

Ueber die Chlorophyllbildung im Koniferenembryo.

Von ALFRED SCHMIDT (Halle).

I. EINLEITUNG.

SACHS (1) veröffentlichte im Jahre 1859 seine Entdeckung, dass der Keimling von *Pinus Pinea* ergrünte Cotyledonen zeige, obwohl er von dem völlig undurchsichtigen Endosperm wie von einem fest umschliessenden Sack umhüllt ist und eine Schicht Erue den Keimling bedeckt. Das Chlorophyll sei hier sicher ohne irgendwelchen Licht-Einfluss entstanden. In einer späteren Arbeit (2) stellt SACHS diese Tatsache als eine wirkliche Ausnahme neben einige scheinbare Ausnahmen, bei denen das sonst im allgemeinen zur Erzeugung des grünen Farbstoffs notwendige Licht auch entbehrlich erscheint. Wenn Embryonen innerhalb der Fruchthüllen grün werden, so ist das hier eine Lichtwirkung, da das Licht Pflanzenteile durchleuchtet und mit namhafter Stärke tief eindringt. Dahin gehört nach SACHS die Chlorophyllbildung in den dem Licht ausgesetzten Kartoffelmollen. Es ist auch ferner bekannt, dass z.B. Ahornsamensamen einen grünen Embryo enthalten. Eine wirkliche Ausnahme von den nur am Licht ergrünenden Pflanzen bilden nach SACHS die von ihm beobachteten Fälle, in denen *Pinus Pinea*, *P. canadensis*, *P. silvestris*, *P. Strobus*, *Thuja orientalis* die Fähigkeit haben, in völliger Finsternis zu ergrünen. SACHS bringt seine Beobachtungen im Zusammenhang mit Untersuchungen über die Chlorophyllbildung vor. Deren Ergebnisse veranlassen ihn zur Äusserung der Ansicht, das Chlorophyll sei kein direktes Produkt des Vegetationsprozesses, sondern entstehe aus einem noch farblosen Stoffe, dem Leucophyll, welcher nur einer sehr kleinen Veränderung bedarf, um grün zu werden, nämlich der Oxydation durch nascierenden Sauerstoff. Hier in unserm Fall, also bei den Coniferen, haben seiner Meinung nach die Fette und ätherischen Öle das Vermögen, den Sauerstoff zu ozonisieren, was im allgemeinen nur unter dem Einfluss des Sonnenlichtes geschehe.

BOEHM (3) nimmt diese Beobachtung von SACHS bei seinen Arbeiten über Chlorophyllbildung auf, ist jedoch bei Bestätigung des andersartigen Verhaltens der Coniferenkeimlinge im Dunkeln in bezug auf die Erklärung der Erscheinung anderer Ansicht. Für BOEHM ist das Chlorophyll ein Produkt der gesunden, normal fungierenden Zelle; ferner stützt er sich auf das Gesetz von der Erhaltung der Kraft, wonach alle Organismen direkte, also die chlorophyllführenden Pflanzen, oder indirekte Produkte der Sonnenstrahlen sind und behauptet, dass bei den im Dunkeln gezogenen Pinien-Keimlingen das Ergrünen durch geleitete Wärme bedingt wird. Gerade die Coniferen liefern BOEHM den Beweis, dass nur normale Organe Chlorophyll zu erzeugen imstande sind, denn er findet, dass die im Dunkeln ergrünenden Coniferen-Keimlinge fast ebenso normal entwickelte Cotyledonen besitzen wie die im Licht. Ferner der von ihm angestellte Versuch, nämlich *Pinus Pinea*, *P. silvestris*, *P. austriaca*, *P. Picea* und *Thuja occidentalis* im Dunkeln bei 2 - 4° R. gezüchtet, wo die Cotyledonen von *P. Pinea*, *P. silvestris*, *P. austriaca* vollkommen gelb waren, *P. Picea* und *Thuja occidentalis* einen Stich ins Grüne der Cotyledonen hatten, führte ihn zur Überzeugung, dass die Wärme die Chlorophyllbildung bei den Coniferensamen im Dunkeln bewirke, insofern die Wärme imstande ist, dieselbe normale Ausbildung der Organe zu verursachen, als sie im allgemeinen durch Wärme u. Licht bedingt und entwickelt werden. Dass bei den Coniferenkeimlingen allein die Wärme bewirkt, was sonst nur Wärme und Licht verursachen, das zeige auch deutlich auf eine organisatorische Eigentümlichkeit der Coniferen hin.

SACHS (4) nimmt zu diesem Gegenstand nochmals Stellung und betont, um das Missverständnis BOEHMs zu berichtigen, dass die Gymnospermen gleich allen andern Pflanzen einer hinreichend hohen Temperatur bedürfen, wenn ihre Keimlinge auch in tiefster Finsternis das Chlorophyll bilden sollen.

Von WIESNER (5) ist dieser Gegenstand auch in der Reihe von Untersuchungen über die Entstehung des Chlorophylls in der Pflanze behandelt worden. Er hat man-

nigfaltige Versuche eingeleitet, gelangte jedoch nicht zu Tatsachen, welche die Frage gelöst hätten. So haben wir von ihm nur einige Beobachtungen und seinen Erklärungsversuch. Seine Untersuchungen über die Chlorophyllbildung ergaben, dass das Chlorophyll aus dem Etiolin entstehe, ferner dass das Chlorophyll eine organische Verbindung sei. Das Ergrünen der Finsterkeimlinge von *Pinus silvestris*, *P. nigricans*, *P. Pinea*, *Abies excelsa* und *Thuja orientalis* erklärt er folgendermassen: Während der Keimung der Coniferensamen entwickelt sich neben dem Etiolin - aus welchem auch hier zweifellos das Chlorophyll hervorgeht - eine Substanz, welche in diesem jene chemische Veränderung hervorruft, die sonst durch die Wirkung des Lichtes vollzogen wird, und die das Etiolin in Chlorophyll umbildet. - Von WIESNERs Beobachtungen ist wichtig, dass mit dem Augenblick der Etiolinbildung im Embryo, d.h. seiner Gelbfärbung, auch schon Chlorophyll spektroskopisch nachzuweisen ist. Ferner fand er von je 100 Keimlingen etioliert: Bei *Pinus nigricans* 7, bei *P. Pinea* 5, bei *P. silvestris* 4, bei *Thuja orientalis* 9. Selbst bei einer Erhöhung der Temperatur bis auf 24° C änderten die etiolierten Keimlinge ihre Färbung nicht. - WIESNER geht auf das von BOEHM gefundene Etiollement der Coniferenkeimlinge ein und meint, bei *P. Pinea* liege das Temperaturminimum für d. Chlorophyllbildung höher als die von BOEHM angewandte Temperatur betragen habe. Das von ihm selbst beobachtete Nicht-Ergrünen erklärt er dadurch, dass die Entstehung der fraglichen Substanz, die im Dunkeln die Chlorophyllbildung veranlasse, unterblieben sei. Hier könne das Licht die Einwirkung der Substanz ersetzen, um das Ergrünen der etiolierten Coniferenkeimlinge hervorzurufen, was ihm auch im Experiment gelungen war. - WIESNER stellte auch fest, dass die in Finsterkeimlingen der Coniferen auftretenden Chlorophyllkörner eine auffallende Widerstandslosigkeit gegenüber der Wirkung des Wassers zeigen. Eine solch geringe Resistenz der Chlorophyllkörner habe er an Angiospermen nie beobachtet.

BURGERSTEIN (6) hat etwa 80 Coniferenarten auf das Verhalten ihrer Dunkelkeimlinge geprüft. Bei allen sind die Kotyledonen im Dunkeln deutlich grün geworden. Die Hypokotyle sind mit Ausnahme von *Larix* auch grün. Wenn auch weniger auffallend, so ist das Chlorophyll spektroskopisch durch den Absorptionsstreifen im Rot nachzuweisen. *Ginkgo* ist die einzige Conifere, deren Keimling vollständig etioliert. BURGERSTEIN hat sich weiter die Aufgabe gestellt, die im Dunkeln und im Licht unter sonst gleichen Bedingungen gezogenen Keimlinge morphologisch zu vergleichen. Zu diesem Zwecke stellte BURGERSTEIN die im Lichte zu züchtenden Samen unter einen Glaskasten, die Dunkelkeimlinge in einen Dunkelkasten, so war gleichmässige Luftfeuchtigkeit hergestellt. Die Versuche wurden in demselben Raum angestellt, sodass auch die Temperatur gleich war. Die Messungen ergaben, dass die Dunkelkeimlinge kürzere Wurzeln, längere und zugleich dickere hypokotyle Stengelglieder sowie kürzere Kotyledonen bilden als die Lichtkeimlinge bei nahezu derselben Temperatur, Luft- und Bodenfeuchtigkeit. Ferner wird das Endosperm von Lichtkeimlingen rascher verbraucht als von Dunkelkeimlingen. Coniferensamen bei 5 - 9° gezogen liessen den Einfluss der niederen Temperatur bemerkbar werden, die Dunkelkeimlinge wiesen ein lichtereres Grün auf, gelbgrüne oder gelbe Kotyledonen mit einem Stich ins Grün. Erhitzung und Abkühlung der Samen hatten einen geringen oder gar keinen Einfluss auf den Grad des Ergrünes bei Lichtabschluss. Was die stoffliche Beschaffenheit der Coniferensamen betrifft, so stellt BURGERSTEIN fest, dass das Endosperm gewöhnlich Aleuron in fettem Öl enthalte, nur bei wenigen findet er neben Aleuron Stärke. Der Embryo ist gewöhnlich weiss wie das Endosperm, enthält Aleuron oder Amylum, auch beides. Viele Coniferensamen zeigen bei ihrem Öffnen gelbe, gelbgrüne, grüne Embryonen, so z.B. *Abies Pinsapo*, *A. Nordmanniana* u.s.f. - BURGERSTEIN ist schliesslich der Anschauung, dass die Chlorophyllbildung im Dunkeln induziert sei, d.h. sobald der Embryo durch Aufnahme von Wasser, Beginn der Atmung und Umbildung der Reservestoffe aus seiner gezwungenen Untätigkeit erwacht, tritt das schon früher induzierte Chlorophyll unabhängig vom Licht in Erscheinung. Mehr oder weniger stark oder schwach sei die Induktion bei den verschiedenen Coniferen-Arten, und als ihre Folge und zugleich eine Folge verschiedener Temperatureinwirkung sei der ungleiche Grad des Ergrünes anzusehen.

STAHL (7) geht in seiner Arbeit über die Biologie des Etiollements bei der Frage, ob nicht die Unterdrückung des Ergrünes vielleicht als eine nützliche, für

die Pflanzen wichtige Erscheinung angesehen werden kann, auf die Chlorophyllbildung bei völligem Lichtabschluss ein. Er stellt diese Erscheinung bei Algen, Bryophyten, Pteridophyten und Gymnospermen, jedoch ein Ausbleiben der Grünfärbung im Dunkeln bei sämtlichen Angiospermen fest. STAHL zitiert Annahmen von PFEFFER (8) und KRAUS (9), welche eine Erklärung und zugleich einen Zusammenhang dieser Tatsachen suchen. Nach PFEFFER wird die Chlorophyllbildung im Dunkeln auch von den Angiospermen angestrebt, wird aber durch pathologische Verhältnisse, die sich im Dunkeln einstellen, verhindert, oder es können sich durch Lichtabschluss Faktoren einstellen, die das Ergrünen hemmen. Werden diese beseitigt, so stehe der Chlorophyllbildung nichts entgegen. Nach KRAUS sollen Angiospermen, Gerste, Weizen, zur Chlorophyllbildung im Dunkeln durch Einwirkung von Methylalkohol-Dämpfen veranlasst werden können, jedoch liegt keine Bestätigung dieser Angabe vor. - STAHL gelangt in seiner vergleichenden Betrachtung der verschiedenen Fälle, wie sich die Chlorophyllbildung von den Algen bis zu den Angiospermen in ihrer Abhängigkeit vom Licht verhält, zu der Hypothese, das Verhalten der Coniferenkeimlinge im Dunkeln könne vielleicht als ein konservativer Zug angesehen werden, den sie von den in der natürlichen Entwicklung vor ihnen stehenden Pflanzen überkommen haben. Er stützt diese Ansicht auf eine Arbeit BITTNERs (10), in der als Schlussfolgerung einer übersichtlichen kritischen Ordnung der chlorophyllführenden Kryptogamen, vom Gesichtspunkt der Chlorophyllbildung bei denselben, ausgesprochen ist, dass mit höherer Organisationsstufe die Fähigkeit, Chlorophyll im Finstern zu bilden, vielfach verloren geht, so bei den Equiseten und den Lycopodiaceen. Doch sei diese Erscheinung keine durchgreifende, denn *Selaginella*, die wohl als eine von den höchst entwickelten Kryptogamen bezeichnet werden kann, vermag noch im Finstern Chlorophyll zu bilden, eine Fähigkeit, die den meisten Gymnospermen zukommt.

