

Leben und Lebensdauer in den Reservestoffbehältern keimender Samen.

Von JOHANNES WEISSFLOG (Leipzig).

I. EINLEITUNG.

Bei der Keimung liefern die im Samen abgelagerten Reservestoffe dem Embryo das Material zu Atmung und Wachstum. Diese Reservestoffe können entweder vollständig im Embryo und zwar hauptsächlich in den Kotyledonen abgelagert sein, oder teils im Embryo teils in einen besonderen Nährgewebe, dem Endosperm oder dem Perisperm. Im ersteren Falle besteht ein kontinuierlicher organischer Zusammenhang des wachsenden Embryos mit dem Reservestoff-Depot, denn die Keimblätter sind ja ein Teil der jungen Pflanze. Andere Verhältnisse liegen vor, wenn ein besonderes Nährgewebe vorhanden ist. Dieses ist nicht ein Teil des Embryos selbst; ihrer Entwicklung nach sind Nährgewebe und Embryo verschiedenen Ursprungs. Mit dem Nährgewebe steht der Embryo nicht in unmittelbarem organischem Zusammenhange, sondern nur in mehr oder weniger inniger Berührung. Meist liegt das Nährgewebe um den Embryo herum; zuweilen wird es von den Keimblättern umfasst; bei den Gräsern liegt der Embryo seitlich am Endosperm.

Die im Samen abgelagerten Reservestoffe sind teils stickstoffhaltig - Proteinstoffe - teils stickstofffrei - Stärke, Reservezellulose, fettes Öl. Stärke u. Proteinkörner pflegen im Nährgewebe nicht gleichzeitig in derselben Zelle vorzukommen, wohl aber Proteinkörner und fettes Öl. Mitunter sind nur bestimmte Partien des Nährgewebes mit Öl und Eiweissstoffen angefüllt, während die Hauptmasse des Nährgewebes Stärke enthält. Beispielsweise bei den Gräsern ist das stärkeführende Endosperm von einer ein- oder mehrreihigen Aleuronschicht umgeben, die frei von Stärke ist. Ferner fand HARTZ (19, p. 1072) bei allen Samen aus der Gruppe der *Curvembryonae*, die er untersuchte, ein reich entwickeltes mehliges Perisperm und ein öliges, niemals Stärke führendes spärliches Endosperm. In Kotyledonen dagegen können Stärke und Proteinkörner in derselben Zelle gleichzeitig vorkommen, wofür ja *Phaseolus* ein allgemein bekanntes Beispiel ist.

Wenn kein Nährgewebe vorhanden ist und die gesamten Reservestoffe in den Organen des Embryos selbst abgelagert sind, dann ist es von vorn herein verständlich, dass die einzelnen Speicherzellen bei der Mobilisierung der Vorratsstoffe tätig sind, da sie ja lebende Teile des Embryos darstellen. Anders liegen die Verhältnisse, wenn Nährgewebe vorhanden ist; dieses ist ja kein Teil des Embryos und es ist somit gar nichts Absonderliches, dass ihm in gewissen Fällen die Fähigkeit der Selbstverdauung abgesprochen wurde, wie es durch VAN TIEGHEM (44, 1876) geschah.

VAN TIEGHEM wollte die Beziehungen aufdecken, die zwischen Embryo und Nährgewebe bestehen. Er löste den Embryo vom Endosperm bzw. Perisperm und bot dem isolierten Nährgewebe Feuchtigkeit und Wärme. Diese Versuche führte er mit *Ricinus communis*, *Mirabilis longiflora*, *Canna aurantiaca*, *Aucuba japonica* und *Phoenix dactylifera* durch. Dabei fand er, dass das isolierte, öl- und eiweisshaltige fleischige Endosperm von *Ricinus* wächst wie bei der normalen Keimung, wenn auch etwas weniger, ferner dass die Reservestoffe allmählich schwinden, dass das Gewicht abnimmt, dass Atmung stattfindet, kurz, dass die isolierten Endosperme von *Ricinus* Lebenstätigkeit zeigen. Andere Ergebnisse erhielt er mit dem mehligem oder hornigen Nährgewebe der übrigen von ihm untersuchten Samen. Hier konnte er bei sonst gleicher Versuchsanordnung keine Veränderung nachweisen. Ferner gelang es ihm, von Nährgewebe losgelöste Embryonen von *Mirabilis* mit zerriebenem Perisperm zu ernähren (43, 1873). Diese Ergebnisse brachten ihn zu der Ansicht, dass fleischige Nährgewebe lebenstätig sind, dass dagegen hornige und mehliges Nährgewebe nur passive Reservestoffbehälter darstellen, deren Vorratsmaterial durch die Tätigkeit des Embryos gelöst wird.

