

## Mitteilungen.

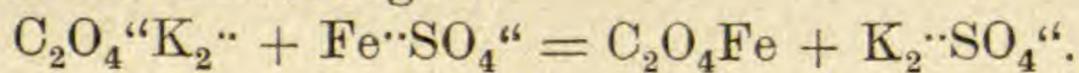
### 64. Norbert Patschovsky: Über Nachweis, Lokalisierung und Verbreitung der Oxalsäure (gelösten Oxalate) im Pflanzenorganismus.

(Aus dem Botanischen Institut der Universität Jena.)

(Mit 3 Abbildungen im Text.)

(Eingegangen am 3. November 1918.)

Die in den pflanzlichen Zellsäften gelösten Oxalate sind bisher mikrochemisch zumeist durch Lösungen von Kalziumsalzen (Chlorid, Nitrat) nachgewiesen worden<sup>1)</sup>. So verfuhr z. B. GIESSLER (1893), der auf diesem Wege die Lokalisation der Oxalsäure bei Vertretern von *Rumex*, *Begonia* und *Oxalis* ermittelte. Der Nachteil dieser zwar sehr empfindlichen Reaktion liegt zum einen in dem wenig ausgesprochenen mikroskopischen Bilde der erhaltenen Fällung von Kalziumoxalat, zum anderen darin, daß Chlorkalziumlösung gleichzeitig anwesenden Gerbstoff als schwärzliche Masse niederschlägt, die das gebildete Kalziumoxalat gänzlich verdecken kann. Es war deshalb wertvoll, ein von diesen Mängeln freies Oxalsäurereagens zu finden. Als solches erwies sich mir die wäßrige Lösung von Ferrosulfat, gleich brauchbar, ob aus dem Eisenvitriol,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , oder aus dem beständigeren MOHRschen Salz,  $\text{FeSO}_4 \cdot (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , hergestellt<sup>2)</sup>. Das entstehende Oxalat ist Ferrooxalat,  $\text{Fe} \cdot \text{C}_2\text{O}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$ . Zur Veranschaulichung diene die Gleichung:



Das Ferrooxalat fällt im Reagensglas als zitronengelber oder orangefarbiger Niederschlag, der kristallinisch und gut haltbar ist. Ein Teil Ferrooxalat löst sich in 4500 T. kalten und in 3800 T. heißen Wassers (SOUCHAY und LENSSEN 1858). Schwefel-, Salz- und Salpetersäure lösen Ferrooxalat, nicht aber Essigsäure. Nach

1) Über andere Nachweismittel vgl. MOLISCH, Mikrochemie d. Pflanze 1913, 101 f. u. Festschrift f. E. STAHL, Flora 1918.

2) Auf dieses Reagens bin ich zuerst durch Herrn H. ZIEGENSPECK aufmerksam geworden.

HAUSHOFER (1885) besteht der Ferrooxalatniederschlag aus kleinen blaßgelblichgrünen Prismen mit einer domatischen Endigung, gewöhnlich nur aus rektangulären Täfelchen. Diese gehören dem rhombischen System an und löschen parallel den Seiten aus. Kreuzförmige Zwillinge sind nicht selten (HAUSHOFER l. c. 49). Sehr in die Augen fallend ist beim Betrachten durch ein Nikol der Dichroismus, wodurch die Kristalle in der einen Lage sattgelb, bei Drehung um  $90^\circ$  farblos erscheinen. Hieran ist das Ferrooxalat in Präparaten leicht wiederzuerkennen.

Zum Nachweis des gelösten Oxalats in einem Pflanzenteil lege ich frische nicht zu dünne Schnitte auf dem Objektträger in einen Tropfen essigsaurer Ferrolösung (10%), bedecke mit dem Deckglas und verdränge durch Erwärmen die Luft. Notwendig ist jedoch das Erwärmen nicht. Die zugesetzte Essigsäure hält das lästige Zersetzungsprodukt des Ferrosulfats — bas. Ferrisulfat — in Lösung. Nach einiger Zeit sind die oxalathaltigen Schnitte mit Kriställchen von Ferrooxalat durchsetzt. Die Größe dieser Kriställchen entspricht angenähert den Massen, wie sie bei Fällungen im Reagensglas festgestellt wurden (ca.  $15 \times 9 \mu$ ).

