© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Mitteilungen.

38. Walter Mevius: Beiträge zur Kenntnis der Farbstoffe und der Membranen von Haematococcus pluvialis.

(Eingegangen am 17. März 1923. Vorgetragen in der Junisitzung 1923.)

ZOPF (11) hat zum ersten Male die Farbstoffe, die in den roten Aplanosporen von *Haematococcus pluvialis* vorkommen, einer genaueren Untersuchung unterzogen. Er fand neben Chlorophyll ein gelbes zweibandiges Carotinoid und ein rotes einbandiges, das Hämatochrom. KOHL (3) läßt die Frage offen, ob das gelbe Carotinoid 2 oder 3 Bänder aufweist. WISSELINGH (9) konnte mikrochemisch 3 Carotinoide nachweisen. Spektroskopische Untersuchungen stellte er nicht an.

Bei meinen Untersuchungen wurden Aplanosporen verwandt, die infolge des gespeicherten Hämatochroms ziegelrot waren. Die Aplanosporen wurden mit gereinigtem Seesand gemahlen und dann nach WILLSTÄTTER (8) mit Azeton extrahiert. Die Farbstoffe wurden sodann aus dem Azeton in Petroläther überführt, diese Lösung mit 80 % Methylalkohol vom Xanthophyll befreit. Dasselbe wurde dann durch Vermischen mit Äther und Verdünnen mit Wasser vom Holzgeist befreit. Die ätherische und die petrolätherische Lösung wurden mit je 15 ccm methylalkoholischer Kalilauge versetzt und 1 Stunde im Schüttelapparat geschüttelt. Nach vollständiger Verseifung des Chlorophylls wurde die ätherische Lösung durch mehrmaliges Ausziehen mit Wasser von dem Chlorophyllin befreit. Dieser Auszug wurde nach WILLSTÄTTERs Methode weiter behandelt, und die erhaltenen Kristalle erwiesen sich als Xanthophyll.

In der gelben petrolätherischen Lösung befand sich auf dem Boden eine rote sirupartige Masse. Die gelbe Lösung wurde abfiltriert. Die aus derselben erhaltenen Kristalle waren Carotin. Das Filtrat wurde mehrere Male mit Wasser gewaschen, um das Chlorophyllin zu entfernen. Der rote unlösliche Rückstand wurde mit einer größeren Menge Petroläther wieder aufgenommen und das Fehlen von Chlorophyllinresten spektroskopisch festgestellt. Eine Auskristallisation dieses Farbstoffes, der im Petroläther mit gelbroter Farbe gelöst war, konnte nicht erreicht werden.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Die drei getrennten Farbstoffe wurden dann spektroskopisch untersucht und ihre Spektren auf panchromatischen Platten festgelegt.

Lösung I zeigte die drei Banden des Xanthophylls.

Lösung II zeigte die drei Banden des Carotins.

Lösung III zeigte nur eine Bande. Die Lage derselben stimmte mit der von ZOPF für das Hämatochrom angegebenen überein: an der Grenze von Blau und Grün, das Maximum bei der F-Linie. Wurde die rote sirupartige Masse mit Schwefelkohlenstoff aufgenommen, so löste sie sich sehr leicht darin mit burgunderroter Farbe. Im Spektrum war die Bande aber sehr stark nach links verschoben.

Ein zweibandiges Carotinoid konnte nicht nachgewiesen werden.

Die außerordentlich geringe Menge von Chlorophyll gegenüber der sehr großen Menge des Hämatochroms in den roten Aplanosporen möge hier Erwähnung finden.

Im folgenden habe ich die Zellwand von *Haematococcus pluvialis* untersucht.

Für die Aplanosporenwände von *Hämatococcus Bütschlii* wird von BLOCHMANN (1) Zellulose angegeben. Untersucht man ältere Kulturen, so gibt ein Teil der Wände mit Jod + H_2SO_4, Chlorzinkjod oder SCHULTZEs Reagens Blaufärbung. Ein großer Teil der Wände bleibt aber ungefärbt. In jungen Kulturen geben alle Aplanosporenwände deutlich Zellulosereaktion.

