

sowie das zweite (rötliche) *Penicillium*. Zum Vergleich wurde eine submerse Mycelflocke (alter Bodensatz) von *M. hiemalis* aus einer gleichfalls 2 $\frac{1}{2}$ Jahr alten Kultur in Zuckerlösung ($\frac{1}{2}$ Liter) auf ihre Lebensfähigkeit geprüft, sie entwickelte sich in neuer Nährlösung langsam zu neuer Vegetation. Mit *Mucor hiemalis*, *Penicillium luteum* und *Aspergillus Ostianus* machte ich die gleiche Erfahrung übrigens schon wiederholt, sie sterben sehr bald ab.

Diese sechs bzw. sieben Pilzarten sind also gegen Eintrocknen bei längerer Aufbewahrung verhältnismässig empfindlich, hier stirbt die ganze Decke ab. Aber schon bei sämtlichen unter 2. genannten scheinen die Sporen bzw. Conidien eine Lebensdauer von merklich über zwei Jahren kaum zu besitzen, während ihr Mycel (bei den Mucorineen auch wohl die Gemmen) wenigstens in einzelnen Teilen sich noch erhält. Die Sporen der unter 1. genannten erwiesen sich dagegen als von bemerkenswerter Zähigkeit.

Über einige dieser Arten liegen bereits Angaben in der Literatur vor.¹⁾ Wenn auch die Art der Aufbewahrung u. a. da mitspricht, so scheinen mir im ganzen doch die früheren Angaben über sehr lange Keimfähigkeitsdauer (10—15 Jahre) der Conidien einiger Spezies nochmaliger Prüfung wert. Jedenfalls besitzen kaum acht von den hier aufgeführten 23 Spezies Sporen, denen eine etwas grössere Resistenz zukommt.

71. K. Shibata: Studien über die Chemotaxis von Isoëtes-Spermatozoiden.

Vorläufige Mitteilung.

Eingegangen am 19. Oktober 1904.

Die klassische Untersuchung PFEFFER's²⁾ über die Chemotaxis der Samenfäden ist allgemein bekannt, aber seitdem wurde kein nam-

1) Angaben über *Aspergillus Oryzae*, *Aspergillus Wentii*, *Aspergillus niger* und *Monascus* machte ich bereits früher (Centralbl. für Bakter., II. Abt., 1897, Bd. 3, S. 104). *Aspergillus fumigatus*-Conidien sollen nach EIDAM 10 Jahre, von *Aspergillus glaucus* nach CHR. HANSEN sogar 15 Jahre, die von *Aspergillus flavus* 8 Jahre (ähnlich auch die von *Aspergillus niger*) keimfähig bleiben (Botan. Zeitg. 1897, S. 127). Auch von anderer Seite (DE BARY, BREFELD, SIEBENMANS u. a.) liegen noch Notizen zur Keimfähigkeitsdauer von *Aspergillus*-Conidien vor. Der zehnjährigen Lebensdauer von *Aspergillus fumigatus* habe ich früher bereits widersprochen (Pilzgattung *Aspergillus*, 1901, S. 43), da meine mehrjährigen an der Luft ausgetrockneten Decken ganz tot waren.

2) W. PFEFFER, Lokomotorische Richtungsbewegungen durch chemische Reize. Unters. a. d. bot. Inst. Tübingen, Bd. I, S. 363. — Ferner ebenda Bd. II, S. 654, und VOEGLER, Botan. Ztg. 1891, S. 641.

hafter Fortschritt auf diesem Wissensgebiet erzielt, bis auf eine einzige neue Arbeit von BULLER¹⁾, die sich ebenfalls auf die Farnspermatozoiden bezieht. Bis heute kennt man ja nicht einmal das spezifische Reizmittel bei irgend einer anderen Pflanzengruppe als bei den wenigen, für die es PFEFFER schon vor 20 Jahren festgestellt hat. Eine weitere Bearbeitung dieser Frage erscheint umso wünschenswerter, als in letzter Zeit die Chemotaxis der Bakterien und Infusorien vielfach diskutiert und aufgeklärt worden ist (JENNINGS, MASSART, ROTHERT u. a.).