Weit größere Einzelkristalle und Konglomerate entstehen, wenn das Ausfallen verzögert ist. Fällung verzögernd wirkten im Reagensglas: Natriumazetat, Rohrzucker, Gelatine. So ließen sich Kristalle von  $36 \times 22 \mu$ , ferner Konglomerate bis  $195 \times 180 \mu$  erzielen (Abb. 1 u. 2).

Für den sicheren mikrochemischen Nachweis der Oxalsäure sehr wesentlich ist, daß etwa gleich große Kristallbildungen des Ferrooxalats auch in Pflanzengewebe gewonnen werden können (Abb. 3). Das hierfür geeignete Verfahren besteht darin, die zu prüfenden Pflanzenteile in heißes Reagens einzutauchen oder besser mittels Luftpumpe mit dem Reagens zu injizieren. Das Injektionsverfahren gewährleistet ferner eine genaue Lokalisierung der gelösten Oxalate im Pflanzenkörper, die der bloße Nachweis in Schnitten auf dem Objektträger meistens nicht verbürgen kann.

Inwiefern ist das Injektionsverfahren befähigt, die Fixierung der gelösten Oxalate in der Pflanze am Orte ihrer Lagerung zu bewirken?

Beim Injizieren wird die Luft des Interzellularensystems durch Reagensflüssigkeit ersetzt. Diese dringt von mehreren Seiten gegen die oxalathaltigen Zellen vor und tötet deren Protoplasten, worauf das Reagens in die Zelle hinein, Zellsaft aus der Zelle heraus diffundieren muß. Die Diffusionsvorgänge erhalten einen spezifischen Charakter dadurch, daß sie 1. im kolloidalen Medium verlaufen,

und 2. zur Bildung eines unlöslichen Niederschlages (von Ferrooxalat) führen. Mit verschiedenen Ferrolösungen injiziertes oxalathaltiges Pflanzenmaterial zeigt die Ferrooxalatkristalle teils innerhalb der Zellen, teils mehr in den Interzellularen. Nur im ersten Falle kann von einer genauen Lokalisierung gesprochen werden. Die Frage nach deren Voraussetzungen beschränkt sich nach dem Vorausgeschickten also auf das Problem:

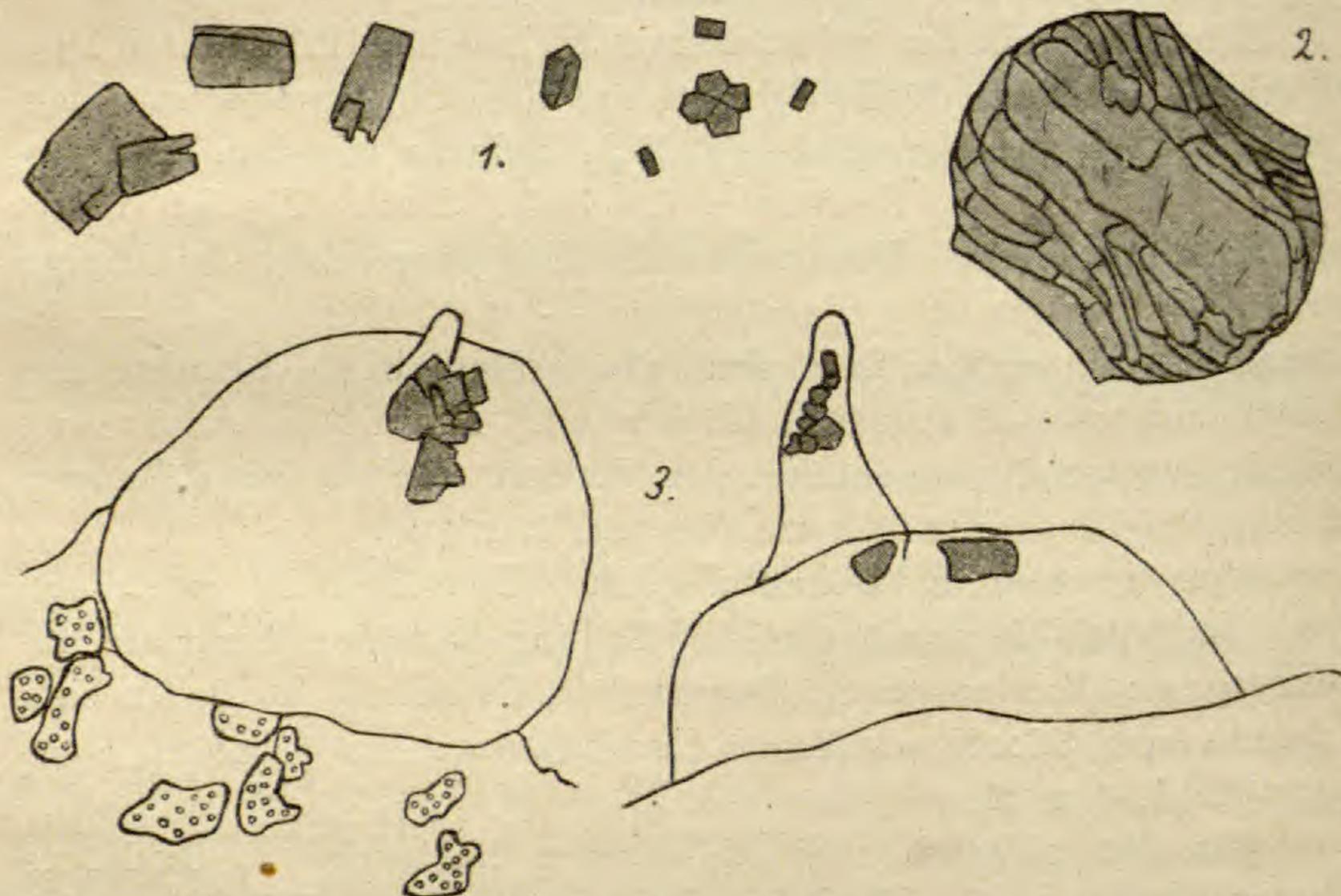


Abb. 1. Kristalle und Konglomerate von Ferrooxalat, erhalten aus einem Gemisch der Lösungen von Eisenvitriol, Natriumacetat, Essigsäure und Ammoniumoxalat. Vergr. 217.

Abb. 2. Konglomerat (Sphärolith) von Ferrooxalat, in Gelatine auskristallisiert. Vergr. 217.

Abb. 3. Kugeltrichome der Blattepidermis von *Mesembryanthemum cristallinum* L. mit Ferrooxalat im Innern. Das Blatt war in heiße essigsäure Ferrosulfatlösung getaucht worden. Vergr. 110

Unter welchen Bedingungen wird eine in einem kolloidalen Medium eingeschlossene kristalloide Lösung durch eine von außen eindiffundierende andere Lösung, mit der sie einen unlöslichen Niederschlag erzeugt, in dem kolloidalen Medium fixiert?

Um diese chemisch-physikalische Frage zu entscheiden, unternahm ich einige Versuche, zu denen ich durch eine Arbeit R. E. LIESEGANGS (1915) angeregt wurde. Ich füllte je 10 ccm von 5% wäßriger Gelatine, die mit einem bestimmten Gehalt an

neutral. Kaliumoxalat versehen wurde, in Reagensgläser und schichtete nach dem Erstarren eine bestimmte Menge einer bekannten Ferrosulfatlösung auf die Gallerte. Es zeigte sich, daß der Ort, an dem das entstehende Ferrooxalat zur Ausscheidung gelangt, durchaus abhängig ist von dem Konzentrationsverhältnis der aufeinander wirkenden Reagenzien. Das Ferrooxalat lagert sich als gelbe Zone von wechselnder Dicke innerhalb der Gallerte ab, wenn die Konzentration der Ferrolösung die des in der Gelatine gelösten Oxalats überwiegt. Bei umgekehrtem Konzentrationsverhältnis wandert alles Oxalat aus der Gallerte aus, und das Ferrooxalat lagert sich in der aufstehenden Ferrolösung ab. Nur im ersten Falle ist das Oxalat in der Gallerte fixiert worden.