Alle Untersuchungen wurden an solchen Aplanosporen vorgenommen, die aus Kulturen stammten, die frei von anderen Algen waren. Für die Zellulosereaktion eignete sich am besten SCHULTZEs Reagens von KAHLBAUM, da man dann bei Verwendung von ziemlich trockenen Aplanosporen keine blauschwarze Färbung des Hämatochroms und keine Stärkereaktion erhält. In besonders zweifelhaften Fällen wurden die mit Diaphanol (SCHMIDT 6) vorbehandelten Zysten mit Diastase 3 × 24 Std. behandelt, um alle Stärke zu lösen. Das Hämatochrom war schon vorher durch das Chlordioxyd des Diaphanols zerstört worden. Vorbehandlung mit dem SCHMIDTschen Reagens war erforderlich, um ein Eindringen des Fermentes zu ermöglichen.

Junge Aplanosporen gaben nun folgendes Bild:

Die äußere Hülle besteht aus reiner Zellulose. — Rotfärbung mit Kongorot, Blaufärbung mit den Jodreagentien, löslich in Kupferoxydammoniak, unlöslich in Glycerin bei 300° nach WISSELINGH. —

In älteren Kulturen fehlt die äußere Hülle häufig. In einigen

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Fällen kleben noch Reste an den darunter liegenden Zellwandschichten. Vereinzelt findet man auch die äußeren Schichten, die an einer Stelle geplatzt sind, ohne weiteren Inhalt. Das Fehlen der Zellulosewände in älteren Kulturen dürfte wohl zum größten Teil dem Einfluß zellulosezerstörender Organismen zuzuschreiben sein. In geringerem Maße wird es auch durch mechanische Einflüsse erfolgt sein.

Die eigentliche Aplanosporenwand besteht aber aus keiner gewöhnlichen Zellulose. Auch nach Behandlung mit Diaphanol, das Wandinkrusten wie Pektin, Lignin usw. löst, wurde mit den Zellulosereagentien keine Färbung erzielt; höchstens Braunfärbung mit Chlorzinkjod oder Jod + H_2SO_4. Die Wände waren unlöslich in Kupferoxydammoniak. Bei der Glyzerinbehandlung nach WISSELINGH lösen sie sich bei etwa 280°. Bei jüngeren Aplanosporen sind die inneren Wandschichten so stark von den äußeren verdeckt, daß sie bei Zusatz von Zellulosereagentien gefärbt erscheinen. Auf Druck springen aber die eigentlichen, nicht gefärbten Zysten aus den blaugefärbten äußeren Hüllen heraus.

Nicht mit Diaphanol vorbehandeltes Material wurde auf Pektin untersucht, da KUWADA (4) bei Chlamydomonaden diese Substanz nachgewiesen hatte. Als Vergleichsobjekt wurde *Chlamydomonas angulosa* benutzt. Die Färbungen mit Methylenblau, Safranin und Bismarckbraun waren bei *Chlamydomonas* stark positiv, bei *Haematococcus* negativ. Rutheniumrot färbte nur *Chlamydomonas*. Metallsalze wie $FeSO_4$ und Cu-Azetat wurden sehr stark gespeichert von *Chlamydomonas*, von *Haematococcus* wurde nur vereinzelt eine ganz geringe Menge gespeichert. Die Behandlung mit Metallsalzen erfolgte in der von SCHNEIDER (7) angegebenen Form. Die Wände von *Chlamydomonas* müssen aus einer mit Pektin durchsetzten Hemizellulose bestehen, da auch nach Vorbehandlung mit Diaphanol niemals Zellulosereaktionen erzielt wurden.

Im folgenden wurde dann das Verhalten der Aplanosporenwände gegen Säuren und Alkalien untersucht. In heißen und kalten konzentrierten Laugen erfolgte nur Quellung. Auch nach 3 Monate langem Verweilen in konzentrierter Kalilauge fand keine Auflösung statt. Die Festigkeit gegen Druck hatte in letzterem Falle allerdings erheblich nachgelassen. 40 % H_2SO_4 rief erst nach Wochen Auflösung hervor. Stärkere Säuren wirkten sehr viel schneller. In 70 % H_2SO_4 trat nach Stunden Auflösung ein. Kochende Mineralsäuren griffen sehr viel schneller an. 10 % HCl oder H_2SO_4 bewirkten schon nach zweistündigem Kochen ein Verschleimen der Membran. Groß ist die Widerstandsfähigkeit gegen

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

40 % Perhydrollösung. In konzentrierter Chromsäure findet man nach 3 × 24stündiger Einwirkung noch nicht aufgelöste Aplanosporenwände.