Durch ihre Untersuchungen haben MONTEVERDE und LUBIMENKO (11) experimentell versucht, in das Wissen von den Vorgängen bei der Chlorophyllbildung Klarheit zu bringen. Mit LIRO (12) stimmen sie darin überein, dass sie den Ergrünungsprozess von der Chlorophyllbildung unterscheiden. Unter dem Begriff Ergrünung muss man die Anhäufung von Chlorophyll in den Plastiden eines Pflanzenorgans verstehen. Dagegen bezeichnet man mit dem Begriff der Chlorophyllbildung die Entstehung dieses Pigmentes aus den primären farblosen Stoffen. Selbstverständlich sind die Bedingungen der Chlorophyllbildung zugleich für das Ergrünen notwendig. Nun aber sieht LIRO in der Chlorophyllbildung einen rein photochemischen Vorgang; das farblose Leukophyll verwandelt sich entweder unter der Einwirkung des Lichts oder bei im Dunkeln ergrünenden Pflanzen durch Wirkung eines bisher unbekanntes Katalysators in den grünen Farbstoff des Chlorophylls. Zu ganz andern Ergebnissen und Erklärungen gelangen aufgrund ihrer Arbeit MONTEVERDE und LUBIMENKO. Die Chlorophyllbildung sei keineswegs eine einfache photochemische Reaktion, wie LIRO annahm. Beweis sei, dass sich das Produkt der Lichtwirkung auf die etiolierten Pflanzen durch sein Absorptionsspektrum vom Chlorophyll im Licht gewachsener Blätter deutlich unterscheidet. Vielmehr entsteht aufgrund ihrer Beobachtungen in den Plastiden aller ergrünungsfähigen Pflanzen, unabhängig von der Lichtwirkung, ein farbiger Stoff, das Chlorophyllogen, das, sehr labil, sich leicht in ein stabiles Produkt, nämlich das Chlorophyll, verwandelt und zwar entweder durch Licht-Einwirkung oder bei den im Dunkeln ergrünenden Pflanzen vermittelt eines entsprechenden chemischen Agens. "Auf diese Weise stellen die im Dunkeln ergrünenden sowie die hierzu unfähigen Pflanzen nicht den scharfen Unterschied dar, welchen man auf Grund ihres verschiedenen Verhaltens zum Licht annehmen könnte. Beide Pflanzentypen bilden im Dunkeln aus einem farblosen Chromogen ein Pigment, welches wir vorläufig Chlorophyllogen nennen werden. Die weitere Veränderung dieses äusserst labilen Pigmentes führt dahin, dass es sich in eine stabile Form, das Chlorophyll, umwandelt. Der Unterschied zwischen beiden Pflanzentypen besteht nur darin, dass in einem Falle die Umwandlung des Chlorophyllogens in Chlorophyll den Lichtzutritt erfordert, während sie im andern ausschliesslich unter Wirkung chemischer Agentien der lebenden Zelle stattfinden kann".

Von Bedeutung für den hier zu untersuchenden Gegenstand sind die Arbeiten von WILLSTÄTTER und STOLL (13). Sie haben ungefähr 200 Pflanzenarten, darunter auch

die Fichte und *Taxus baccata*, untersucht und bei Kryptogamen und Phanerogamen die Einheit des Chlorophylls festgestellt und hinreichend begründet.

Eine Untersuchung des Chlorophylls der Dunkelkeimlinge bei *Pinus* hat COUPIN (14) mit dem Ergebnis beendet, dass hier 2 Chlorophyllarten vorhanden sind. Die eine Art entwickeln die Dunkelkeimlinge, ihre Hypokotyle zeigen einen geringen Anthocyangehalt, das andere Chlorophyll entsteht nur langsam, etwa 20 - 30 Tage nachdem die Dunkelkeimlinge ans Licht gebracht worden sind; sie besitzen dann in den Hypokotylen viel Anthocyan. Bemerkenswert erschien dem Verfasser eine Beobachtung, dass die Kotyledonen von Licht- und Dunkelkeimlingen gleichgross blieben und nur die Hypokotyle ein deutliches Etiollement aufwiesen, indem die im Dunkeln kultivierten 5 cm lang wurden, während die Lichtkeimlinge Hypokotyle von nur 3 cm zeigten.

Um die hier gestellte Aufgabe zu einem Ergebnis zu führen, so scheint mir von den in der Literatur vorgefundenen Anschauungen über die Chlorophyllbildung diejenige am besten Wegeweisend und experimentell auswertbar zu sein, die im Samen der Coniferen selbst einen oder mehrere chemische Stoffe annimmt, welche die Chlorophyllbildung in den Keimlingen durch ihre Einwirkung hervorzurufen imstande sind. So sei ganz allgemein diese Hypothese ausgesprochen, von der ausgehend die Untersuchungen in Angriff genommen werden.

II. METHODISCHE.

I. ALLGEMEINE METHODEN.

a. Keimungsanlagen.

Zur Anzucht von lebenskräftigen Keimlingen mussten bei den Versuchen die allgemeinen Keimungsbedingungen eingehalten, insbesondere aber nun die speziellen Verhältnisse bei den Coniferen beobachtet werden.

Im Keimungsprozess, den NOBBE (15) eine Metamorphose ohne Stoffbildung nennt, werden zur Anregung der formbildenden Aktion zunächst Wasser zur Quellung, im späteren Stadium zur Auflösung und Umbildung der Reservestoffe auch Sauerstoff aufgenommen. Diese Bedingungen mussten auch den Coniferensamen bei jedem Experiment dargeboten werden. Besondere Verhältnisse ergaben sich bei den Coniferen in den physikalischen Keimungsbedingungen, indem Temperatur, Luft-, Bodenfeuchtigkeit, Keimunterlagen, Beleuchtung, Lüftung ganz bestimmt geregelt werden mussten, um gesunde Keimlinge zu erhalten.

HAACK (16, 17), STINGL (18), BROWN und MORRIS (19) haben mit Samen und Embryonen Züchtungsversuche ausgeführt. An ihre Arbeiten lehnte ich mich in der Wahl meiner Versuchsanordnung an. Es standen mir: a) grosse Kristallisierschalen zur Verfügung mit einem innern Durchmesser $2r = 22$ cm und der innern Höhe $h = 7,5$ cm; b) etwas kleinere mit $2r = 20$ cm, $h = 6,5$ cm; c) bedeutend kleinere mit $2r = 14,5$ cm, $h = 4,5$ cm. - In den a)-Kristallisierschalen konnte ich bequem 4 Keimbrücken unterbringen, Glasschalen von aussen $2r = 8$ cm und aussen $h = 1$ cm, die in Wasser von 1 cm Höhe standen, der Boden der Schalen mit Fliesspapier bedeckt, von dem ein 2 cm breiter Streifen in das Wasser unterhalb, also 3 cm tief, reichte. In den b)-Kristallisierschalen hatten 3 solcher Keimbrücken, in den c)-Schalen 1 Keimbrücke Platz. So war auch ein dunstgesättigter Raum in den zugedeckten Kristallisierschalen gesichert, Luft konnte unter dem Deckelrand eindringen; für Kohlensäure-Zufuhr war durch öfteres Lüften gesorgt.

Die Versuche mit Nährlösungen waren in gleicher Weise angestellt, nur statt des Fliesspapiers lagen die Glasschalen-Deckel auf den Keimbrücken, die mit Nährsubstanz vollgesogene Glaswolle enthielten. Die Keimaparate befanden sich bei höheren Temperaturen im Thermostaten, deren einer im Dunkelzimmer stand, einer im Laboratorium und zerstreutes Tageslicht einliess, also auch dem Helligkeitswechsel von Tag und Nacht ausgesetzt war. Bei gewöhnlichen Temperaturen von $18 - 22^{\circ}$ standen die Keimaparate im Laboratorium oder im Warmhaus frei, dem Licht exponiert oder in Pappschachteln, die kein Licht durchliessen. Es war immer gesorgt, die Dunkel- bzw. Licht-Vergleichsversuche sonst annähernd gleichen Bedingungen

zu unterwerfen. Coniferen-Samen keimen auch aus, wenn sie nicht auf Fliesspapier liegen, sondern in einer Wasserschicht schwimmen, die den Zutritt des Luft-Sauerstoffs nicht verhindert. - Um die Coniferensamen in Erde zu ziehen, folgte ich den Angaben BURGERSTEINS, füllte Glasschalen mit einer Mischung von Gartenerde und Flussand, säte die Samen 1 cm tief, stülpte eine Glasglocke über die Keimchalen.

b. Versuchsanstellung mit Samen.

HAACK hält ein Vorquellen oder Anbeizen des auszusäenden Samens nicht für notwendig. Bei den von mir angestellten Versuchen mit ganzen Samen ging der Aussaat stets ein Quellen derselben von ein- bis mehrtägiger Dauer voraus, während ich vom Anbeizen Abstand nehmen konnte. Der Abstand der ausgesäten Samen durfte nicht ganz beliebig sein. HAACK machte die Erfahrung, dass der Abstand mindestens 3 - 5 cm zu bemessen sei, er säte 100 Körner auf einer Fläche von 50 qcm, um die Gefahr einer Ansteckung gesunder Samen durch kranke zu verringern. Die Quellung u. Keimung der Samen erfolgte h i e r stets in Leitungswasser, das ziemlich kalkhaltig ist, aber weiter keinen Einfluss auf meine Untersuchungen hatte. Angaben über die Keimfähigkeit der Coniferen-Arten fand ich bei KIRCHNER- LOEW- SCHROETER (20), sodass ich die Tatsache, dass viele Samen taub sind, berücksichtigen konnte ohne viel eigene Proben anstellen zu müssen.

c. Versuchsanstellung mit Embryonen.

Die Annahme, dass es sich bei dem Ergrünen der Coniferen-Samen im Dunkeln um stoffliche Vorgänge handelt, führte mich zu Versuchen mit extirpierten Embryonen. Ich fand ähnliche Versuche angestellt vor bei VAN TIEGHEM (21) sowie bei den schon zitierten BROWN und MORRIS und STINGL. Ich konnte für meine Methode davon viel verwenden. Die Coniferensamen musste ich je nach der Härte ihrer Schalen verschieden lang im Quellwasser liegen lassen, bis ich sie ohne Gefahr, Embryo u. Endosperm zu zerstören, öffnen und den Keimling herauslösen konnte. Die Samenschalen von *Biota orientalis* z.B. platzten erst nach 20 - 30 Tagen nach und nach, und erst dann konnten die Embryonen unversehrt extirpiert werden. Bei *Pinus silvestris* genügte 24-stündige Quellung in Leitungswasser von 15°. Es war auch ohne Einfluss auf die Ergebnisse, ob die Quellung im Licht oder Dunkel erfolgt war. Dagegen war es wichtig, das Extirpieren der Embryonen schnell und ohne Verletzung der kleinen Versuchsobjekte durchzuführen. Wenn die aufgeweichte äussere Samenschale durch den leichten Druck zwischen 2 Fingern oder durch leichten Schlag am Radikula-Ende aufgesprungen und dieselbe dann entfernt war, gelang es mittels der Pinzette und leichten Drückens des Endosperms zwischen den Fingerspitzen von Daumen und Zeigefinger, den Embryo unversehrt herauszulösen. Die schwierigste Stelle ist das Würzelchen, das ja mit dem Endosperm verwachsen ist. Doch gelang auch hier die Operation, weil das bereits aufgesogene Wasser hier schon gelöst hatte. Bei den letzten Versuchen der noch zu beschreibenden Transplantationsmethode mussten die Embryonen aus den grossen Samen von *Pinus Jeffreyi* und *P. Lambertiana* zum Teil ohne vorausgehende Quellung des Samens extirpiert werden, was nicht leicht gelang, da die Embryonen leicht zerbrechen. Hier operierte ich folgendermassen: Ich schnitt mit dem Rasiermesser das von den Schalen befreite Endosperm ringsum und in der Länge an, konnte dann mit Daumen und Zeigefinger leicht und gefahrlos den Samen aufbrechen, sodass die eine Endospermhälfte den unversehrten Embryo noch barg, woraus ihn zu extirpieren ziemlich gefahrlos ging.

Sollten die Embryonen im Dunkeln kultiviert werden, wurden sie gleich nach der Extirpation unter einen Blechtopf auf feuchtes Fliesspapier geborgen. Wiederholtes Aufheben des Gefässes schadete nicht dem Ergebnis innerhalb einer gewissen Zeit, bei *Pinus silvestris* z.B. von 30 Minuten. Jedoch verhielten sich die Coniferensamen darin verschieden.

Die Embryonen wurden nackt in den Keimapparat eingelegt im Abstand von 1,5 - 5 cm voneinander, je nach ihrer Grösse. Ferner wurden mit ihnen Versuche angestellt, in denen die Ernährungsbedingungen verändert dargeboten wurden. Ich hielt

mich dabei an die Methoden der zitierten Autoren. Ich züchtete frisch exstirpierte Embryonen in verschiedenen Nährlösungen auf Glaswolle. Ich öffnete die Endosperme, löste die Embryonen aus ihrem natürlichen Zusammenhang und setzte sie wieder ein in das eigene Endosperm (Replantation) oder in solches anderer Coniferensamen (Transplantation). Dabei musste beobachtet werden, dass die Pinzette immer keimfrei war, was durch Eintauchen derselben in Wasserstoffsperoxyd erreicht wurde. Die Endosperme waren frei, d.h. ohne Samenschale, auf der Keimbrücke, hielten sich unsterilisiert durch die ganze Versuchsdauer. Die Keimlinge durften mit Wasserstoff-Speroxyd (3%) zwecks Sterilisation, wie sie von GRAFE (22) für höhere lebende Pflanzen empfohlen wird, nicht behandelt werden. sie gingen mit dabei stets zugrunde. Die Keimapparate brauchten nicht keimfrei gemacht zu werden. Keimlinge in gesunden Endospermen gediehen in ihnen.