Zu dem gleichen Ergebnis war auch LIESEGANG (1915) geführt worden, als er mittels besagter Versuchsanordnung die Fixierung des Chlors in einer Kochsalz führenden Gallerte bei aufgeschichtetem Silbernitrat studierte. Ähnliche Untersuchungen gehen auf N. PRENGSHEIM (1895) zurück, an die BECHHOLD und ZIEGLER (1906) wieder anknüpften. Im Anschluß an die Letztgenannten sehen wir in dem höheren osmotischen Druck der Ferrolösung die Bedingung, die es gestattet, das Oxalat in der Gallerte festzulegen.

Im Verfolg dieses Befundes zeigte es sich, daß die Lokalisierung der Oxalsäure in einem mit Ferrolösung injizierten Pflanzenteil derselben Beziehung untersteht.

Lassen sich zunächst die physikalischen Bedingungen in einem aus Zellen aufgebauten Gewebe ohne weiteres mit denen der homogenen Gallerte in den vorangegangenen Reagensglasversuchen vergleichen? Ich glaube diese Frage in den Grenzen der vorliegenden Betrachtung bejahen zu dürfen auf Grund des folgenden Versuches. Stücke der dickfleischigen und oxalsäurefreien Blätter einer *Echeveria* sowie von *Mesembryanthemum uncatum*, die mit zwei Schnittflächen versehen waren, würden in zwei Reihen mit Lösung von neutral. oxalsaurem Kali injiziert und zwar Reihe a. mit  $\frac{n}{1}$ -Lösung, Reihe b. mit  $\frac{n}{10}$ -Lösung. Es ist anzunehmen, daß auf diese Weise die Gewebe gleichmäßig mit den betreffenden Oxalatlösungen erfüllt werden. Die Objekte der Reihe a. gelangten hierauf in Eisenvitriollösung  $\frac{n}{10}$ , die von b. in solche der Konzentration  $\frac{n}{1}$ .

Der Erfolg dieses Versuches war, daß nur in den Objekten b. das Oxalat als Ferrooxalat vollständig fixiert worden war, während aus den Objekten a. ein großer Teil des Oxalats in die umgebende Ferrolösung ausgewandert und hier als Ferrooxalat ausgefallen war. Ein Gewebekörper mit homogenem Oxalatgehalt verhält sich also der Ferrolösung gegenüber wie eine entsprechende vom Reagensglas umschlossene Gallertsäule. Die höhere Konzentration muß auch hier auf Seiten der von außen herangebrachten Ferrolösung sein, wenn das Oxalat in dem Gewebe fixiert werden soll. Und dasselbe ließ sich endlich für die einzelne oxalathaltige Zelle durch den Versuch erweisen:

Stengelstücke des im Mark sehr oxalsäurereichen *Rumex scutatus* wurden nebeneinander mit Eisenvitriollösungen der folgenden Konzentrationen injiziert:  $\frac{n}{1}$ ,  $\frac{n}{2}$ ,  $\frac{n}{4}$ ,  $\frac{n}{6}$ ,  $\frac{n}{8}$ ,  $\frac{n}{10}$ ,  $\frac{n}{20}$ . Die Untersuchung ergab, daß nur bei hohen Konzentrationen  $\left(\frac{n}{1}\right)$  das Ferrooxalat innerhalb der Zellen zu finden war, daß dagegen bei Objekten schwacher Lösungen  $\left(\frac{n}{20}\right)$  das Ferrooxalat in den Interzellularen gebildet worden war. Die dazwischenliegenden Konzentrationen lieferten Fällungsbilder, die stufenweise zwischen diesen Gegensätzen vermitteln. (Erst Durchwachsungen der Zellwand mit Ferrooxalatkristallen, dann gleichzeitiges Auftreten in den Interzellularen.)