Seit einigen Jahren beschäftige ich mich mit der morphologischen und physiologischen Untersuchung der Gametophyten von *Isoëtes*. Die im letzten Winter geernteten und ausgesäeten Mikrosporen von *Isoëtes japonica* keimten ausgezeichnet, und reichliches Spermatozoidenmaterial stand mir mehrere Monate hindurch zur Verfügung, so dass mir die Gelegenheit geboten war, der oben angedeuteten Frage experimentell näher zu treten. Im folgenden möchte ich vorläufig über einige wichtigere Resultate dieser Studien berichten.

Selbstverständlich suchte ich vor allem das spezifische Chemotaktikum für die Samenfäden von *Isoëtes* festzustellen. Es liess sich bald feststellen, dass Apfelsäure hier auch sehr starke Reizwirkung ausübt, und dass die Anlockung und Ansammlung der Samenfäden in den Kapillaren, die mit den verdünnten, neutralen Apfelsäuresalzlösungen beschickt waren, in ganz typischer Weise eintreten. Die Reizschwelle für *Isoëtes*-Spermatozoiden wird schon durch eine $\frac{1}{20\,000}$ Moleküllösung²⁾ von Apfelsäure erzielt; es herrscht also nahezu die gleiche Empfindlichkeit wie bei den Farnen. Kein Unterschied in chemotaktischer Wirkung wurde zwischen den optischen Isomeren von Apfelsäure und ferner zwischen verschiedenen Salzen der letzteren wahrgenommen. Ich habe weiterhin etwa 70 Substanzen, die K-, Na-, Rb-, Li-, NH₄-, Ca-, Mg-, Ba-, Sr-, Zn- und Co-Salze verschiedener anorganischer und organischer Säuren, Alkohole, Phenole, Kohlenhydrate, Amidokörper, Alkaloide, Eiweiss usw. umfassen, einzeln, und zwar in Konzentrationen von $\frac{1}{10}$ bis $\frac{1}{100}$ Molekül auf ihre chemotaktische Wirkung geprüft. Unter diesen bewirkten nur die neutralen Salze von Bernsteinsäure, Fumarsäure und d-Weinsäure, welche in ihren molekularen Strukturen der Apfelsäure nahe stehen, deutliche Anlockung der Samenfäden. Die Schwellenwerte sind aber wesentlich höher als bei Apfelsäure; sie betragen $\frac{1}{100}$ bis $\frac{1}{200}$ Molekül. Hingegen ruft Maleïnsäure, das Stereoisomer von Fumarsäure,

1) R. BULLER, Contributions to the physiology of the Fern-Spermatozoa. Annals of Botany, Vol. 14, S. 543.

2) = 0,00067 pCt.

keine deutliche chemotaktische Reaktion hervor¹⁾. Ebenso wirkungslos waren Apfelsäurediäthylester, Aminobernsteinsäure, Succinimid usw. Die angeführten Tatsachen scheinen eine gewisse Einsicht in den Vorgang der spezialisierten, chemotaktischen Reizperzeption der Samenfäden erschliessen zu können.

Obschon Apfelsäure, wie gesagt, kein alleiniges Reizmittel für die *Isoëtes*-Samenfäden ist, unterliegt es doch keinem Zweifel, dass die Anlockung der Spermatozoiden ins Archegonium hier auch wie bei den Farnen hauptsächlich durch diese Substanz bewirkt wird.