Um zu untersuchen, ob Pentosen am Aufbau dieser Wandschichten beteiligt sind, wurde die Furfurolreaktion ausgeführt. Aplanosporen wurden mit HCl vom spezifischen Gewicht 1,06 versetzt und destilliert. Das Destillat gab mit essigsaurem Anilin starke Rotfärbung. Durch Pektine konnte diese nicht hervorgerufen sein, da solche ja nicht vorhanden waren. Da schon eine ganz geringe Menge Sporenmaterial die Reaktion gibt, muß die Hauptmasse der Aplanosporenwände aus fünfwertigen Zuckern aufgebaut sein.

Behandelt man Aplanosporen mit 72 % H_2SO_4, so werden nach einiger Zeit die zelluloseartigen und hemizelluloseartigen Schichten gelöst. Untersucht man dann aber den Rückstand, so sieht man, daß noch eine feine zarte Schicht zurückgeblieben ist, die auch nach 3 Monate langer Einwirkung nicht aufgelöst wird. Nach den Untersuchungen von RUMP (5) an den Zellwänden verschiedener Pflanzen konnte die Vermutung auftauchen, daß es sich um lignin- oder cutinähnliche Substanzen handelt. Alle Holzreaktionen waren aber negativ. Eine Lösung von 100 ccm 6 % H_2O_2 + 20 ccm 24 % NH_3 (RUMP) brachte auch nach Wochen den Stoff nicht zur Lösung. Lignine scheiden also aus. Die Restsubstanz wurde aber sofort beim Kochen mit 3 % alkohol. Kalilauge gelöst. Andrerseits zeigte sich auch, daß nach vorherigem Kochen mit derselben Lauge 72 % H_2SO_4 die Sporen restlos löste. Mit Sudan färbte sich der Rückstand, der nach der Behandlung mit 72 % H_2SO_4 verblieb, unter gelindem Erwärmen rot. Es kann sich also nur um einen Stoff handeln, der den Cutinen sehr nahesteht. Hierfür spricht auch die Widerstandsfähigkeit gegen konzentrierte Chromsäure. Eine Färbung der nicht vorbehandelten Wände mit Sudan oder Alkanna ist mir allerdings niemals gelungen, wohl aber eine solche mit ZIEHLschem Karbolfuchsin nach der Methode von FISCHER (2).

Die Wände der Zoosporen wurden schon von BLOCHMANN (1) und WOLLENWEBER (10) untersucht. Ersterer nimmt Zellulose an, obwohl er in einigen Fällen keine deutliche Blaufärbung mit Zellulosereagentien bekommen hat. Letzterer lehnt das Vorhandensein von Zellulose ab und nimmt an, daß die manchmal beobachtete Blaufärbung „auf das Eindringen von durch Jod + H_2SO_4 gelöster und gefärbter Stärke in die Membransubstanz“ zurückzuführen ist. Mit SCHULTZEs Reagens konnte ich auch bei ausgewachsenen, mit

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

dicken Quellschichten versehenen Zoosporen niemals Blaufärbung erhalten. Alle Pektinreaktionen fielen auch negativ aus. Mit Methylenblau trat allerdings Blaufärbung kleiner in der äußersten Schicht gelegener Körnchen ein. Diese Beobachtung wurde auch schon von WOLLENWEBER gemacht. Bilden sich aber in einer alten Aplanosporenkultur neue Schwärmer, so zeigen die vier jungen Teilungsprodukte, solange sie noch in der Muttermembran sind, deutlich Zellulosereaktion. Bei der darauf folgenden Quellung der Membranen der Tochterindividuen bleibt die Färbung aus. Fängt hingegen die Zoospore wieder an, sich in eine Aplanospore umzuwandeln, so geben die zusammengeschnurrten Quellschichten wieder Zellulosereaktion, und die an den Aplanosporen, besonders an den jüngeren, schon vorher erwähnten äußeren Zellulosesschichten sind nichts anderes als die zusammengeschrumpften Quellschichten der Zoospore. Es liegt also der Schluß sehr nahe, daß die Quellschichten aus einem Stoff bestehen, der der echten Zellulose sehr nahesteht; denn sie geht aus echter Zellulose hervor und gibt auch nach Bildung der Aplanosporenwand wieder Zellulosereaktion.

Kurze Zusammenfassung der wichtigsten Resultate.

Die roten Aplanosporen von *Haematococcus pluvialis* enthalten 3 Carotinoide: Xanthophyll, Carotin und das einbandige Hämatochrom. Ein von ZOPF beobachteter zweibandiger gelber Farbstoff war nicht vorhanden. Sehr wahrscheinlich war er ein Gemisch von Xanthophyll und Carotin.