Nur bei Injektion mit hochkonzentrierten Ferrolösungen besteht also die Aussicht, das gelöste Oxalat der Zellen in diesen zu fixieren, d. h. im Gewebe zu lokalisieren. Auch die von Ferrolösung umgebene Pflanzenzelle verhält sich, was die Fällung ihrer gelösten Oxalate betrifft, wie eine Gallertsäule mit homogenem Oxalatgehalt.

Mit Hilfe des Ferrosulfats ist man somit imstande, die gelösten Oxalate der Pflanze mit Sicherheit zu erkennen und zu lokalisieren. Der zweite Vorteil liegt in der genauen Abgrenzung nach der Seite des Gerbstoffs hin. Dieser wird durch Ferrosulfatlösung, wie dies früher LOEW und BOKORNY an *Spirogyra* gezeigt haben, mit großer Empfindlichkeit blau bis grünlich gefärbt. So war es mir möglich, mit einem Reagens gleichzeitig auf Oxalsäure und auf Gerbstoff zu prüfen. Zur exakten Lokalisierung des Gerbstoffs diente noch Kaliumbichromat. In dieser Weise untersuchte ich Vertreter sehr verschiedener Gruppen des Pflanzenreichs, wobei auch auf das ev. Vorkommen von geformtem Kalziumoxalat geachtet wurde.

**Befunde der systematischen Untersuchungen.**

A. Pflanzen ohne Ablagerung von Kalziumoxalat. Gelöstes Oxalat fehlt stets.

- I. Mit Gerbstoff: *Monotropa* (nach KOHL vielleicht Spuren von Kalziumoxalat), *Euphorbia*.
- II. Ohne ausgesprochenen Gerbstoffgehalt: *Monoclea*, *Fegatella*; *Musci*; *Equisetum*; viele *Gramina*; *Papaveraceae*; *Cruciferae*; *Primulaceae*; *Valerianella*.

B. Pflanzen mit Kalziumoxalat.

- I. Gelöstes Oxalat fehlt; kein deutlicher Gerbstoffgehalt: *Vau-cheria*; *Sticta pulmonaria*; *Lycopodium*; *Monstera*; *Lemna minor* L., *Tradescantia*; *Liliaceae*; *Amaryllidaceae*; *Orchidaceae*; *Peperomia*; *Viscum*; *Asarum*; *Amarantus Blitum* L., *Celosia cristata* L.; *Mesembryanthemum linguaeforme, uncatum*; *Rhipsalis salicornioides*; *Umbelliferae*; *Labiatae*; *Aeschynanthus pulcher*.
- II. Gelöstes Oxalat fehlt bei mehr oder minder ausgesprochenem Gerbstoffgehalt: *Spirogyra*; *Rumex salicifolius* Weinm., *sanguineus* L.; *Polygonum bistorta* L., *Laxmanni* Lepech., *affine* D. Don., *aviculare* L., *Hydropiper* L.; *Mesembryanthemum lupinum, tenuifolium, Burchellii, multiceps*; *Crassulaceae*; *Leguminosae*; *Geranium pratense* L.; *Oxalis canescens* Jacq., *macrostylis* Jacq., *rubella* Jacq., *pentaphylla* Sims., *rosacea* (*rosea* Jacq. ?); *Impatiens*; *Vitis vinifera* L., *Ampelopsis Veitchii*; *Oenotheraceae*; *Atropa bella-donna* L., *Nicotiana rustica* L.; *Rubiaceae*; *Compositae*.
- III. Gelöstes Oxalat vorhanden; Gerbstoff fehlt in den oxalathaltigen Organen: *Lonchitis hirsuta* L. (*Polypodiacee* mit gelöstem Oxalat im Blattstiel und Nadeln von Kalziumoxalat; die Blätterfiedern führen Rhaphidenbündel); *Rumex scutatus* L.; *Oxyria*; *Chenopodiaceae*; *Phytolacca*; *Mesembryanthemum Lehmanni, tricolor* Willd., *cristallinum* L., *cordifolium* L.; *Oxalis Bowiei* Lindl., *compressa* Jacq., *acetosella* L.
- IV. Gelöstes Oxalat sowie mehr oder weniger Gerbstoff in demselben Organ vorhanden: *Rumex acetosa* L., *acetosella* L., *alpinus* L.; *Rheum*; *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zuccar., *divaricatum* L., *filiforme* Thbg., *polystachyum* Wall., *tataricum* L., *Fagopyrum* L., *lapathifolium* L., *Persicaria* L.; *Mesembryanthemum cinctum, blandum, umbelliflorum* Haw.; *Portulaca*; *Oxalis lunata*; *Ampelopsis quinquefolia* Mx.; *Begonia Rex*; *Solanum tuberosum* L. (Stengel, Blattstiel mit gel. Ox.), *Datura stramonium* L. (Blattstiel, Spreite mit gel. Ox.).