Des weiteren habe ich festgestellt, dass die chemotaktische Sensibilität der Samenfäden durch die vorherige Reizung entsprechend dem WEBER'schen Gesetz herabgesetzt wird²⁾. Aber der nötige Reizzuwachs zur Erzielung der Unterschiedschwelle wurde hierbei erheblich höher gemessen als bei den Farnen; die Flüssigkeit in den Kapillaren musste ja 400mal mehr Apfelsäure enthalten als im Aussenmedium, um eben sichtbare Anlockung zu bewirken. Dieselben Verhältnisse liessen sich auch bei den schwach anlockend wirkenden Substanzen, z. B. Bernstein-, Wein- und Fumarsäure konstatieren. Jeder dieser Stoffe wirkt auf die Sensibilität der Samentfäden nicht bloss für dieselbe, sondern auch für eine beliebige andere Säure abstumpfend. Enthält z. B. die Aussenlösung $\frac{1}{1000}$ Molekül fumarsaures Natrium³⁾, so wird die Ansammlung der Samenfäden nicht mehr in den Kapillaren veranlasst, deren Apfelsäuregehalt geringer als $\frac{1}{500}$ Molekül ist. Hieraus sieht man am klarsten, dass die Reizwirkung der erwähnten, chemisch nahe verwandten Körper auf einem und demselben Perzeptionsvorgang beruht. Freilich wird das Empfindungsvermögen durch sonstige indifferente Substanzen nicht in dieser Weise in Anspruch genommen.

Freie Apfelsäure wirkt in sehr verdünnten Lösungen gleich gut anziehend wie die neutralen Salze, aber mit steigender Konzentration tritt die abstossende Wirkung immer mehr in den Vordergrund. Schon bei einem Gehalt von $\frac{1}{500}$ Molekül freier Apfelsäure ist die Repulsion so ansehnlich, dass die angelockten Samenfäden nicht mehr in die Kapillare eindringen, als um nur am Kapillarmund ein lebhaftes Getümmel zu bilden. Man könnte wohl vermuten, dass die Abstossung hierbei durch H-Ionen in der Lösung bewirkt wird⁴⁾, während den Säure-Ionen bei den in Frage kommenden Konzentrationen lediglich eine anziehende Wirkung zukommt. Ein strenger

1) Bekanntlich reagieren die Farnspermatozoiden auf Maleïnsäure, nicht aber auf Fumarsäure, schwach, positiv chemotaktisch (PFEFFER, l. c., S. 382).

2) PFEFFER, l. c., S. 395.

3) $\frac{1}{1000}$ Molekül Fumarsäure entspricht in ihrer Wirkung ca. $\frac{1}{200000}$ Molekül Apfelsäure.

4) PFEFFER, Pflanzenphysiologie. Bd. II (1904), S. 801.

Beweis dafür liegt aber noch nicht vor. Ich habe diese Frage in folgender Weise zu beantworten versucht: Die Kapillaren wurden mit $\frac{1}{1000}$ Moleküllösung von Natriummalat beschickt, welcher noch verschiedene organische und unorganische Säuren in wechselnder Menge hinzugegeben wurden¹⁾. Von jeder der letzteren wurde dann diejenige Konzentration ermittelt, bei welcher die repulsive Wirkung eben ausreicht, das Eindringen der angelockten Samenfäden in die Kapillare vollständig zu verhindern. Die Experimente haben gezeigt, dass diese kritischen Konzentrationen für die stark dissoziierten Mineralsäuren einander genau äquivalent sind; diese Zahlen betragen nämlich in Molekülen ausgedrückt: HCl $\frac{1}{600}$, HNO_3 $\frac{1}{600}$, H_2SO_4 $\frac{1}{1200}$, H_3PO_4 $\frac{1}{600}$ ²⁾. Die zahlreichen und untersuchten organischen Säuren wirkten auch ungefähr nach Massgabe der freien H-Ionen; so z. B. fand ich die kritischen molekularen Konzentrationen für Oxalsäure $\frac{1}{1000}$, Milchsäure $\frac{1}{200}$, Essigsäure $\frac{1}{50}$ usw. Hiermit wurde die relative chemotaktische Reizwirkung der H-Ionen sicher bewiesen. Gleiches gilt auch für OH-Ionen; die äquivalenten Lösungen von KOH, NaOH und $\text{Ba}(\text{OH})_2$ zeigten zwar gleich starke Repulsivwirkung, während bei der Lösung von schwächer dissoziierter Lauge NH_4OH eine entsprechend höhere Konzentration erforderlich war, denselben Effekt zu erzielen.