Vergeblich waren meine Versuche, schon gewachsene Embryonen in Nährgelatine oder in Nährlösung selbst zu züchten, weil die endospermfrei kultivierten Keimlinge niemals zur Wurzelbildung zu bringen waren. Daher übergehe ich die Darstellung dieser Methode.

II. BESONDERE ANGEWANDTE METHODEN.

Ich musste ausser den bisher geübten und bekannten Methoden zur Züchtung von Keimlingen noch auf andere Art und Weise versuchen, diese nicht allein zu kultivieren, sondern auch zugleich den Bedingungen der Chlorophyllbildung in den Keimlingen der Coniferen im Dunkeln beizukommen.

Ernährungsphysiologische Methoden.

Ich befolgte folgende Versuchsanordnung: Die Coniferensamen wurden nach mehrtägiger Quellung von der Samenschale und auch von der das Endosperm überziehenden rotbraunen Samenhaut befreit. Mit einer in Wasserstoffsperoxyd getauchten Pinzette wurde das Endosperm nach vorherigem Einschnitt mit dem Rasiermesser vom Embryo zur Hälfte abgelöst, sodass entweder die Kotyledonen oder das Würzelchen entblösst waren. Beim Auflegen der so behandelten Samen auf die Fliesspapierkeimbrücken kam stets der Embryo entweder mit den Kotyledonen oder dem Radikularende auf das feuchte Substrat zu liegen, sodass Streckung und Wachstum ermöglicht war.

Eine andere Methode bestand darin, Coniferensamen im Licht und Dunkeln keimen zu lassen. Sobald das Würzelchen durchgebrochen war, konnte dann der ergrünte Embryo mit den Fingerspitzen angefasst und aus seinem Endosperm herausgezogen, an seine Stelle ein arteigener Embryo replantiert oder transplantiert werden. Dies ging leicht und gefahrlos, wenn ich das Endosperm am Würzelchen mit der Pinzette abhob. Die eingeführten Embryonen waren eben exstirpiert oder schon mehrere Tage nackt im Dunkeln gezogen, dann also schon gewachsen, mit dem Kotyledonar- oder dem Radicula-Ende in das Endosperm eingesetzt. Bei diesem Vorgang der Re- und Transplantation waren Rasiermesser und Pinzette stets steril gehalten.

Die Transplantationsmethoden konnten nach und nach modifiziert und verfeinert werden. Zur Erhaltung von charakteristischen Merkmalen des Ergrünungsprozesses wurden die Operationen folgendermassen ausgeführt: Der endospermbefreite Embryo wird auf Endosperm 1) artgleicher, 2) artfremder Samen transplantiert und liegt demselben entweder mit den Kotyledonen oder der Radikula an. Der Embryo wurde aus dem ungequollenen Samen exstirpiert, weil schon 24 Stunden Quellung der unverletzten Samen von *Pinus Jeffreyi*, d.h. Stoffwanderung aus dem Endosperm in dem Embryo infolge Wasserzufuhr, ein Ergrünen des Embryo veranlassen. Ferner wurde das Radikula-Ende abgeschnitten, welchem Endosperm mit der Wurzelhaube anhaftet und welches schon genügt, um Ergrünung des Embryos herbeizuführen. So vorbereitete Embryonen zeigten im Dunkeln gezüchtet dauernd Farblosigkeit. - Das Endosperm konnte auch ganz vorzüglich nach gewisser Zeit der Übung präpariert werden. Ich löste es aus den Samenschalen heraus, führte mit dem Rasiermesser einen Schnitt rings um das Endosperm, sodass der Embryo nicht mitgefasst wurde, ich ihn dann aus dem Endosperm vorsichtig herausziehen konnte. Somit erhielt ich zwei "Endospermmitzen", die eine vom Kotyledonar-, die andere von Radicular-Ende. Beide konnten verwendet

werden, wenn sie noch etwas verkleinert wurden, sodass dem Embryo auf die Cotyledonen oder auf die Radicula je eine Endospermmitze aufgesetzt werden konnte und er im Kontakt damit kultiviert wurde. Das Endosperm konnte auch nach Halbierung des Samens als halbe Endospermscheide oder, wie wir es nennen wollen, als "Endospermlager" verwendet werden. Es wurde entsprechend der Grösse des Embryo zugeschnitten. Der Embryo wurde nun entweder in die Endosperm-Mitze hineingeschoben, wobei auf die Grösse beider Objekte geachtet werden musste, oder dem Endospermlager aufgelegt. Blieben Embryo und Endosperm arteigener und artfremder Samen 2 - 3 Tage lang in künstlich hergestelltem Kontakt, so war schon ein Grünfärben des Keimlings wahrzunehmen. Embryo und Endosperm lagen stets beide mit irgendeinem Teil auf dem feuchten Fliesspapier der Keimbrücke, hatten somit Wasserzufuhr.

Hatten die Endosperme von *Pinus Jeffreyi* und *P. Lambertiana* bei den Transplantationen sich mit wenigen Ausnahmen fäulnisfrei erhalten, so musste nun bei Versuchen, die Embryonen auf zerstörtem Endosperm zu züchten, völlig steril gearbeitet werden. Ich zerstörte embryo-befreite Endosperme durch Zerreiben im Porzellanmörser. Dieser sowie alle Gefässe, Instrumente waren sterilisiert. Die Endosperme lagen bis 5 Minuten in 1/00 Sublimatlösung, wurden dann öfters mit sterilem Wasser übergossen, dann zerrieben. Die Operationen wurden im Impfkasten vorgenommen. Die Embryonen frisch exstirpiert, ungequollen wurden in 1 o/00 Sublimatlösung, dann in steriles Wasser getaucht, mit der Pinzette mit Cotyledonen in den Nährbrei gestossen, sodass das Würzelchen dem feuchten Fliesspapier auflag.

III. CHLOROPHYLLBESTIMMUNG.

Nach MONTEVERDE und LIRO steht die Chlorophyllbildung am Anfang des Ergrünungsprozesses und es sind dann die Bedingungen der Chlorophyllbildung selbstverständlich auch für das Ergrünen notwendig.

Das erste Auftreten von grünem Farbstoff geschieht zunächst in dem Auge unsichtbaren Spuren. Alkoholische Auszüge müssten von grossen Mengen des Versuchsmaterials gemacht werden, um wenigstens im Spektroskop durch den dunklen Absorptionsstreifen im Rot das Vorhandensein von Chlorophyll anzuzeigen. Das war hier bei den kleinen Versuchsobjekten und auch infolge sparsamen Umgehens mit dem sehr teuren Samenmaterial nicht möglich. Aber schliesslich auch nicht notwendig. Wurden die Keimlinge solange unter bekannten Bedingungen belassen, bis dem Auge deutlich ein Ergrünen erkennbar wurde, durfte man doch gewiss sein, damit zugleich die Bedingungen der Chlorophyllbildung bestimmen zu können. Es kam also bei der Chlorophyllbestimmung nicht darauf an, die ersten Spuren, den Augenblick des ersten Auftretens von Chlorophyll, sondern überhaupt das Vorhandensein desselben feststellen zu können. Dazu diente das freie Auge, indem dann zur genaueren Angabe die OSTWALDSche Farbentabelle herangezogen wurde. Soweit es möglich war, wurden auch spektroskopische Nachprüfungen der Versuchsobjekte angestellt.

Die Farbentabelle wurde nach ihrem Einteilungsprinzip derart verwendet, dass ich den Weiss-Schwarz-Gehalt der Versuchsobjekte ungefähr annahm, dann die entsprechende Abteilung aus der Tabelle vergleichsweise heranzog. In dieser Abteilung wieder konnte der Farbenton gesucht und vergleichend bestimmt werden. Der Farbbestimmung geht also die Feststellung des Weiss-Schwarz-Gehaltes vor. Die mit dem Keimling übereinstimmende Farbentafel führt die Kennziffern. 00 - 100 gibt den Farbton an, und zwar ist 00 = gelb, 25 = rot, 50 = kornblumenblau, 75 = grün, 100 = gelb. Der erste Buchstabe der Kennziffern a - p gibt den Weissgehalt an, und zwar vom Maximum a zum Minimum p. Der zweite Buchstabe kennzeichnet den Schwarzgehalt vom Minimum a zum Maximum p.

Den SORBY-BROWNINGschen Mikrospektal-Apparat benützte ich nach KRAUS' (24) Anleitung, vor allem, wenn ich das Etioloment sicher bestimmen wollte, wenn also die Versuchsobjekte dem Auge keine Spur von grünem Farbstoff zeigten. Hier genügte dann die Feststellung des Fehlens des scharf begrenzten Absorptionsstreifens im Rot, zwischen B und C des Spektrums gelegen.

Gut liess sich das Mikrospektroskop zur Untersuchung des Chlorophylls der Dunkel - Lichtkeimlinge verwenden. Es hat in einem Gesichtsfeld zwei Spektren, eines von unten durch das Linsensystem vom Spiegel des Mikroskops erzeugt, das ande-

re durch seitlich einfallendes, gleichfalls von einem Spiegel hingelenktes Licht erzeugt.

Der Auszug des Chlorophylls geschah kalt mit 85% Aceton nach WILLSTÄTTERS (13) Angaben. Die ergrüntten Embryonen wurden mit einer Scheere zerkleinert und im Dunkeln in Aceton stehen gelassen. Der ungefähr gleiche Verdünnungsgrad, der bei Vergleich zweier Chlorophyllauszüge beobachtet werden muss, wurde erreicht durch Zugießen von Aceton und dann Umschütteln, bis beide Auszüge den gleichen Intensitätston der grünen Farbe annahmen.

III. EIGENE VERSUCHE UND ERGEBNISSE.

I. VORVERSUCHE.

a. Sichtung des Materials.

Das Samenmaterial, das mir Herr Prof. KARSTEN durch Mittel der PAREY-Stiftung zur Verfügung stellte, sichtete ich zunächst darauf hin, ob die Embryonen farblos sind oder schon einen ± deutlichen Stich ins Grün zeigen. Die Angaben BURGERSTEINS hierüber konnte ich benützen und bestätigt finden. Ein Chlorophyllauszug z.B. mit 85% Aceton, von *Abies Pinsapo*-Embryonen zeigte auch die Absorption im Rot des Spektrums. Für meinen Zweck, die Bedingungen der Chlorophyllbildung ausfindig zu machen, ergaben sich daher als einzig geeignet die völlig farblosen Embryonen. - Ein weiterer Gesichtspunkt bei der Wahl der Coniferensamen zu Versuchszwecken war der, ob sie keimfähig sind, ferner überhaupt in dem wohl ausgebildeten Endosperm einen Embryo bergen. BURGERSTEIN hatte auch die Beobachtung gemacht, dass die *Abies*-Samen mit relativ dicker und harzreicher Testa meist keinen Embryo enthalten. Ich halbierte die schalenbefreiten Coniferensamen mit dem Messer und fand folgende Embryonen völlig farblos in dem mattweissen Endosperm, die sich auch bei den Keimversuchen als gesund und kräftig erwiesen: *Pinus silvestris*, *P. Strobus*, *P. Pinaster*, *P. Jeffreyi*, *Picea exoelsa*, *Biota orientalis*. Von grünem Chlorophyllfarbstoff ist in diesen Samen mit freiem Auge sowie auch spektroskopisch nichts wahrzunehmen. Sie wurden daher auch in meiner Untersuchung dauernd verwendet.

b. Versuche mit Samen.

Durch Überlegung und beim Experiment wurde es mir klar, dass es schwierig sein würde, bei den Versuchen, der Beobachtung und Deutung derselben, also bei den sichtbaren Veränderungen des keimenden Samens die Keimungsbedingungen und ihre Wirkungen von den Ergrünungsbedingungen und ihren sichtbaren Spuren unterscheiden zu lernen. Dieser grundlegenden Fragestellung dienten die ersten Versuche

Ich machte BURGERSTEINS und HAACKS (26) Versuche teilweise nach und richtete dabei das Hauptaugenmerk auf die Chlorophyllbildung. Ich säte *P. silvestris* in Erde, setzlte eine Keimschale davon dunkel. Innerhalb 18 - 20 Tagen waren einige Keimlinge hervorgegangen mit gekrümmtem Hypokotyl, das im Dunkeln nach weiteren 30 Tagen 2 - 3 cm lang wurde, während die Hypokotyle der am Licht wachsenden Keimlinge gar nicht verlängert kurz über dem Boden blieben. Die Grünfärbung war bei Licht- und Dunkelkeimlingen deutlich und mit freiem Auge unterscheidbar und entsprach folgenden Tafeln der OSTWALDSchen Farbentabelle: Keimlinge im Dunkeln: 96 l c; Keimlinge im Licht: 88 l e.

Nach weiteren 8 Tagen, einen Monat seit dem Aussäen, hatten die Kotyledonen die Samenschalen noch nicht abgeworfen. Die Färbung wies folgende Unterschiede auf: Die Dunkelkeimlinge zeigten dem Boden genähert weisse Hypokotyle, die Lichtkeimlinge rotgrüne. Morphologisch unterschieden sich die Keimlinge ganz so, wie BURGERSTEIN es beschrieben hatte. Die Kotyledonen der Dunkelkeimlinge nämlich waren kürzer, die der Lichtkeimlinge länger, miteinander verglichen. Die Aussage COUPINS, dass die Kotyledonen der Dunkel- und Lichtkeimlinge gleichlang seien, ist also falsch. BURGERSTEIN hat seine Beobachtung an zahllosen Objekten durch Messung gewonnen, ich kann sie nur bestätigen. Die Hypokotyle sind im Dunkeln länger ge-

worden als im Licht.