Die wichtigsten *a l l g e m e i n e n* Ergebnisse sind diese:

1. Pflanzen ohne normale Ablagerung von Kalziumoxalat lassen auch die gelösten Oxalate vermissen.

2. Gelöstes Oxalat ist bei Thallophyten seltener als bei Kormophyten. Sehr regelmäßig ist es in den Reihen der *Polygonales* und der verwandten *Centrospermae* angetroffen worden.

3. Innerhalb einer Gattung können reine Oxalsäurespezies, reine Gerbstoffspezies und kombinierte Typen gegeben sein. Unter dem ökologischen Gesichtspunkt dürften sich diese Fälle mit Stahl als Vikariieren bzw. Häufung der beiden als chemische Schutzmittel der Pflanze erkannten Stoffe deuten lassen. (GIESSLER 1893.)

4. Das Vorkommen gelösten Oxalates ist oft auf die oberirdischen Pflanzenteile beschränkt, während die unterirdischen, insbesondere die Wurzeln vielfach mit Gerbstoff erfüllt sind. In anderen Fällen kann die Oxalsäure auch in den Wurzeln nachweisbar sein, und diese sind dann regelmäßig gerbstoffleer.

5. Die Lokalisation der Oxalsäure ist vorzugsweise eine periphere, wie schon GIESSLER (1893) hervorgehoben hat.

6. Gelöstes Oxalat tritt nicht nur in farblosen Geweben auf, wie GIESSLER (l. c.) meint, es ist auch im Chlorophyllgewebe festgestellt worden. Ob das eine oder das andere zutrifft, scheint von den besonderen Bauverhältnissen der betreffenden Organe abhängig zu sein, indem flächenförmig ausgebildete Blattspreiten die Oxalsäure vornehmlich in der Epidermis speichern (*Oxalis*, *Phytolacca*, *Beta*), indes die der Form der Achse sich nähernden sukkulenten Blätter mit grüner Peripherie (*Mesembryanthema*) in dieser gelöstes Oxalat führen, und das nämliche gilt für viele Stengel und Blattstiele.

Vorliegender Bericht ist ein Auszug der später erscheinenden ausführlichen Arbeit.

Halle a. S., Botanisches Institut der Universität, im August 1918.

#### Literatur.

- BECHHOLD, H. u. ZIEGLER, J., Annalen der Physik. 4. Bd. 20. 1906.  
 GIESSLER, R., Jenaische Zeitschr. f. Naturwiss. XXVII. Bd. N. F. XX. 1893  
 HAUSHOFER, K., Mikroskopische Reaktionen. Braunschweig 1885.  
 LIESEGANG, R. Ed., Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie. Bd. 31. Jahrg. 1914, Heft 4. 1915.  
 PRINGSHEIM, N., Jahrb. f. wiss. Bot. 28. 1895.  
 SOUCHAY u. LENSSEN, Annalen d. Chemie u. Pharmacie, herausgeg. v. WÖHLER, LIEBIG u. KOPP. Bd. 105. 1858.

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

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

Jahr/Year: 1918

Band/Volume: [36](#)

Autor(en)/Author(s): Patschovsky Norbert

Artikel/Article: [Über Nachweis, Lokalisierung und Verbreitung der Oxalsäure \(gelösten Oxalate\) im Pflanzenorganismus. 542-548](#)