Die anlockende Wirkung der Apfelsäure-Ionen ($\text{C}_4\text{H}_5\text{O}_5$) schlägt bei höheren Konzentrationen in eine abstossende um, oder mit anderen Worten, es gibt ein „Optimum“ der positiv chemotaktischen Reizwirkung. Die Repulsion ist schon bei einer $\frac{1}{20}$ Moleküllösung von apfelsaurem Natron bemerkbar und bei $\frac{1}{10}$ Molekül so ansehnlich, dass die am Kapillarmund sich ansammelnden Samenfäden nicht tiefer eindringen können. Dass diese Abstossung nichts mit den osmotischen oder sonstigen Wirkungen dieser neutralen Malatlösung zu tun hat, geht bestimmt daraus hervor, dass die Samenfäden in die Kapillaren, welche die mit obiger isosmotischen Lösungen von NaCl, NaNO_3 usw. neben $\frac{1}{1000}$ Molekül Natriummalat enthalten, ohne weiteres hineineilen.

Die ähnliche negativ chemotaktische Wirkung der Säure-Ionen (Anionen) wurde ferner bei allen untersuchten zwei- und dreibasischen organischen Säuren festgestellt. So z. B. übten die neutralen Oxalate und Citrate schon bei $\frac{1}{50}$ — $\frac{1}{100}$ Molekül eine ansehnliche Abstossung aus. Auch bei den oben angeführten, schwach positiv chemotaktisch wirkenden dibasischen Säuren (Bernstein-, Fumar- und Weinsäure, alle als neutrale Salze) treten in höheren

1) Auf die Gleichgewichtsverhältnisse der Ionen in diesen Mischungen kann hier nicht näher eingegangen werden.

2) H_3PO_4 verhält sich wie eine monobasische Säure.

Konzentrationen stets die Anziehung und Abstossung in Konflikt, und die angelockten Samenfäden gehen nicht mehr in die Kapillaren hinein, welche z. B. mit $\frac{1}{20}$ Molekül Kaliumtartratlösung beschickt sind.

Eine weitere Untersuchung hat die interessante Tatsache zutage gefördert, dass bei den *Isoëtes*-Samenfäden verschiedene Schwermetall-Ionen ausgesprochene negativ chemotaktische Reaktion hervorrufen.¹⁾ Die Reizschwelle ist bei Ag-Ionen schon bei einer enorm grossen Verdünnung erreicht; die Samenfäden prallen pünktlich von der Mündung der Kapillare zurück, welche $\frac{1}{1000000}$ Molekül AgNO_3 (!) neben $\frac{1}{1000}$ Molekül Natriummalat enthält. Ähnlich, aber verschieden stark abstossend wirkten Hg, Cu, Zn, Ni, Co, Fe, Mn etc. Die schwächer dissoziierenden komplexen Ionen, z. B. $\text{Ag}(\text{CN})$, wiesen eine weitaus geringere Repulsivwirkung auf. Diese negative Chemotaxis gegen Metall-Ionen beruht aber auf der Ausbildung der spezifischen Perzeptionsfähigkeiten, und alle schädlichen Medien werden nicht schlechterdings von den Samenfäden vermieden. Diese eilen also anstandslos in die Kapillaren hinein, welche neben Apfelsäuresalzen Alkohol, Formaldehyd, Phenol, Alkaloide usw. enthalten, obgleich sie dort alsbald ihren Tod finden.