Meine Versuche sind vom Frühjahr an bis Ende November angestellt. Niemals konnte jedoch ein Einfluss der Jahreszeit auf das Ergebnis des Ergrünnens im Licht wie im Dunkeln festgestellt werden. HAACK hat für die Keimung dasselbe konstatiert, denn unter gleichen optimalen Bedingungen erfolgte die Keimung der Kiefern- und Fichtensamen in allen Jahreszeiten ganz gleichmässig. HAACK hatte den Einfluss der Wärme auf das Keimungsergebnis studiert. Die Regel, die er aufstellte, dass die Keimung um so schneller vor sich geht, je höher die Temperatur des Keimraumes ist, kann ebenso für die Chlorophyllbildung gelten, denn bei allen von mir angestellten Versuchen und Beobachtungen der Einwirkung verschiedener Temperaturgrade auf das Ergrünen war es nicht möglich, Keimungs- und Ergrünungsbedingungen voneinander getrennt zu beobachten. *P. silvestris* bei 16° brauchte auf Fliesspapier gezüchtet längere Zeit, um auszukeimen und mit dem Ausbruch des Würzelchens zugleich Chlorophyllbildung zu zeigen, als Kiefern Samen in einer Temperatur von 25° gehalten.

In HAACKs Versuchen zur Prüfung des Kiefern Samens, insbesondere was den Einfluss des Lichtes auf die Keimung anlangt, suchte ich nach Versuchsanstellungen, die trotz verschiedenen Keimungsbedingungen einen nennenswerten Unterschied im Keimungsverlauf nicht zeigten. Ich konnte vielleicht gerade durch diese verschiedenen Bedingungen eine Verschiedenheit für das Ergrünen erzielen. In dieser Absicht machte ich auch Versuche HAACKs nach, um die Einwirkung verschiedener chemischer Stoffe auf die Keimung zu studieren. Es kam darauf an, Bedingungen irgend einer Art zu stellen, die nicht so sehr den Keimungsvorgang, wohl aber die Chlorophyllbildung modifizierten, evtl. hinderten. Diese Versuche wurden mit *P. silvestris* unternommen, welche durch kurze Keimzeit der Samen ausgezeichnet und der experimentellen Beobachtung dadurch entgegenkommend ist. Es galt zu untersuchen, inwieweit Verschiedenheiten der Lichtfarbe von Einfluss sind auf die Chlorophyllbildung der Coniferenkeimlinge.

Ich liess Kiefern Samen auf Keimbrücken ankeimen und zwar unter einer Glasglocke, die zerstreutes Tageslicht zuliess, ferner unter einer SACHSschen Doppelglocke mit doppeltchromsaurer Kalilösung gefüllt. Ein dritter Keimapparat stand unter einer Doppelglocke mit Kupferoxydammoniak. Endlich ein vierter im völligen Dunkel unter einem Pappdeckelzylinder. Die gleiche Luftfeuchtigkeit herrschte in den gleichgrossen Keimapparaten (c), dieselbe Temperatur $T = 18 - 22^{\circ}$, da die Versuche im gleichen Raum gemacht wurden. Die Ergebnisse stimmten mit denen HAACKs überein; vorwiegend die hellen, gelben und roten Lichtstrahlen förderten die Keimung. Was die Chlorophyllbildung betrifft, so trat sie unter allen Bedingungen ein, also i. Tageslicht, in Rot-Orange-Gelb-Grünlicht unter der doppeltchromsauren Kalilösung, im Grün-Blau-Indigo-Violett-Licht unter der Kupferoxydammoniaklösung, sowie in völliger Finsternis; und zwar war dem unbewaffneten Auge die Grünfärbung deutlich erkennbar in dem Augenblick, wo das Würzelchen die Samenschale ein klein wenig durchbrochen hatte. Das Würzelchen war je nach dem, ob die Keimung durch d. Lichtart gefördert oder gehemmt war, früher oder später ausgetreten, entsprechend die Chlorophyllbildung früher oder später zustande gekommen. - Versuche, Kiefern Samen gasförmigen Stoffen auszusetzen, stellte ich derart an, dass die Keimbrücken auf Glasplatten standen, über die eine Glasglocke luftdicht gestülpt werden konnte. In einem Schälchen unter der Glocke verdunsteten je 2 ccm Äther, Chloroform, Terpentin. Die Kulturen waren im Dunkel in Äther 24 Stunden und dann an der Luft gezüchtet nach 6 Tagen ausgekeimt und zeigten grüne Kotyledonen. Im Terpentinampf im Dunkeln bei $T = 18 - 22^{\circ}$ gezogen, wobei auch Luft durch ein Glasrohr zutreten konnte, waren die Kiefern Samen erst nach 9 Tagen ausgekeimt, ihre Kotyledonen waren ergrünt. In Alkohol und Chloroform war es garnicht zur Keimung gekommen, die Samen waren allmählig zugrunde gegangen.

Die Samen im Dunkeln auf Lösungen wie KNOPsche Nährlösung, Rohr-, Traubenzucker, Kalisalpetperlösung gezüchtet, brachten auch keine Abweichungen von dem gewöhnlichen Verhalten in bezug auf das Ergrünen der Keimlinge. Die gleichen Erfahrungen machte ich, als ich Kiefern Samen in Keimkölbchen nach DETMERS (23) Angaben in Wasserstoff-, Sauerstoff-, Kohlensäure-Atmosphäre ziehen wollte. In Sauerstoff allein waren die Samen ausgekeimt, die Keimlinge grün geworden.

Die Ergebnisse der Vorversuche bestehen zusammengefasst darin, dass durch aus-

sere, an den keimenden Samen herangebrachte physikalische oder chemische Bedingungen keinerlei experimentelle Eingriffe in die Ergrünungsfähigkeit des Keimlings getan werden können derart, dass sie die Keimung zulassen, zugleich aber die Chlorophyllbildung irgendwie stören, hemmen, fördern oder gar hintanhaltend.

II. VERSUCHE MIT NACKTEN EMBRYONEN.

Diese Vorversuche konnten in der vorgefassten Meinung bestärken, dass nur eine stoffliche Eigenschaft, ein chemisches Agens, wie LUBIMENKO sagt, ein stofflicher Katalysator nach LIRO, im Samen selbst die Ergrünung hervorruft. Hier mussten Überlegung und Experiment einsetzen. Die natürliche Beschaffenheit des Coniferensamens bot die oben beschriebene Methode geradezu an, die Exstirpation des Keimlings, da sich ja Embryo und Endosperm trennen lassen.

Ich legte exstirpierte Embryonen von *A. silvestris*, die mattweiss und durchschnittlich ungefähr 3 mm lang waren, auf Fliesspapier-bezogene Keimbrücken; der Keimapparat, also die Kristallisierschale mit der Keimbrücke, stand in einem Thermostaten bei einer Temperatur von 27° im Dunkelzimmer. Nach 4 Tagen hatten sich die Embryonen auf 6 mm gestreckt und waren farblos sowohl dem Auge als auch spektroskopisch war absolut kein Farbstoff festzustellen. Nun blieben die Dunkelkeimlinge in zerstreutem Tageslicht, waren dem Wechsel von Tag und Nacht ausgesetzt. Nach 3 Tagen waren sie leicht, nach 5 Tagen deutlich wahrnehmbar ergrünt, und zwar Kotyledonen und Hypokotyl. Ein anderer Versuch in gleichen Bedingungen wie zuvor, bei einer Temperatur von 22 - 25° angestellt, ergab nach 6 Tagen völlig farblose Dunkelkeimlinge, die ans Licht gebracht nach 3 Tagen einen Stich ins Grün hatten. Das Weiss der Dunkelkeimlinge entsprach der Farbentafel 0 8 b a. Das Grün nach 3 Tagen Tagesbeleuchtung der Farbentafel: 92 g b. - Beim Gegenversuch blieben u. a. exstirpierte Kieferkeimlinge bis 30 Minuten im Licht, wurden dann dunkel gehalten, waren nach 4 Tagen farblos. - *Picea excelsa*-Embryonen wurden nach 5-tägigem Quellen herausgelöst, standen eine Stunde im Licht und wurden dann im Dunkeln bei T = 22 - 25° gezogen. Nach 3 Tagen war ein Stich ins Grüne zu konstatieren. - Ein solches Etiollement der Keimlinge im Dunkeln ergab sich auch mit Embryonen von *Pinus Strobus*, *P. Jeffreyi*, *P. Pinaster*, *Biota orientalis*. Die im Dunkeln weiss gebliebenen aber gewachsenen Keimlinge zeigten keine Spur von Farbstoff weder dem Auge noch der spektroskopischen Prüfung.

Es ist somit gelungen, ein Etiollement einiger Coniferen-Keimlinge durch endospermfreie Züchtung im Dunkeln herbeizuführen. Es verhalten sich so die Dunkelkeimlinge solcher Coniferenarten, deren Samen schon vor der Keimung einen farblosen Embryo aufweisen.

Ich stellte mir die Aufgabe, Coniferenembryonen in Tagesbeleuchtung einerseits, bei völligem Dunkel andererseits, unter sonst gleichen Bedingungen zu züchten, ihr verschiedenes Verhalten in bezug auf Wachstum und vor allem Ergrünung zu beobachten. Die Keimapparate wurden gleichmässig eingerichtet, immer die gleichen Kristallisierschalen in den Parallelversuchen verwendet, ferner die gleiche Keimraum-Temperatur beobachtet. Eine solche T = 5 - 14° hatte ich im ungeheizten Warmhaus, T = 14 - 18° fand ich im Laboratorium vor durch die Versuchszeit, 16 - 23° im geheizten Arbeitszimmer des Instituts, T = 25 - 30° wurde in Thermostaten erzielt, von denen der eine im Dunkelzimmer stand, der andere im Arbeitszimmer frei dem Tageslicht exponiert.

Aus *A. silvestris*-Samen, die 5 Tage lang in Quellwasser gelegen hatten, wurden Embryonen herausgelöst, und bei einer Temperatur, die durch Tag und Nacht zwischen 2 - 14° schwankte, im Licht und im Dunkel gezogen. Die Embryonen, 3 mm lang vor der Kultur, erreichten nach 4 Tagen eine Länge von 4 mm im Licht, 4 - 5 mm im Dunkel und waren farblos. Nach wieder 4 Tagen waren die Lichtkeimlinge 4,5 mm lang, hatten einen Stich ins Grün (92 g b). Die Dunkelkeimlinge waren schon 5,6 - 6,5 mm lang, farblos. Nach weiteren 5 Tagen, 13 Tage nach der Aussaat der Embryonen, waren die Lichtkeimlinge 6 mm lang, deutlich grün (94 g a). Die Dunkelkeimlinge, 7 mm lang, waren völlig etioliert, farblos. Eine Reihe solcher Versuchsbeobachtungen wurden auch mit anderen Coniferen-Embryonen abgestellt (siehe

Tabelle 1). Eine Kultur bei der Temperatur $T = -4$ bis $+5^{\circ}$ gelang nicht, es war keine Veränderung bei *Picea excelsa* und *Pinus Strobus* auch nach 9 - 10 Tagen zu beobachten, die zarten Keimlinge waren erfroren.

Das Ergebnis dieser Versuchsreihe ist erstens: Die Dunkelkeimlinge werden länger (nur *Biota orientalis* macht eine Ausnahme), als die am Licht gezogenen Embryonen. Licht- und Dunkelkeimlinge wachsen mit höherer Temperatur schneller heran.

Zweitens: Die Dunkelkeimlinge der im Versuch gebrauchten Coniferen bleiben bei allen Temperaturen farblos, die Lichtkeimlinge ergrünen, und zwar umso schneller, je höherer Temperatur sie ausgesetzt sind.

Eine andere Versuchsreihe sollte das Verhalten der Coniferen-Embryonen in den weniger gebrochenen Spektrumsfarben Rot-Orange-Gelb-Grün und in den stärker gebrochenen Grün-Blau-Indigo-Violett im Vergleich zum zerstreuten Tageslicht zeigen (siehe Tabelle 2).

Die Versuche lassen darauf schliessen, dass sich farblose Coniferenkeimlinge so wie die etiolierten Keimlinge nur am Licht ergrünungsfähiger Pflanzen verhalten. Im stärker gebrochenen Teil des Spektrums wird das Wachstum zurückgehalten, das Ergrünen erfolgt langsamer als im weniger gebrochenen Farbenbezirk.

Bei *P. silvestris* erfolgte die Chlorophyllbildung im Rot-Orange-Gelb-Grün ebenso wie im Tageslicht am 7. Tage der Kultur, im Grün-Blau-Indigo-Violett war Ergrünung erst am 12. Tage zu bemerken.

Eine Reihe von Versuchen stellte ich an, um den Einfluss verschiedener Gase auf die im Dunkeln etiolierenden Embryonen zu studieren: Alkohol- und Chloroformdämpfe wurden nicht versucht, weil sie schon die ganzen Samen getötet hatten. In Äther, welcher Samen unversehrt gelassen hatte, konnten die Keimlinge nicht gedeihen. Durch 7 Tage Beobachtung faulten sie nicht, veränderten ihre Gestalt nicht, blieben mattweiss, sie waren dem Starretod erlegen. In Terpentinatmosphäre gedeihen die Dunkelkeimlinge (siehe Tabelle 3). Das Ergebnis ist, dass terpenhaltige Luft nur Wachstums-hemmenden Einfluss hat. *P. silvestris* z.B. ist am 7. Tage der Kultur in Terpentin-Atmosphäre 5 mm lang, *P. Strobus* 4 und 5 mm lang. Im zerstreuten Tageslicht ergrüneten diese Keimlinge in der Terpentin-Atmosphäre.