Die eigentliche Wand der Aplanosporen besteht aus einer Hemizellulose, an deren Aufbau zum größten Teil fünfwertige Zucker beteiligt sind. Inkrustiert ist dieselbe von einem Stoff, der den Cutinen nahesteht.

Die Quellschicht der Zoosporen, die keine Zellulosereaktion gibt, geht aus echter Zellulose hervor und wird nach Bildung der Aplanosporenwand auch wieder in echte Zellulose verwandelt.

In den verschiedenen Entwicklungsstadien von *Haematococcus pluvialis* führen die Zellwände niemals Pektin, während die Wände von *Chlamydomonas angulosa* aus mit Pektin versetzten Hemizellulosen bestehen.

Botanisches Institut Münster (Westf.), März 1923.

Benutzte Literatur.

1. BLOCHMANN, F., Über eine neue *Haematococcus*art. Habilitationsschrift Heidelberg 1886.
2. FISCHER, H., Bot. mikrotechnische Mitteilungen. Zeitschr. für wiss. Mikr. 29, 1912, p. 64—65.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

3. KOHL, F. G., Unters. über das Carotin und seine phys. Bedeutung. 1902.
4. KUWADA, J., Some peculiarities observed in the culture of *Chlamydomonas*. Bot. Mag. Tokyo 52, 1916, p. 347.
5. RUMP, E, Chemie und Struktur der Pflanzenmembran. Diss. Münster 1914.
6. a) SCHMIDT, E. und GRAUMANN, E., Zur Kenntnis pflanzl. Inkrusten I. Ber. d. d. chem. Ges. 54, 1921, p. 1860.
b) SCHMIDT, E und DUYSEN, F., Zur Kenntnis pflanzl. Inkrusten II. Ebenda. p. 3241.
7. SCHNEIDER, H., Bot. Mikrotechnik. 1922.
8. WILLSTÄTTER, R. und STOLL, A., Untersuchungen über Chlorophyll. 1913.
9. WISSELINGH, C. VAN, Über die Nachweisung und das Vorkommen von Carotinoiden in der Pflanze. Flora 107, 1915, p. 371—432.
10. WOLLENWEBER, W., Untersuchungen über die Algengattung *Haematococcus*. Ber. d. D. Bot. Ges. 26, 1908, p. 238—298.
11 ZOPF, W., COHNs Hämatochrom ein Sammelbegriff. Biol. Zentralbl. 15, 1895, p. 417—426.

---

39. Bruno Huber: Beiträge zur Kenntnis der Wasserbewegung in der Pflanze.

(Vorläufige Mitteilung.)

(Eingegangen am 24. März 1923. Vorgetragen in der Aprilsitzung.)

Durch die experimentellen Untersuchungen von RENNER (1911, 1918), JOST (1916), URSPRUNG (1916) und NORDHAUSEN (1919, 1921) sind in der Pflanze Spannungen von mehreren Atmosphären festgestellt worden, die in bestimmten Fällen (Saugwirkung durch einen künstlichen Tonwiderstand bei NORDHAUSEN, Hebung von Quecksilber auf über Barometerhöhe in Lianengefäßen bei URSPRUNG) selbst nach der Ansicht der Gegner der Kohäsionstheorie nur durch die Kohäsion des Füllwassers der Leitbahnen erklärlich sind. Es ist demnach sicher nachgewiesen, daß in der Pflanze eine Wasserbewegung auf kürzere Strecken durch Kohäsionszug erfolgen kann. Wenn sich trotzdem manche Forscher heute noch scheuen, die Kohäsionstheorie als endgültig bewiesen anzusehen. so liegt der Grund hierfür in der Überschätzung der Widerstände längerer Leitbahnstrecken, die ihnen eine Anwendung der Kohäsionstheorie zur Erklärung der Wasserbewegung auf weitere Strecken auszuschließen scheint (URSPRUNG und BLUM 1920). Mangels genauerer zahlenmäßiger Werte wird nämlich die für die Wasserbewegung notwendige Potentialdifferenz einfach proportional der Länge der Leitbahnen angenommen. Dann würden wir in größeren

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft

Jahr/Year: 1923

Band/Volume: 41

Autor(en)/Author(s): Mevius Walter

Artikel/Article: Beiträge zur Kenntnis der Farbstoffe und der Membranen von Haematococcus pluvialis. 237-242