Wirkungsweise von Pepsinsalzsäure bemerkt HEINE: „Schon nach 1—1½ stündiger Verdauung bei 40° C. sind Salamander-Spermatozoenköpfe und Mitosen völlig ausgelaugt“. Von den Chromosomen sollen nur die Plastinhüllen zurückbleiben. Leider theilt HEINE nicht mit, wie er seine Pepsinsalzsäure dargestellt hat¹⁾. Bei den in grosser Anzahl von mir angestellten und beschriebenen Verdauungsversuchen fand ein Herauslösen des Nuclein aus den Chromatinkörpern

1) Ueberhaupt wäre eine eingehendere Behandlung des Stoffes an der Hand der vorhandenen Litteratur erforderlich gewesen. Der Mangel an exacter Behandlung der Litteratur hat sich namentlich auf dem Gebiete der Zellchemie als ein Hemmniss des Fortschrittes erwiesen. Auch WALDEYER's zusammenfassende Darstellung (Die neueren Ansichten über den Bau und das Wesen der Zelle. Deutsche medicinische Wochenschrift, 1835), welche voraussichtlich von vielen, die nicht in der Lage sind, die Litteratur im Einzelnen zu verfolgen, benutzt werden wird, um sich über den gegenwärtigen Stand der Kenntnisse zu orientiren, ist hinsichtlich der Chemie des Kernes mangelhaft. — Das Gleiche gilt von den Büchern HENNEGUY's (Leçons sur la Cellule. Paris, 1896) und DIPPEL's (Anwendung des Mikroskopes auf die Histiologie der Gewächse. 2. Aufl. Braunschweig 1896.) Bezüglich der von DIPPEL ausführlich behandelten SCHWARZ'schen Angaben vergl. die durchaus zutreffende Kritik von ZIMMERMANN in seiner Arbeit: „Ueber die chemische Zusammensetzung des Zellkerns“. (Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie und für mikroskopische Technik. Bd. XII. S. 460, 473, 1896.)

nicht statt. Nach Einwirkung der Verdauungsflüssigkeit traten bei meinen Versuchen die nucleinhaltigen Theile des Kernes stets ungewöhnlich scharf im mikroskopischen Bilde hervor¹⁾.

Ob etwa die von den meinigen abweichenden Angaben HEINE's mit einer abweichenden Art der Versuchsanstellung seinerseits zusammenhängen, bleibt zu untersuchen. Dass die chromatischen Theile der Kerne des Salamanders sich gegen künstlichen Magensaft wesentlich anders verhalten als die entsprechenden Theile der Kerne aller anderen bisher näher untersuchten Organismen ist (namentlich unter Berücksichtigung meiner Untersuchung der Spermatozoen von *Triton cristatus*²⁾) durchaus nicht wahrscheinlich.

HEINE's Mittheilungen über das Verhalten der Kerne gegen Salzsäure (Conc. 4 : 3) entsprechen meinen früheren Angaben.

46. Arthur Meyer: Das Vorkommen von Plasmaverbindungen bei den Pilzen.

Eingegangen am 25. October 1896.

Ich habe mich in letzter Zeit eingehend mit den Plasmaverbindungen beschäftigt. Ich war der Meinung, dass die bisherigen Untersuchungen nicht dafür genühten, den Beweis zu liefern, dass die als Plasmaverbindungen beschriebenen Gebilde thatsächlich aus Protoplasma beständen, und dass die Verbreitung der Plasmaverbindung eine allgemeine sei. Im Laufe meiner Untersuchungen, von denen ein Theil im Decemberhefte der Botanischen Zeitung erscheinen soll, bin ich jedoch zur Ueberzeugung gelangt, dass die beiden von mir anfangs bezweifelte Annahmen richtig sind, wenn auch mancherlei bisher zu ihrer Begründung herbeigezogene Thatsachen unrichtig oder nicht beweisend erscheinen. Ich glaube jetzt, dass der Satz zutrifft, dass jedes intensive correlative Arbeiten zahlreicher Zellen den Zusammenhang des Cytoplasmas der Einzelzellen voraussetzt, dass im Allgemeinen die

1) Vergl. E. ZACHARIAS. Ueber die chemische Beschaffenheit von Cytoplasma und Zellkern. (Berichte der Deutschen botan. Gesellschaft 1893, Bd. XI, Heft 3) und a. a. O.

2) E. ZACHARIAS. Ueber die Spermatozoiden. Botan. Zeitung 1881.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

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

Jahr/Year: 1896

Band/Volume: [14](#)

Autor(en)/Author(s): Zacharias Eduard

Artikel/Article: [Ueber einige mikrochemische Untersuchungsmethoden.
270-280](#)