Terpentin hat demnach keinen Einfluss auf die Chlorophyllbildung der Coniferen-Keimlinge.

III. ERNÄHRUNGSPHYSIOLOGISCHE VERSUCHE MIT EMBRYONEN.

a. Auf organischen Lösungen.

Im Verlauf der Untersuchung konnte man durch ihre Ergebnisse immer mehr in der vorgefassten Meinung von der Chlorophyllbildung im Dunkeln als eines nur stofflich bedingten Vorganges bestärkt werden; alle Versuchsbeobachtungen wiesen auf den ernährungsphysiologisch-experimentellen Weg.

Ich begann mit künstlicher Ernährung der Embryonen in organischen Lösungen. Auf Glaswolle lagen die exstirpierten Embryonen im Thermostaten bei einer Temperatur $T = 25 - 32^{\circ}$ im Dunkelzimmer. Fäulniserscheinungen, die übrigens nur leicht durch Geruch festgestellt wurden, taten den Ergebnissen keinerlei Abbruch. Auch diesmal wurden Embryonen von *P. silvestris* als die keimkräftigsten und in grösseren Mengen wegen der Billigkeit verwendbaren gebraucht. Die Konzentrationen der Lösungen wurden nach Vorversuchen endgiltig verwendet (siehe Tabelle 4). Es ergaben sich die organischen Lösungen als ziemlich neutral, fördernd oder tödend für die nackten Keimlinge.

Die Keimlinge waren in Nährlösungen stets farblos geblieben.

b. Versuche mit Embryonen auf Endospermen.

Aussichtsreich wurden die Untersuchungen, inwieweit Ernährungsmassnahmen der Embryonen mit Endospermen das Wachstum, vor allem aber das Etiollement der Coniferen-Embryonen beeinflussen. Denn, sind die Embryonen bei völligem Entzug des Endospermas im Dunkeln farblos geblieben, dagegen im ungestörten Zusammenhang mit

demselben bei Licht-Abschluss an Kotyledonen und Hypokotylen ergrünt, so sind die Bedingungen der Chlorophyllbildung im Dunkeln bei den Coniferensamen also entweder im ungestörten Zusammenhang, in der ungestörten Symbiose von Embryo und Endosperm oder zweitens in einer stofflichen Beeinflussung zu suchen, wonach eine Lösung des Embryo aus dem Endosperm und ein Wiedereinsetzen in die alte Lage als Störung der nat-urgegebenen Symbiose gedacht ist, und der Einfluss dieser Operation auf das Ergrünen zu untersuchen wäre. Ich traf die im II. Teil beschriebenen Versuchsanordnungen zur Untersuchung der nunmehr soweit gediehenen Aufgabe.

Zunächst durfte der natürliche Zusammenhang von Keimling und Nährgewebe nicht gestört werden. Ich liess den Embryo nur mit den Kotyledonen im Endosperm, das nackte Radikularende lag auf dem feuchten Substrat. Aber es konnte auch das Wurzelchenende des Embryo im unversehrten Kontakt mit dem Endosperm gehalten werden, dann besorgten die entblössten Kotyledonen die zum Wachstum nötige Aufnahme tropfbar flüssigen Wassers. Die Kulturen derart operierter Coniferensamen von *Pinus silvestris*, *P. Jeffreyi*, *P. Pinaster* und *Picea excelsa* wurden im Dunkeln bei optimaler Temperatur gehalten. Die kleineren Samen, *P. silvestris* und *Picea excelsa*, faulten sehr bald, nur einzelne Objekte hielten sich mehrere Tage lang, die grossen Samen, vor allem *P. Jeffreyi*, vertrugen alle Operationen. Es gab immer nur leichten, örtlich beschränkten Fäulnisflug am Endosperm, der immer wieder abgehoben und abgewaschen in fliessendem Leitungswasser die Kultur der Versuchsobjekte weiter nicht hemmte. Es wurden immer nur die Fälle in Tabelle 5 angegeben, wo der Kontakt zwischen Embryo und Endosperm in keiner Weise durch Fäulnis gestört worden war. Das Ergebnis ist:

Erstens war es nun möglich geworden, auch die grösseren Coniferensamen, *P. Jeffreyi*, *P. Pinaster* zu Versuchen zu verwenden, indem der Embryo teilweise entblösst, eben dadurch schneller das zur Keimung notwendige Wasser aufnehmen, mit den Cotyledonen im Endosperm steckend, normal auskeimen, Wurzel bilden, wachsen kann. Ganze Samen der grossen Coniferen brauchen sonst monatläng, um unter günstigsten Bedingungen auszukeimen.

Zweitens ist nun experimentell festgestellt, dass die angeführten Coniferen-Keimlinge im ungestörten Kontakt, wie er von Natur aus ist, sowohl der Kotyledonen mit dem Endosperm als auch des Radikularendes mit dem Endosperm, die Bedingungen, die zum Ergrünen erforderlich sind, erfüllen. Ein Unterschied der verschiedenen Behandlung der Embryonen zeigt sich doch in den beobachteten Wirkungen, indem die Dunkelkeimlinge, deren Kotyledonen im Kontakt mit den Endospermen gestanden haben, ein rascheres und vollständigeres Ergrünen der Kotyledonen und des Hypokotyls aufweisen, während die Dunkelkeimlinge mit dem Radikularende im Endosperm verbleibend sich nur langsam grün färben, wie bei *P. Jeffreyi* beobachtet wurde zuerst gelb, allmählig grün werdend.

Während meiner Versuche konnte ich vor allem an dem ganz vortrefflichen Versuchsobjekt von *P. Jeffreyi* die Beobachtung machen, dass extirpierte Embryonen im Dunkeln nach einigen Tagen gelblich wurden, am 19. Tag z.B. der Kultur ganz gelb (94 e a) geworden waren. Sie waren am 21. Tage grün gefärbt, bei einem anderen Keimling schon am 6. Tage der Kultur. *P. Pinaster*-Embryonen zeigten dieselbe Erscheinung auch schon nach 6 Tagen. Wieder andere nackte Embryonen von *P. Jeffreyi* und *P. Pinaster* waren völlig farblos geblieben unter den gleichen Bedingungen und gewachsen. Bei genauerer Untersuchung und dem Vergleich der farblosen und gelb gefärbten nackten Embryonen, die unter ganz gleichen Bedingungen sich im Dunkeln so verhalten hatten, stellte sich heraus, dass die gelben Keimlinge am Radikularende durch die Wurzelhaube mit daran haftendem Endosperm ein klein wenig angeschwollen erschienen. Die farblosen Keimlinge hatten diese Anschwellung nicht, ihnen fehlte Wurzelhaube und Endosperm an der Radicula, sodass deren Endspitz auslaufend deutlich von dem plumpen Ende gelber Embryonen zu unterscheiden war. Bei dem Extirpieren war an den gelb gewordenen Keimlingen mehr oder weniger Endosperm mit der Wurzelhaube hängen geblieben, dies allein konnte gelb-grün-Färbung bewirkt haben.

Folgender Gedanke war auch nicht abzuweisen und forderte dringend genauere Einsicht durch das Experiment in die beobachtete Erscheinung. Der Gedanke kam bei der Durchsicht der Quellzeit-Angaben der Versuche. Ob nicht noch vor der Extir-

pation der Embryo während der Quellung die fragliche Substanz aus dem Endosperm aufgenommen hatte, die die Chlorophyllbildung nach der hier vertretenen vorgefassten Ansicht hervorruft, sodass nun diese Substanz, dies chemische Agens, im vom Endosperm befreiten Embryo weiter wirkt, indem derselbe sich gelb, dann grün färbt. Denn die in den Versuchen angewandten Embryonen von *P. Jeffreyi* hatten 2-4 Tage, die von *P. Pinaster* 4 Tage im Quellwasser gelegen. Diese Beobachtung, dass schon die kleinsten Mengen von Endosperm am Embryo haftend, ihn im Dunkel zur Chlorophyllbildung veranlassen (Lichtwirkung anzunehmen verbot die Tatsache, dass im Keimapparat auch völlig farblose Embryonen vorhanden waren), hiess mich, der Erscheinung experimentell auf den Grund zu gehen. Folgende Fragen mussten also durch den Versuch zunächst beantwortet werden: 1. Genügt der am Radikularende befindliche Endospermrest, der beim Herauslösen des Embryo an diesem haften bleibt, das Ergrünen herbeizuführen? 2. Erfolgt schon während der Quellung die Translokation des chlorophyllbildenden Stoffes aus dem Endosperm in den Embryo?

Es wurde mit Samen von *P. Jeffreyi* gearbeitet. Dieselben lagen 2 oder mehrere Tage im Brunnenwasser, sie schwammen an der Oberfläche. Ihre sowie die Embryonen ungequollener Samen wurden extirpiert, das Radikularende abgeschnitten, oder dann die herausgelösten, sonst unversehrten Embryonen mit der Wurzelhaube und dem daran haftenden Endosperm belassen, alle auf Keimbrücken in völliger Dunkelheit unter zwei Pappzylindern gezüchtet. Die Versuche gingen im Warmhaus bei $T = 18 - 26^{\circ}$ und stets guter Luft vor sich. Tabelle 6 bringt die angestellten Versuche u. beantwortet die zwei Fragen folgendermassen:

1. Die geringe Menge von Endosperm, die bei der Extirpation des Embryo an diesem haften bleibt, ist imstande, die Chlorophyllbildung im Keimling im Dunkeln zu bewirken.

2. Der natürliche Kontakt zwischen Embryo und Endosperm im Koniferensamen, physiologisch hergestellt durch Quellung von 1 bis mehreren Tagen, genügt schon, die Ergrünungsbedingungen im Embryo zu erfüllen. Je länger der Kontakt dauert, um so intensiveres Ergrünen ist festzustellen.

Ich wollte mir ferner durch das Experiment auf die schon oben angedeutete Frage antworten lassen, ob es zur Chlorophyllbildung im Koniferenembryo notwendig sei, dass er im ungestörten naturgegebenen Kontakt mit dem Endosperm bleibe. Ich löste Embryonen aus ihren Endospermen heraus und tat sie dann sofort wieder in das 1. eigene (Replantation), 2. arteigene, aber individuell fremde Endosperm (Transplantation). Im Anfang experimentierte ich mit den kleinen Samen von *R. silvestris* u. s. w., die sich als nicht kräftig genug ergaben. Durchaus anders, vortrefflich, bewährten sich die grossen Samen mit kräftigem Keimling und viel Nährgewebe. Nach 3-tägiger Quellung wurden Embryonen von *R. Jeffreyi* nach obiger 1.-Methode behandelt und in dem Keimapparat bei $10 - 20^{\circ}$ im Dunkeln gezogen. Am 6. Tage konnte man die Chlorophyllbildung mit freiem Auge feststellen. Die Kotyledonen, die der eigenen Endospermhälfte anlagen, waren grün und länger als die nicht unmittelbar das Endosperm berührenden, die auch noch farblos waren. Am 7. Beobachtungstage war das Ergrünen auch an den andern Kotyledonen schwach zu erkennen, deutlich an dem Hypokotyl. Der Vergleich mit der Farbentafel ergab für den vorwiegenden Farbenton des Grüns 92 i d. - Andere Embryonen waren am 2. Tage gequollen, dann wie oben zur Keimung ausgelegt, bei 17 und 22° . Am 5. Tage bereits zeigten sie an den dem Endosperm angelegenen Kotyledonen Grünfärbung (95 e a).

Ich änderte die Versuchsanstellung, indem ich nun schon gekeimte, d. h. gewachsene farblose Embryonen von *R. Jeffreyi* in arteigenes Endosperm eines andern Samen einsetzte, in welchem bereits der eigene Embryo mit den Kotyledonen ergrünt und dann herausgelöst war. Embryo und Endosperm waren schon 19 Tage alt, als ich den Embryo mit den Kotyledonen in das fremde Eiweiss setzte, transplantierte. Nach 2 Tagen war schon Grünfärbung im Embryo zu beobachten. Dasselbe konnte auch an einem transplantierten 6 Tage alten Embryo am 6. Tage nach der Operation festgestellt werden. Hier war aber das Radikularende in fremdes Endosperm gesteckt. Unter den vielen Versuchen mit *Picea* war mir ein Stück zur Beobachtung geeignet geblieben. Es bestätigt die bisherigen Ergebnisse. Das Endosperm von *Picea* wurde am 8. Tage nach der Aussaat des Samens bei $22 - 25^{\circ}$ im Dunkeln von

Samenschale und dem bereits ergrünten Keimling befreit. In seine Stelle schob ich einen eben exstirpierten *Picea*-Embryo mit dem Radikularende hinein. Nach 7 Tagen konnte man an dem Embryo Wachstum und Grünfärbung deutlich wahrnehmen. Das Ergebnis dieser Versuche der Transplantationsmethode ist eindeutig so zu fassen:

Ein künstlich wiederhergestellter Kontakt von Embryo und Endosperm aus arteigenem Samen genügt, um den Keimling zur Chlorophyllbildung in seinen eigenen Kotyledonen und im Hypokotyl im Dunkeln zu befähigen.