VAN TIEGHEM stellte seine Regel aufgrund von Untersuchungen auf, die er nur an wenigen Samen ausgeführt hatte. Auf diesen Mangel wies PFEFFER (27, 1881, p. 341) hin, und ausserdem machte er auf die Bedeutung aufmerksam, die der Ableitung gebildeter Reaktionsprodukte bei der Translokation von Reservestoffen zukommt. Die späteren Ergebnisse seiner Schüler HANSTEEN (29, 1893; 18, 1894) und PURKJEWITSCH (39, 1898) bewiesen dann auch tatsächlich die Wichtigkeit dauernder Ableitung bei der Mobilisierung gespeicherten Reserve-Materials.

HANSTEENs Versuche beruhten auf folgender Erwägung: VAN TIEGHEM hatte die vom Embryo befreiten Endosperme auf feuchtem Moos oder auf Watte kultiviert. Diese Versuchsanordnung entspricht nicht den natürlichen Bedingungen. Bei der normalen Keimung nämlich werden aus dem Endosperm die verflüssigten Reservestoffe durch d. wachsenden Embryo dauernd entfernt. Findet dagegen keine Ableitung statt, so muss die Verflüssigung der Vorratsstoffe bald ins Stocken geraten. HANSTEEN stellte nun seine Versuche in folgender Weise an: Er befreite die Samen verschiedener Pflanzen vom Embryo und fügte an dessen Stelle Säulchen aus sterilisiertem Gips ein. Diese Gips säulchen stellte er in eine Schale mit Wasser, derart, dass sie ungefähr bis zur Hälfte im Wasser standen. Durch geeignete Massnahmen wurde dafür Sorge getragen, dass die Kulturen keimfrei waren und blieben. Bei dieser Versuchsanordnung, wo also der Embryo durch ein in einer reichlichen Wassermenge stehendes Gips säulchen ersetzt war, konnten die verflüssigten Reservestoffe des Endosperms stets in das Wasser hineinwandern. Unter diesen Bedingungen entleerten sich ohne Einwirkung des Embryos die Endosperme von *Zea* und *Hordeum*, und das Wasser, in dem die Gips säulchen gestanden hatten, enthielt marmehr Zucker. Auch mit dem Schleimendosperm von *Tetragonolobus purpureus* und mit den Kotyledonen der Lupine hatte HANSTEEN Erfolg. Dagegen wurde die Entleerung gehezmt, wenn die Gips säulchen statt in Wasser in Zuckerlösung gestellt wurden, oder wenn nur eine geringe Menge Wasser zur Aufnahme der gelösten Reservestoffe geboten wurde. Die Entleerungsversuche wurden auch ausgeführt mit Maiskörnern, von denen die Aleuronschicht abgeschält war, und auch in diesem Falle fand selbständige Entleerung in das Wasser statt. Aus diesen Ergebnissen schloss HANSTEEN, dass das Gersten- und Mais-Endosperm nicht nur ein passiver Reservestoffbehälter im Sinne VAN TIEGHEM's ist, sondern dass seine Zellen bei der Lösung der Vorratsstoffe aktiv beteiligt sind.

PURKJEWITSCH (32, 1898) erweiterte die Versuche HANSTEENs. Dabei war er gleichfalls aufs peinlichste bemüht, seine Kulturen keimfrei zu halten. Er arbeitete nicht nur mit Endospermen und Kotyledonen, sondern auch mit Rhizomen, Zwiebelschuppen und Stengelteilen. Seine Experimente mit mehreren Maissorten, mit *Triticum*, *Secale*, *Hordeum*, *Oryza*, *Tetragonolobus*, *Phaenix*, *Lupinus*, *Viola Faba*, *Pisum*, *Phaseolus*, mit Zwiebeln und Zwiebelschuppen, Rhizomteilen und Zweigen verschiedener Pflanzen ergaben unter entsprechenden Bedingungen eine ± weitgehende selbständige Entleerung, die jedoch bei Gegenwart von Äther und Chloroform unterblieb. Die isolierten Endosperme von *Pinus Pinea*, von *Ricinus communis* und das Perisperm von *Mirabilis* dagegen konnten nicht zur künstlichen Entleerung gebracht werden.