Um Aufschlüsse über die sogen. Osmotaxis zu gewinnen, wurde eine Reihe von Versuchen mit den Neutralsalzen, d. h. Halogeniden, Nitraten und Sulfaten von Alkali- und Erdalkalimetallen, angestellt. Hier wurden abermals diejenigen kritischen Konzentrationen ermittelt, bei welchen die Repulsion eben die anziehende Wirkung von $\frac{1}{1000}$ Molekül Natriummalatlösung ausgleicht. Es wurde gefunden, dass diese Konzentrationen nicht immer miteinander isosmotisch sind, sondern dass vielmehr spezifische (negativ chemotaktische) Wirkungen einzelner Kationen oder Anionen in den Vordergrund treten. Um nur einige Beispiele anzuführen: gleich stark abstossend wirkten $\frac{2}{10}$ Molekül KCl , $\frac{1,5}{10}$ Molekül KBr , $\frac{1}{10}$ Molekü KJ , $\frac{1,5}{10}$ Molekül NaNO_3 , $\frac{1}{10}$ Molekül LiNO_3 , $\frac{1}{10}$ Molekül K_2SO_4 , $\frac{1}{10}$ Molekül MgSO_4 usw. Gegen das Bestehen einer osmotaktischen Reizbarkeit bei den *Isoëtes*-Samenfäden spricht noch die Tatsache, dass Kohlenhydrate, Amide, Alkohole (inkl. Glycerin und Mannit) und alle sonstigen Stoffe, die nicht negativ chemotaktisch wirken, in jeder beliebigen Konzentration keine repulsive Wirkung ausüben. So z. B. steuern die Samenfäden ohne Anstand in die Kapillare hinein, welche sogar 1 Molekül Rohrzucker (etwa 34 pCt.) neben $\frac{1}{1000}$ Molekül Natriummalat enthält, obgleich die Bewegung wegen starker Wasserent-

1) Die negative Chemotaxis bei den Farnspermatozoiden wurde bisher nicht näher untersucht. Diese dringen, nach PFEFFER, massenhaft in die Kapillaren ein, die 0,01 pCt. HgCl_2 neben 0,01 pCt. Äpfelsäure enthalten (l. c. S. 388).

ziehung alsbald zum Stillstand kommt.¹⁾ Die vollständige Sistierung der Bewegung und plasmolytische Schrumpfung der Körper von Samenfäden, die erst nach einigen Minuten rückgängig gemacht wird, treten auch in 1 Molekül Glycerin ein. Das Ausbleiben der Repulsion kann deshalb hierbei nicht schlechthin durch die schnelle Aufnahme der Substanzen und das daraus sich ergebende Nichtbestehen der osmotaktischen Reizbedingung erklärt werden.²⁾

Im Anschluss an die ROTHERT'sche Untersuchung³⁾ über die Einwirkung der Narcotica auf die Reizbewegung der Mikroorganismen habe ich Versuche angestellt, um zu sehen, ob dieselbe Erscheinung sich auch bei den spezialisierten chemotaktischen Reizbewegung der Samenfäden konstatieren liesse. Die Untersuchungen ergaben, dass durch Zugabe von 5 pCt. CW oder 20 pCt. AW⁴⁾ im Aussenmedium die chemotaktische Empfindlichkeit gegenüber $\frac{1}{100}$ — $\frac{1}{1000}$ Molekül Natriummalatlösung aufgehoben werden kann. Die Versuche gelangen noch leichter mit den nicht flüchtigen narkotischen Mitteln. Die Samenfäden schiessen so z. B. in einer $\frac{1}{20}$ Molekül-Chloralhydratlösung ganz indifferent umher, so dass jede Anlockung in den mit $\frac{1}{1000}$ Molekül Natriummalat beschickten Kapillaren ausbleibt.

Im Laufe der Untersuchung wurde ich weiter auf eine eigentümliche Erscheinung aufmerksam, dass nämlich verschiedene Elektrolyte, welche in bestimmten Konzentrationen im Aussenmedium hinzugegeben waren, ebenfalls auf die Sensibilität der Samenfäden stark deprimierend, ja sogar vernichtend wirken. Eine nähere Untersuchung hat herausgestellt, dass diese die Sensibilität störende Wirkung sehr wahrscheinlich von den Kationen ausgeht.