Es war möglich, die Methode der Transplantation auszuwerten, um noch einiges über den Ergrünungsprozess im Coniferenembryo zu erfahren. - Bisher konnte festgestellt werden, dass der Embryo auch im Dunkeln ergrünt, wenn er mit arteigenem Endosperm in Kontakt sich befindet. Berühren sich Embryo mit seinen Kotyledonen oder seiner Radikula und Endosperm infolge natürlicher Beschaffenheit des Samens oder durch infolge Replantation, Transplantation künstlich hergestellten Kontakts beider, so bildet sich im Embryo der Chlorophyllfarbstoff im Dunkeln, während der Embryo ohne Endosperm im Dunkeln farblos bleibt. Daraufhin kann behauptet werden, dass diese Wirkung des Endosperms auf den Embryo durch einen Stoff, nennen wir ihn "Chlorophyll-Agens" (es können auch mehrere Stoffe sein) ausgeübt wird, der hinüberwandert, transloziert. Es fragt sich nun, können wir keine näheren Daten der Translokation bestimmen. - Zunächst folgende Frage: Besteht zwischen Embryo und Endosperm arteigener und artfremder Samen eine Abhängigkeit, insofern beide dieselbe, zeitmässig zu messende Entwicklung durchmachen müssen, sodass nur ihre parallele Ausbildung von dem Zeitpunkt an, da sie in den Keimapparat getan werden, die Translokation des Chlorophyllagens möglich macht. Es könnte ja der blosser Kontakt genügen, der die physikalisch-chemischen Bedingungen zur Chlorophyllbildung im Embryo herstellt. Das Endosperm, zu irgend einem Zeitpunkt in der Entwicklung des Embryo diesem angelegt, bildet nur den Stoffvorrat, der immer auch das Chlorophyllagens liefert.

Zur experimentellen Beantwortung wurden ungequollene Embryonen von *P. Jeffreyi* verschiedenen Bedingungen unterworfen und zwar auf Endospermen von *P. Jeffreyi* (Tabelle 7) und solchen von *P. Lambertiana* (Tabelle 8). Der Embryo und der ganze Coniferensamen wurden einige Tage mit Wasser in Berührung gebracht, der Embryo auf eine Keimbrücke; der Samen schwamm im Wasser der Keimschale. Der Keimapparat stand dauernd im Dunkeln in der Temperatur des Warmhauses = 18 - 26°. Nach dieser Zeit exstirpierte ich den Keimling aus dem gequollenen Samen, setzte in die hergestellte Endospermhülle oder in das Endospermlager den farblosen, ebensoviel Tage alten oder einen eben erst exstirpierten Embryo ein (1, 3 auf Tabelle 7, 8). Eine andere Versuchsart geschah so, dass der frisch exstirpierte Embryo auf die noch ungequollene Endospermhülle oder das Endospermlager transplantiert wurde (2 auf Tabelle 7/8). Ein anderer Versuch sollte zeigen, ob das Chlorophyllagens und überhaupt die Stoff-Verwandlung im embryolosen Endosperm auch vor sich gehe. Ich exstirpierte die Embryonen, legte die Endospermhüllen und -lager dann gleich auf die Keimbrücke zur Quellung. Die Transplantation von Embryonen geschah erst n Tage nach der Quellung des Endosperms, und dann von frischen oder von n Tagen kultivierten Embryonen (4/5 der Tabellen 7, 8). - Zum Verlauf der Versuche muss gesagt werden, dass sie nur an den angegebenen Beobachtungsterminen im zerstreuten Tageslicht des botan. Laboratoriums kurze Zeit offen lagen. Sonst standen die Keimapparate unter 2 Pappzylindern. Nur ausnahmsweise war auch Fäulnis eingetreten, welche Objekte auf die Nachbarversuche, die in 3 - 5 cm Abstand lagen, keinen schädigenden Einfluss hatten. Waren die Endosperme faul, so konnten die Embryonen noch erhalten werden und ergaben normales Wachstum und Ergrünen, denn die mehrere Tage lange stoffliche Einwirkung des Endosperms hatte ja genügt, um auch das Chlorophyll-Agens dem Embryo mitzuteilen. Je grössere Berührungsflächen von Embryo und Endosperm den Kontakt herstellten, umso intensiveres Ergrünen war festzustellen. Lagen die Embryonen mit Kotyledonen oder der Radikula in einer Endospermhülle, war der Embryo an den Kotyledonen allseitig grün. Lagen die Embryonen auf Endospermlagern, also nur einseitig, so war diese Berührungsfläche des Embryo besonders intensiv gefärbt, während die abseits befindlichen Kotyledonen nur einen grünen Hauch aufwiesen. Streng geachtet wurde darauf, nur vollkommen vom Endosperm befreite Embryonen zu transplantieren, sie also an Radikular-

ende von demselben völlig zu reinigen.

Die Tabellen 7 und 8 bringen die Versuche. Die Arbeiten waren reinlich und wiesen eindeutige Ergebnisse auf. Es ergaben sich, ob die Transplantationen auf arteigenes oder artfremdes Coniferen-Endosperm ausgeführt waren, die gleichen Resultate.

Ganz beliebige Zeit kultivierte Embryonen und Endosperme arteigener und artfremder Coniferensamen (*P. Jeffreyi*, *P. Lambertiana*) in Kontakt gebracht, sodass die Stoffe von einem zum andern translozieren können, erfüllen die Bedingungen der Chlorophyllbildung in Coniferen-Embryonen im Dunkeln. Zwischen Embryo und Endosperm arteigener und artfremder Coniferensamen ist keine Parallelentwicklung beider notwendig, die das Ergrünen der Embryonen bei Lichtabschluss bedingen würde. - Das Endosperm, embryo-befreit, wasseraufsaugend, ist imstande, das Chlorophyll-Agens zu liefern.

c. Ernährungsversuche auf zerstörten Endospermen.

Schliesslich war noch der Versuch zu machen, ob ein Embryo auf zerstörtem Endosperm ergrünte. Es wurden Endosperme von *P. Jeffreyi* und *P. Lambertiana* a. nach 3 Tagen Quellung, b. frisch, steril zerrieben. In den Nährbrei, der auf die Keimbrücke aufgelegt war, stiess ich Embryonen von *P. Jeffreyi* mit den Kotyledons-Spitzen hinein. Nach 2 Tagen waren die Embryonen aufgequollen und farblos. Auch im weiteren Verlaufe zeigte sich keine Färbung, weder gelb noch grün, weder bei den Versuchen a noch bei denen b. - Das Ergebnis ist also:

Zerstörtes Coniferen-Endosperm ist nicht imstande, in den Embryonen Ergrünung zu bewirken. Es gehört allem Anschein nach die natürliche Organisation des Endosperms, d.h. seiner Zellen dazu, das Chlorophyllagens zu erzeugen und in den Embryo translozieren zu lassen.

IV. SPEKTROSKOPISCHE CHLOROPHYLLUNTERSUCHUNGEN.

WILLSTÄTTER und STOLL mahnen in ihrem Werk über das Chlorophyll (13), den Nutzen der spektralanalytischen Methode zur Untersuchung des Chlorophylls nicht zu überschätzen, was oft geschehen ist und zu schweren Irrtümern geführt hat. Manche bedeutende Veränderung des Chlorophylls und seiner Derivate ist nämlich ohne Einfluss auf das Absorptionsspektrum, während andererseits gewisse konstitutionell geringfügige Änderungen unverhältnismässig grosse Änderungen im Spektrum hervorrufen. Zeigt uns daher die spektroskopische Beobachtung von Dunkel- und Licht-Chlorophyll Unterschiede, so sind sie wohl die Wirkungen verschieden gearteter Farbstoffe.

COUPIN will ja tatsächlich zweierlei Chlorophyll in Licht- und Dunkelkeimlingen von Coniferensamen beobachtet haben. Während es scheinbar nur von dem für das Auge auffallenden Farbtonunterschied auf zwei Chlorophyllarten schliesst (denn eine Methode seiner Untersuchung gibt er überhaupt nicht an), sollte hier die spektralanalytische Methode angewandt werden. Ich züchtete Coniferensamen ungefähr 20 Tage lang am Tageslicht und im Dunkeln. Aus den ergrünten Keimlingen machte ich Aceton-Auszüge in gleichem Grad der Verdünnung. Die Schichtendicke eines Reagenzglasess untersuchte ich auf Absorption. Ich hatte beide Spektra gleichzeitig im Gesichtsfeld und arbeitete nur bei direktem Sonnenlicht. Vergleichsweise zog ich auch Aceton-Auszüge von Haferkeimlingen heran. Bei dem nicht zu starken Verdünnungsgrad der Auszüge waren vor allem die Absorptionsstreifen im Rot deutlich sichtbar. Diese, doch auch die anderen Absorptionslinien und Verdunkelungen der Chlorophyllspektren unterschieden sich gar nicht voneinander, wenn ich die Aceton-Auszüge von Haferkeimlingen und Coniferen-Licht- und Dunkelkeimlingen im Spektroskop beobachtete. Das Ergebnis war demnach:

In Dunkel- wie in Lichtkeimlingen haben wir das gleiche Chlorophyll vor uns wie bei den nur am Licht ergrünungsfähigen Pflanzen, soweit dies spektralanalytisch zu entscheiden ist.

IV. ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE UND SCHLUSSERÖRTERUNG.

1. Zur Untersuchung des abweichenden Verhaltens von Coniferensamen, auch im Dunkeln ihre Keimblätter und Stengelglieder ergrünen zu lassen, eignen sich nur solche Samen, deren Embryo völlig farblos ist, so: *Pinus silvestris*, *P. Strobus*, *P. Pinaster*, *P. Jeffreyi*, *Picea excelsa*, *Biota orientalis*.
2. Die Keimungsbedingungen sind auch zugleich Ergrünungsbedingungen: Wasser, Sauerstoff der Luft, Wärme sind erforderlich.
3. Andere an die Coniferensamen herangebrachte Bedingungen, wie die mehr oder weniger stark gebrochenen Lichtstrahlen des Spektrums, Temperaturverschiedenheit, Einwirkung von Lösungen oder von gasförmigen Stoffen (Kalisalpeter, Rohrzucker, KNOPsche Lösung, Äther, Terpentin) beeinflussen die Chlorophyllbildung nur indirekt durch ihre Einwirkung auf die Keimung.
4. Die Bedingungen zur Chlorophyllbildung sind durch Exstirpation der Embryonen aus dem Endosperm aufgehoben, es ergibt sich bei diesen ein vollkommenes Etiollement, Farblosigkeit. Bei *P. silvestris*, *P. Strobus*, *Picea excelsa* und *Biota orientalis* genügt schon die Exstirpation, bei *P. Jeffreyi*, *P. Pinaster* muss ausserdem das Radikularende von dem nach dem Herauslösen stets noch anhaftenden Endosperm befreit werden, um sicher Farblosigkeit zu erhalten.
5. Etiolierte Keimlinge verhalten sich so wie solche nur am Licht ergrünungsfähiger Pflanzen, sie strecken sich im Dunkeln, und zwar nur die Hypokotyle, stärker als im Licht, ergrünen bei jeglicher Beleuchtung. Wurzelbildung bleibt aus.
6. Kleinste Mengen von Endosperm, wie sie bei der Exstirpation von *P. Jeffreyi*, *P. Pinaster*-Embryonen an der Radikula haften bleiben, sind imstande, Chlorophyllbildung im Dunkelkeimling zu bewirken.
7. 24-stündiges Quellen der Samen von *P. Jeffreyi* in Brunnenwasser genügt, um die Entstehung und die Translokation des Chlorophyll-Agens herbeizuführen. Mehrtägige Quellung bewirkt ein intensiveres Ergrünen.
8. Die Chlorophyllbildung tritt ein, wenn der Embryo mit irgend einem Teil seines Gewebes, irgend einem Organ, Kotyledonar- oder Radicular-Ende im natürlich gegebenen Kontakt verbleibt, oder wenn künstlich durch Replantation auf das eigene Samenendosperm oder durch Transplantation auf artfremdes Endosperm von Coniferensamen der Kontakt von Embryo und Endosperm hergestellt ist.
9. Die Bedingungen der Chlorophyllbildung im Coniferen-Embryo sind unabhängig von Entwicklungszuständen des Embryos und des Endosperms gegeben. Ein n Tage gezüchteter Embryo wird durch ein n oder x Tage kultiviertes Endosperm befähigt, seine Plastiden ergrünen zu lassen.
10. Zerstörtes Endosperm erfüllt die Bedingungen der Chlorophyllbildung im Embryo nicht.
11. Das Chlorophyll der Dunkel- und der Lichtkeimlinge von Coniferensamen zeigt die gleichen Absorptionslinien im Spektrum wie das Chlorophyll der nur am Licht ergrünungsfähigen Pflanzen.

Es erhebt sich hier noch sofort die Frage, ob mit den hier versuchten Methoden der durch Re- und Transplantation modifizierten Ernährungsweisen weiter geforscht und eine eindeutige Lösung des Problems der Chlorophyllbildung im Dunkeln herbeigeführt werden kann. Denn es ist noch nicht durchsichtig geworden, ob ein oder mehrere Stoffe des Endosperms das Ergrünen der etiolierten Embryonen herbeizuführen imstande sind. Zur Lösung dieser Frage, ob wir es mit einem oder mehreren Chlorophyllagentien zutun haben, werden die hier angewandten Methoden nicht zu gebrauchen sein. Es ist ja bekannt, wie schwer Stoffe, welche die Rolle eines Katalysators in der Pflanze spielen, chemisch-analytisch zu gewinnen sind.

Bedenkt man weiter die Tatsache, dass die Coniferensamen mit Ausnahme der hier verwendeten farblosen Arten sonst fast durchweg einen schon gelben oder sogar grünen Embryo enthalten, wie es am besten z.B. *Abies Pinsapo* zeigt, so hat hier zweifellos das schon in der Entwicklung der Samen stattgefunden, was bei den untersuchten *Pinus*-Arten u. s. w. erst mit der Keimung beginnt und sich vollzieht, die Chlorophyllbildung unter dem Einfluss des Endosperms, d. h. der hypothetischen Sub-

stanzen, Agentien. Nicht nachweisbar ist die Annahme einer Chlorophyllbildung bei den schon gefärbten Embryonen infolge Lichteinflusses während der Entwicklung der Samen der betreffenden Coniferen. Es ist ja in der Einleitung schon von scheinbaren Ausnahmen (SACHS) der Chlorophyllbildung im Licht die Rede gewesen. Es wäre zu untersuchen, wie die Dinge sich hier tatsächlich verhalten. Da würde das Problem entwicklungsphysiologisch aufzufassen sein, es müssten, um dem hier gestellten Thema gerecht zu werden, vor allem Dunkelversuche anzustellen sein.

Es bleibt übrig, die im Verlaufe dieser Untersuchungen gemachten Erfahrungen und Ergebnisse mit den in der Fachliteratur aufzufindenden Angaben der bisherigen einschlägigen Arbeiten, wie ich sie in der Einleitung zusammenzustellen versucht habe, zu vergleichen. Ferner ist die Aufstellung einer Theorie der Chlorophyllbildung aufgrund der hier gemachten Beobachtungen und Ergebnisse im Coniferenembryo bei Licht-Abschluss zu versuchen.

Die hier vertretene Ansicht über Chlorophyllbildung im Dunkeln schließt sich eng an die von MONTEVERDE und LUBIMENKO an. Es wird versucht, diese Ansicht zu einer Arbeitshypothese zu erweitern, ausgestattet mit den Erfahrungen dieser Untersuchungen. Es wäre also zu sagen:

Es bilden sowohl die am Licht als auch im Dunkeln ergrünungsfähigen Coniferen-Embryonen zunächst ein äusserst labiles Pigment, einen farbigen Stoff, das Chlorophyllogen. Dieses Chlorophyllogen, ein Durchgangszustand zum grünen Chlorophyllfarbstoff, gibt dem Embryo die gelbe Farbe und verwandelt sich im Dunkeln durch Einwirkung des Chlorophyll-Agens, eines chemischen Stoffes der lebenden Zelle (unentschieden bleibt es, ob es nicht mehrere chemische Stoffe sind) in eine stabile Form, das Chlorophyll. Das Chlorophyll-Agens, welches durch Licht-Zutritt ersetzt werden kann, befindet sich nachgewiesen im Endosperm der Coniferen-Samen, wird in demselben durch die normalen Keimungsbedingungen, tropfbar flüssiges Wasser, Sauerstoff der Luft, Wärme zur Entstehung veranlasst, tranloziert in den Embryo, in welchem Entwicklungszustand immer sich derselbe befinden mag, wenn nur der Kontakt zwischen ihm und dem Endosperm hergestellt ist, und bewirkt Chlorophyllbildung.

Diese Hypothese eines chemischen Agens als Hauptbedingung der Chlorophyllbildung bei Lichtabschluss fanden wir ja schon zu Anfang in den Erklärungsversuchen WIESNERs, LIROs und MONTEVERDEs und LUBIMENKOs. Sie waren ja auch vor allem wegweisend für diese Untersuchungen. SACHS' Annahme, einer ozonisierenden Wirkung der Öle und Fette, dann BURGERSTEINs Ansicht, das Chlorophyll sei früher induziert, sind somit hinfällig. Von BOEHM können wir auch nur behalten, dass das Chlorophyll ein Produkt der gesunden, normal fungierenden Zelle des Embryos, und freilich auch des Endosperms, sei. Die Wärme ist nur insofern von Einfluss, als sie die Bildung des Chlorophyll-Agens mit bedingt. Gegen PFEFFERs Ansicht, dass die Chlorophyllbildung im Dunkeln auch von den nur am Licht ergrünenden Pflanzen angestrebt werde, sie aber durch die pathologischen Verhältnisse des Etiollements im Dunkeln verhindert würde, müssen wir geltend machen, dass wir bei den Coniferenkeimlingen im Dunkeln ein ausgesprochenes Etiollement, was morphologische Gestaltung anlangt, vorfinden, bei vom Endosperm befreiten Embryonen auch ein Etiollement die Färbung betreffend, also Farblosigkeit. Zu STALLs Äusserung, im Verhalten der im Dunkeln ergründenden Pflanzen, auch der Coniferenkeimlinge, einen konservativen Zug zu sehen in der natürlichen Entwicklung von den niederen Pflanzen an, kann keine Stellung genommen werden. Es müsste zuerst festgestellt werden, ob auch die anderen im Dunkel ergrünungsfähigen Pflanzen dazu infolge eines Chlorophyll-Agens oder chemischer Stoffe imstande sind.

Folgende Frage ist auch zu beantworten: Wie sich die Erscheinungen und Tatsachen des Chlorophyllbildungs-Prozesses in den Coniferenembryonen im Lichte der hier aufgestellten Theorie ausnehmen, und ob diese als Arbeitshypothese weitere Untersuchungsmöglichkeiten aufzutut.

Es konnte mit BURGERSTEIN übereinstimmend bei der Sichtung des Samenmaterials festgestellt werden, dass die reifen Coniferensamen neben mattweissen schon gelb oder grün gefärbte Embryonen enthalten. Mit den gelben Embryonen konnte kein Farbloswerden oder Gelbbleiben erreicht werden, vielmehr ergaben die vom Endosperm befreiten Embryonen bald eine Grünfärbung, sobald sie den Keimungsbedingungen

ausgesetzt waren. Also enthalten die im Samen gelb gefärbten Embryonen z.B. von *P. Lambertiana* schon das Chlorophyll-Agens, das die farblosen, mattweissen Embryonen erst mit den Keimungsbedingungen vom Endosperm bekommen. Ich hatte im Verlauf der Arbeit, wo ich viele Embryonen zu exstirpieren hatte, sehr selten gelbe Embryonen von *P. silvestris* gefunden, ebenso wenig von *R. Strobilus*. Diese ausnahmsweise gelb gefärbten *P. silvestris*, *R. Strobilus*-Embryonen wurden exstirpiert abweichend von der Regel grün. Auch Wiesner hatte spektroskopisch nachweisen können, dass infolge Keimung im Dunkeln gelb gefärbte Keimlinge schon Chlorophyll enthalten. Das alles aber heisst in der Sprache unserer Hypothese: Das gefärbte Chlorophyllogon (MONTEVERDE) bildet sich im Dunkeln, also im Embryo innerhalb des Endosperms, der Samenhüllen. Die Gelbfärbung zeigt aber auch schon die geschehene Translokation des Chlorophyll-Agens in den Embryo an. Bei den Versuchen BOEHM's und WIESNER's, nach denen die Coniferenkeimlinge im Dunkeln gelb geworden waren, oder nur einen Stich ins Grün hatten, muss man annehmen, dass, wie auch WIESNER zugesteht, das Temperaturminimum für die Chlorophyllbildung (ein solches gibt es, wie WIESNER für alle Pflanzen nachgewiesen hat) höher als die von BOEHM angewandte Temperatur gelegen habe, oder zweitens die Entstehung des Chlorophyll-Agens unterblieben sei.

Eine auffallende Erscheinung ist es, dass die Dunkelkeimlinge, wenn sie die Samenhüllen abgeworfen haben, ein lichtereres, mehr gelb getöntes Grün in ihrer Färbung zeigen, während die Lichtkeimlinge dunkel grün gefärbt sind. Dies hatte ja COUPIN zur Annahme zweier Arten von Chlorophyll veranlasst. Es konnten tatsächlich bei den Arbeiten die verschiedensten Töne der Gelb - Grünfärbung der Dunkel - Lichtkeimlinge und der transplantierten ergrüntten Embryonen wahrgenommen werden. (Es ist deshalb auch nicht immer die OSTWALD'sche Farbentabellnummer angegeben, sondern die Angabe "ergrünt" oder "grün" gemacht worden.) Es konnte spektroskopisch kein Unterschied zwischen dem Licht- und Dunkel-Chlorophyll festgestellt werden. Wir wenden hier am besten den von MONTEVERDE - LUBIMENKO - LIRO geprägten Begriff "Ergrünung", "ergrünt" an und verstehen darunter die Anhäufung von Chlorophyll in den Plastiden, die auch die Verschiedenheit im Farbton eines jeden Versuchsobjekts bedingt. Es ist selbstverständlich, dass der Ergrünung die Chlorophyllbildung vorausgeht, worunter wir die Umwandlung des farblosen Chromogens in Chlorophyllogon und schliesslich, durch das Chlorophyll-Agens im Dunkeln, oder durch das Licht, in Chlorophyll verstehen. Es translozieren eben unkontrollierbare Mengen von Chlorophyll-Agens und bewirken mehr oder weniger rasches und intensives Ergrünen. Bei Lichtkeimlingen addiert sich dann noch die Wirkung des Chlorophyll-Agens mit der des Lichtes.

Wurden Embryonen von *R. Jeffreyi* 2 Tage im Kontakt mit dem Endosperm gehalten, was z.B. bei Quellung der Fall war, dann frei kultiviert, ergrüntten sie nur langsam, während solche, die dauernd mit dem Endosperm in Berührung standen, viel rascher und intensiver gefärbt wurden. Oder lag ein Embryo einseitig mit den Kotyledonen einem Endospermilager auf, so waren die anliegenden Kotyledonen intensiv grün, die andern nur blass grün-gelb, nach und nach chlorophyllreicher werdend.

Alle diese Erscheinungen verschiedenen Tones, verschiedener Intensität in der Grünfärbung erklärt die Theorie einfach so, dass das Chlorophyll-Agens in kleinen oder grösseren Quantitäten vom Embryo aufgenommen worden ist.

Die Tatsache, dass Transplantationen gelangen, ist nichts neues. Hier waren die Coniferen-Embryonen auf arteigenem wie artfremdem Endosperm gut gediehen, zumal in Endospermmitzen, bildeten sogar Wurzeln. Sicher und regelmässig war die Tätigkeit des Endosperms, was die Abgabe von Chlorophyll-Agens mit den Stoffen an den Embryo anlangt. Das Chlorophyll-Agens scheint ja ein Erzeugnis der lebenden Zelle zu sein. Das Coniferen-Endosperm erwacht bei den Keimungsbedingungen zur Tätigkeit. Selbständig erzeugt es in seinen Zellen mit den Nährstoffen auch das Chlorophyll-Agens. Das Coniferen-Endosperm ist, wie das aller öl-fetthaltiger Samen, nicht nur ein Speichergewebe, sondern ein aktives Organ, selbständig chemische Vorgänge in seinen Zellen einleitend und dauernd vollziehend. - Weiter ergab die Erfahrung, dass das Chlorophyll-Agens in artfremden Endospermen von *Pinus Lambertiana* auf den Embryo von *R. Jeffreyi* wirken kann. Dies ist in doppelter Hinsicht bemerkenswert. 1. Lässt sich daraus auf das Vorhandensein des gleichen Chlorophyll-Agens in allen Endospermen von Coniferen-Samen, 2. auch in solchen Samen schlies-

sen, deren Embryonen bereits das Chlorophyll-Agens enthalten. Ein solcher ist ja der Samen von *Pinus Lambertiana*, der einen gelb gefärbten Embryo mit der Fähigkeit birgt, im Dunklen frei zu ergrünen. Man kann von dieser letzten Erscheinung auf d. Entstehungsweise des Chlorophyll-Agens schliessen, dass es nämlich von dem Endosperm dauernd in den Stoff-Umwandlungsprozessen der lebenden Zelle erzeugt wird.

Der Wert einer Arbeitshypothese wird danach bemessen, ob sie zunächst überhaupt, dann aber gangbare, schon vorbereitete Wege weist, die zur Erforschung des gesteckten Zieles beschritten werden können und näher an die Lösung des Problems heranführen. Dann verlangt man mit Recht von einer Arbeitshypothese, dass sie gleichsam Schlaglichter werfe auf die Mittel, die aufgefunden zu Methoden führen, die weiter bringen in dem Wissen über den zu untersuchenden Gegenstand.

So betrachtet steht die hier aufgestellte Arbeitshypothese sehr anfänglich da. Sie weist zunächst sicher auf den chemisch-analytischen Weg. Es muss versucht werden, des Chlorophyll-Agens oder der Agentien als chemischer Stoffe habhaft zu werden. Haben sie Enzymcharakter, so ist dieser Gedanke, dieser Weg nicht aussichtslos.

Auf die ernährungsphysiologische Methode wird auch hingewiesen. Das Chlorophyll-Agens im Coniferenendosperm könnte an charakteristischen, experimentell gefundenen Merkmalen gewinnen, wenn es z.B. gelänge, Embryonen nur am Licht ergrünungsfähiger Pflanzen auf Coniferen-Endosperm zu züchten und sie im Dunkeln zur Chlorophyllbildung zu bringen. Fällt der Versuch auch negativ aus, so kann man doch sagen, es liegt nicht an dem Chlorophyll-Agens allein, sondern es muss ein Faktor auch im Coniferen-Embryo mit gegeben sein, der sich der Wirkung des Chlorophyll-Agens addiert, oder erst mit der Substanz aus dem Endosperm vereint die Chlorophyllbildung hervorruft, die wir vorläufig dem Chlorophyll-Agens im Endosperm allein zuschreiben.