Was schliesslich die Art und Weise des Zustandekommens der chemotaktischen Reaktion anbetrifft, so sprechen manche Beobachtungen dafür, dass bei den *Isoëtes*-Samenfäden eine phototaktische Reaktionsfähigkeit neben einer typisch topotaktischen ausgebildet ist.⁵⁾ Insbesondere scheint die von uns beobachtete negative Chemotaxis immer von phobischer Natur zu sein.

1) Die Moos-Spermatozoiden scheinen sich ähnlich zu verhalten, da sie in die mit 15 pCt. Rohrzuckerlösung gefüllten Kapillaren gut eindringen (PFEFFER, l. c. S. 432).

2) W. ROTHERT, Beobachtungen und Betrachtungen über taktische Reizerscheinungen. Flora Bd. 88, S. 412.

3) W. ROTHERT, Über die Wirkung des Äthers und Chloroforms etc. Jahrb. für wiss. Botan. Bd. 39, S. 1.

4) CW und AW bedeuten die gesättigte wässrige Lösung von Chloroform bzw. Äther.

5) Die Bezeichnung „topotaktisch“ und „phobotaktisch“ wurden von PFEFFER (Pflanzenphysiologie Bd. II, S. 755) an Stelle der ROTHERT'schen Termini „strophisch“ bzw. „apobatisch“ eingeführt.

Diese Anschauung wird in der späteren Mitteilung näher begründet werden.

In Obigem habe ich einige wichtigere Ergebnisse meiner Untersuchung in aller Kürze wiederzugeben versucht. Die Methodik, der historische Überblick und die experimentellen Belege nebst den theoretischen Erörterungen werden für eine ausführliche Mitteilung vorbehalten.

72. Hugo Fischer: Die Verteilung zwischen zwei Lösungsmitteln als physiologisches Prinzip.

Vorläufige Mitteilung.

Eingegangen am 21. Oktober 1904.

Nach den herrschenden Vorstellungen über Osmose und Stoffaustausch, die im wesentlichen auf den klassischen Arbeiten PFEFFER's beruhen, ist es ohne weiteres verständlich, wenn eine lösliche Substanz sich zwischen zwei Zellen (bezw. Geweben, Organen usw.) oder zwischen einer Zelle und der umgebenden Flüssigkeit in gleichem Konzentrationsverhältnis verteilt.

Ganz von selbst ergibt es sich auch, dass eine lösliche Substanz dann nicht aus dem Zellinnern heraus oder in dasselbe hinein gelangen kann, wenn sie nicht fähig ist, Protoplasma, Plasmahaut und Zellwand zu durchdringen. Es genügt jedoch eine äusserst geringe Löslichkeit der fraglichen Substanz in jedem der drei Lösungsmittel, um den Übertritt zu ermöglichen. — Dass ein nicht diffundierbarer oder gar ein unlöslicher Körper, wie etwa die Amylose, in den Zellen, in welchen er entsteht, sich anhäufen kann, ist ebenfalls selbstverständlich.

Schwieriger aber wird die Frage, wenn man es erklären will, dass ein zur Diffusion mehr oder weniger befähigter Körper entweder aus umgebender Flüssigkeit in die Zelle nicht oder doch in geringerem Konzentrationsverhältnis aufgenommen wird, oder dass er in relativ grösserer Menge eindringt bezw. aus einem Gewebekomplex in einen anderen übertritt, wo er sich in höherer Konzentration ansammelt, als in dem Gewebe, aus welchem er her stammt.

Dass letzteres möglich ist, habe ich vor bereits sechs Jahren für Lävulose und Inulin nachweisen können¹⁾, an deren Diffusionsfähig-

1) Über Inulin usw. Breslau 1898; FERD. COHN's Beiträge zur Biologie der Pflanzen. 8. Bd., 1. Heft.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

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

Jahr/Year: 1904

Band/Volume: [22](#)

Autor(en)/Author(s): Shibata Keita

Artikel/Article: [Studien über die Chemotaxis von Isoetes-Spermatozoiden 478-484](#)