Somit haben diese Untersuchungen dazu gedient, der alten, wiederholt von Botanikern vertretenen Ansicht experimentelle Unterlagen zu schaffen, dass in der Tat in den Coniferenkeimlingen, und zwar vom Endosperm übernommen, ein chemischer Stoff vorhanden sein muss, der das Chlorophyll-Agens genannt wird, den wir ferner in seiner Wirkung und seiner Bildungsweise kennen gelernt haben als einen das Licht als aktiven Faktor im Chlorophyll-Bildungsprozess ersetzenden Stoff.

LITERATUR.

- (1) SACHS in Lotos IX (1859) p. 6 ff. - (2) SACHS in Flora 1862, nr. 9, 11, 12. - (3) BOEHM in Sitzungsbr. Akad. Wien LI (1865) p. 405 ff. - (4) SACHS in Flora 1864, nr. 32. - (5) WIESNER, Die Entstehung des Chlorophylls in der Pflanze, Wien 1877. - (6) BÜRGERSTEIN, in Ber. D. bot. Ges. 1900, p. 168 ff. - (7) STAHL, Zur Biologie des Chlorophylls, Jena 1909. - PFEFFER, Pflanzenphysiologie, 2. ed. I, p. 319. - (9) KRAUS, in Flora 1875, p. 346 ff. - (10) Bittner, in Österr. bot. Ztschr. 1905, p. 302 ff. - (11) MONTEVERDE und LUBIMENKO in Biol. Zentralbl. VI (1911) p. 449, ff., 481 ff. - (12) LIRO in Annales Acad. Fennicae Ser. A, I (1908). - (13) WILL-STÄTTER u. STOLL, Untersuchungen über Chlorophyll, Berlin 1913. - (4) COUPIN in Comptes rend. CLXX (1920) p. 1071 - 1072. - (15) NOBBE, Handbuch d. Samenkunde, 1876. - (16) HAACK in Zeitschr. f. Forst- u. Jagdwesen 1906, p. 441 ff. - (17) HAACK, l.c. 1909, p. 353 ff. - (18) STINGL in Flora 1907, p. 308 ff. - (19) BROWN u. MORRIS in Journ. Chem. Soc. LVII (1890) p. 458. - (20) KIRCHNER, LOEW, SCHIRÖTER, Lebensgeschichte der Pflanzen Mitteleuropas, 1908. - (21) VAN TIEGHEM in Ann. Sc. nat. 5. ser. XVII, p. 205 - 224. - (22) GRAFE, Ernährungsphysiol. Praktikum, Berlin 1914, p. 313 ff. - (23) DETMER, Pflanzenphys. Praktikum, 1895. - (24) KRAUS, Zur Kenntnis der Chlorophyllfarbstoffe u. ihrer Verwandten, 1872. - (25) HABERLANDT, Physiol. Pflanzenanatomie, 1918. - (26) HAACK, Zeitschr. f. Forst- u. Jagdwesen 1912, p. 193 ff, 273 ff. - (27) HARTIG, Lehrb. d. Anat. u. Physiol. 1891. - (28) LEWITSKY in Ber. D. bot. Ges. 1911, p. 700 ff. - (29) LOPRIORE in Ber. D. Bot. Ges. 1904, p. 385 ff. - (30) Arthur MEYER, Das Chlorophyllkorn, 1883. - (31) Arthur MEYER, Morphol. u. physiol. Analyse der Zelle I (1920). - (32) DETMER, Vergleichende Physiologie d. Keimung, 1880. - (33) STERN, in Zeitschr. f. Bot. 1921, p. 226 ff. - (34) HANNIG, Zur Physiologie pflanzlicher Embryonen. - (35) Arn. SCHMIDT, Die Abhängigkeit d. Chlorophyllbildung v. d. Wellenlänge d. Lichtes, Halle 1914.

Tabelle 1. Coniferenkeimlinge nackt im Licht und Dunkel gezogen.

Embryo von	Quellzeit in Tagen	Beobacht. am n-ten Tag	Temperatur- messung in ° Cels.	Lichtkeim- linge	Dunkelkeim- linge
Pinus silves- tris (3 mm lang).	5	4. 8. 11. 13.	5 - 14 1 - 8 1 - 8 2 - 10	4 mm, farblos 4-4,5 mm, grün 5 - 6 mm, " 6 mm, grün (94 g a)	4-5 mm, farblos 5-6,5 mm, " 6-7 mm, " 7 mm, "
2. Pinus sil- vestris.	2	2. 5. 7.	14 - 18 14 - 18 12 - 16	4 mm, farblos 5 mm, " 5,5 mm, grün (92 g b)	4 mm, farblos 5-5,5 mm, " 6-6,5 mm, "
3. Pinus sil- vestris.	2	3. 5.	25 - 30 25 - 28	7 mm, grün 7 mm, grün (94 g a)	7 mm, farblos 7-8 mm, "
4. Picea ex- celsa (3 mm lang).	4	10. 13.	14 - 19 12 - 16	5 mm, grün 6 mm, grün (92 g b)	5 mm, farblos 7 mm, "
5. Pinus Stro- bus (5 mm lang).	2	6. 9. 13. 16.	14 - 18 12 - 16 12 - 18 12 - 18	5,5 mm, farbl. 5,5 mm, " 5-6 mm, grün 6 mm, grün (92 g b)	6-7 mm, farblos 6-7 mm, " 7 mm, " 7 mm, "
6. Biota or- ientalis (4 mm lang).	25	7.	18 - 23	12-15 mm, grün (92 g b)	6-7 mm, farblos

Tabelle 2. Pinus-silvestris-Embryonen in verschiedenfarbigem und zerstreutem Tageslicht gezogen. T = 12 - 18°.

Beobacht.- tag.	Tageslicht	Kaliumbichromat	Kupferoxydammoniak
1.	3 mm, farblos	3 mm, farblos	3 mm, farblos
7.	grün	grün	farblos
9.	grün	grün	farblos
12.	grün	grün	grün
16.	6-7 mm, grün	4-5 mm, grün	4 mm, grün.

=====

Tabelle 3. Coniferen-Embryonen verdunstendem Terpentin ausgesetzt, im Dunkeln gezogen.

Art	Beobachtung am n. Tag	Temperatur	Verhalten
Pinus silvestris	1.	18 - 22°	3 mm, farblos
	9.		6 mm, "
Picea excelsa	1.	3 - 10°	3 mm, farblos
	7.		4 mm, "
	9.		4 mm, "
Pinus Strobus	1.	18 - 20°	5 mm, farblos
	7.		6 mm, "

=====

Tabelle 4. Pinus-silvestris-Embryonen im Dunkeln bei T = 25 - 32° in organischen Lösungen nach 2-tägiger Quellung gezogen.

Nährlösung: auf 0,5 l Wasser n gr Nährsubstanz.	Embryonen beobachtet am n-ten Tage	
	5.	7.
Asparagin: 0,5 gr	tot	
Rohrzucker: 0,9 gr	farblos	5 mm, farblos
Kalisalpeter: 0,1 gr	farblos	4 mm, farblos
Pepton: 1 gr	tot	
Traubenzucker: 2,5 gr	farblos	5 mm, farblos
Dextrin: 1,5 gr	farblos	4-5 mm, farblos
Albumin: 1 gr	tot	
Casein: 1 gr	tot	
Mannit: 5 gr	farblos	6 mm, farblos
Galactose: 1 gr	farblos	8 mm, farblos
Laevulose: 1 gr	farblos	5 mm, farblos
Maltose: 1 gr	farblos	7-8 mm, farblos

=====

Tabelle 5. Coniferen-Embryonen im organischen Zusammenhang mit dem Endosperm: 1. das Radikularende; 2. das Kotyledonarende; 3. vom Endosperm ganz befreit; 4. etwas Endosperm im Verband mit der Wurzelhaube an der Radicula belassen, im Dunkeln bei T = 17 - 25° gezogen.

Art	beobachtet am n. Tag	1.	2.	3.	4.
P. silvestris	3.	-	-	farblos	-
	6.	6 mm, farbl.	5 mm, grün	farblos	-
P. silvestris	7.	5-6mm, farbl.	-	5 mm, farbl.	-
P. silvestris	8.	8 mm, farbl.	-	-	-
Picea excelsa	6.	6-7mm, grün	-	farblos	-
Pinus Pinaster	6.	14mm, grün	grün	farblos	grün
	10.	Grün (96ha)	grün	farblos	-

Tabelle 5 cont.

Art	beobachtet am n. Tag	1.	2.	3.	4.
P. Jeffreyi	11.	20 mm, grün	60mm, grün (Wurzel)	16 mm, farblos	-
	15.	30-40mm, "	grün	farblos	-
	19.	grün	"	"	gelb (94 e a)
	21.	"	"	"	grün
P. Jeffreyi	6.	-	-	farblos	gelb (94 e a)
	10.	grün	-	"	gelb
	14.	grün (00eb)	-	"	-
P. Jeffreyi	2.	-	-	farblos	gelb
	6.	gelb	-	"	grün

Tabelle 6. *Pinus Jeffreyi*. - Embryonen exstirpiert und Wurzelhaube derselben entfernt. 1. Ohne vorherige Quellung; 2. nach n Tagen Quellung. — *P. Jeffreyi*, Embryonen exstirpiert, mit Wurzelhaube und daran haftendem Endosperm belassen; 3. ohne Quellung; 4. nach n Tagen Quellung. — Im Dunkeln bei $T = 18 - 25^{\circ}$ gezüchtet.

Vers.	Beob. Tag	1.	Beob. Tag	2.	Beob. Tag	3.	Beob. Tag	4.
1.	4.	farblos	2.	Exstirpation	4.	12-14 mm farblos	2.	Exstirpation
	9.	"		-	9.	grün	6. 10. 21.	grün 15 mm lang, grün grün
2.	7.	farblos	3.	Exstirpation	7.	grün	3.	Exstirpation
			8.	gelb			8.	gelb
			13.	grün			13.	grün
			19.	"				
3.	14.	farblos	3.	Exstirpation	14.	grün		
			10.	grün				
4.			13.	Exstirpation			13.	Exstirpation
			17.	grün			17.	grün
			19.	"			19.	"
			28.	grün, 10mm			28.	grün, 20 mm

Tabelle 7. *Pinus Jeffreyi*. Samen nicht gequollen. Ihre von Endosperm und Wurzelhaube befreiten Embryonen im Dunkeln bei $T = 18 - 25^{\circ}$ auf *P. Jeffreyi*-Endospermen gezüchtet. — 1. Mehrere Tage alter Embryo auf die gleiche Anzahl von Tagen im Samen gequollenes Endosperm transplantiert; 2. eben exstirpiertes Embryo auf eben präpariertes Endosperm transplantiert; 3. eben exstirpiertes Embryo auf mehrere Tage in Samen gequollenes Endosperm transplantiert; 4. eben exstirpiertes Embryo auf mehrere Tage ohne Samenhüllen und eigenen Embryo quellendes Endosperm transplantiert; 5. n Tage alter Embryo auf n Tage ohne Samenhülle und Embryo quellendes Endosperm transplantiert.

Tabelle 7 cont.

Vers.	Beob Tag	1	Beob Tag	2	Beob Tag	3	Beob Tag	4	Beob. Tag	5
1.	3.	Transpl.	3.	Faulend. Endosp. abgehob. gelb.	2.	Transpl.	3.	Transpl.	3.	Transpl.
	10.	grün	6.	grün	10.	gelb	9.	grün	13.	grün
2.	3. 9.	Transpl. grün	3. 9.	Transpl. gelbgrün	3. 9.	Transpl. grün	3. 6.	Transpl. gelbgrün	3. 6.	Transpl. grün
	3.	Embryo 3 Tage alt auf Endo sperm = 6 Tage transpl. grün	3.	Transpl.	3.	Transpl.	3.	Transpl.	3.	Transpl.
3.	6.	grün	6.	grün	6.	grün	13.	grün (Wurzel)	6.	grün

Tabelle 8. Pinus Jeffreyi-Embryonen auf P. Lambertiana-Endosperme transplantiert, Operationen wie Tabelle 7.

Vers.	Beob Tag	1	Beob Tag	2	Beob Tag	3	Beob Tag	4	Beob Tag	5
1	4.	Endosp. entfernt	7.	grün	3.	Transpl.	3.	Transpl.	3.	Transpl.
	8.	grün			13.	grün (Wurzel)	6.	gelb	9.	grün
2.	3.	Embryo auf En- dosp. 6 Tage alt transpl.	4.	Endosp. entfernt Embryo gelb	3.	Transpl.	14.	grün	3.	Transpl.
	6.	gelb	6.	grün	6.	grün			6.	grün (Wurzel)
3.	3.	Transpl.	3.	Transpl.	3.	Transpl.			3.	Transpl.
	6.	grün	6.	grün	6.	grün			6.	grün.

Die vorliegende Arbeit wurde im Botanischen Institut der Universität Halle ausgeführt. Herrn Prof. Dr. KARSTEN, auf dessen Anregung sie unternommen wurde, sowie Herrn Dr. G. SCHMIDT danke ich für die mir zuteil gewordene Anregung und Hilfe.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Botanisches Archiv. Zeitschrift für die gesamte Botanik](#)

Jahr/Year: 1924

Band/Volume: [5](#)

Autor(en)/Author(s): Schmidt Alfred

Artikel/Article: [Ueber die Chlorophyllbildung im Koniferenembryo 260-282](#)