PURKJEWITSCH ging nun einen Schritt weiter. Er untersuchte, ob der Prozess auch unkehrbar sei, ob also entleerte Stoffbehälter sich wieder füllen lassen. Zu diesem Zwecke bot er seinen entleerten Versuchsobjekten entsprechende Nährlösungen. Auf diese Weise erreichte PURKJEWITSCH die mehr oder weniger weitgehende Wieder-Anfüllung mit Stärke bei Rhizomteilen von *Curcuma* und *Iris*, bei Zwiebeln oder Zwiebelschuppen von *Hyacinthus* und *Allium Ceba*, bei Kotyledonen von *Phaseolus* und *Lupinus*. Dagegen gelang es ihm nicht, die Wiederauffüllung entleerter Mais-Endosperme zu beobachten. Alle diese Resultate brachten PURKJEWITSCH zu der Meinung, dass die untersuchten Endosperme, auch die zellulosehaltigen und die stärkehaltigen, aus ursprünglich lebensfähigen Zellen zusammengesetzt sind.

Auf andere Weise suchte LINZ (22, 1896) die Aktivität stärkehaltiger Nährgewebe zu beweisen. Er bestimmte nämlich den Diastasegehalt der einzelnen Teile der Maisfrucht während der Keimung und fand unter anderem eine Zunahme des Fermentgehaltes im Endosperm auch dann, wenn Aleuronschicht und Embryo entfernt worden waren. Diese Vermehrung der Diastase führte er zurück auf die Tätigkeit lebender Zellen.

Die angeführten Arbeiten schienen die Ungültigkeit der Regel VAN TIEGHEMS zu beweisen, und so vertrat PFEFFER (30, 1897, p. 612) in der zweiten Auflage der "Pflanzenphysiologie" den Standpunkt, dass nicht allein den öligen Nährgeweben Aktivität bei der Mobilisierung ihrer Reservestoffe zukommt. Ebenso gab CZAPPEK in d. Biochemie der Pflanzen (7, 1913, p. 431) sein Urteil dahin ab, dass den stärkehaltigen Nährgeweben eigene Tätigkeit bei der Lösung der Vorratsstoffe zuerkannt werden müsse.

Trotzdem fehlte es nicht an Ergebnissen, die VAN TIEGHEMS Regel, dass die stärkehaltigen Nährgewebe nur passive Reservestoffbehälter darstellen, bestätigten. BROWN und MORRIS (3, 1890) hatten die Vorgänge bei der Keimung der Gerste genau untersucht und gelangten dabei zu der Feststellung, dass das Stärkeendosperm von *Hordeum* aus toten Zellen besteht; die Lösung des gespeicherten Materials erfolgt durch die Tätigkeit des Embryos. Gleichzeitig verwarfen sie die Annahme HABERLANDTs (16, 1890), der die Aleuronschicht der Gräser als ferment-erzeugendes Drüsengewebe ansprach. Erst später erkannten BROWN und ESCOMBE (4, 1890) die Richtigkeit dieser Ansicht HABERLANDTs an, und auf die Fermentsekretion der lebenden Aleuronschicht führten sie die Entleerung des stärkehaltigen toten Teiles des isolierten Gerstenendosperms zurück.

Eine Kritik der vorliegenden Ergebnisse veröffentlichte POND (1906, 31); dieser Autor hielt die Aktivität der Stärke- und Cellulose-Endosperme bei Gräsern u. Palmen nicht für erwiesen. Er wies unter anderm darauf hin, dass HANSTEEN, LINZ u. PURKJEWITSCH die Samen, mit denen sie arbeiteten, vor der Entfernung des Embryos in Wasser hatten quellen lassen, wobei eine Diffusion von Fermenten in das Nährgewebe hinein möglich ist. In zweiten Teile seiner Arbeit beschäftigt sich POND mit der Selbstverdauung des Dattel-Endosperms. Diese Untersuchungen führten ihn zu dem Ergebnis, dass das Nährgewebe von *Phoenix* ausserstande ist, sich selbst zu lösen. In diesem Punkte befindet er sich im Widerspruch mit PURKJEWITSCH, aber in Übereinstimmung mit LECLERC DU SABLON (21, 1897); der aufgrund chemischer Analysen von keimenden Datteln gleichfalls dem Dattelendosperm die Fähigkeit der Selbstverdauung absprach.

Sehr ausführliche Untersuchungen über die Frage der Lebenstätigkeit im Gras-Endosperm lieferte STOWARD. Er fand im Stärkeendosperm von *Hordeum* und *Zea* zwar Atmungstätigkeit, er lässt jedoch unentschieden, ob dieser Gasaustausch auf der Tätigkeit lebenden Plasmas oder auf der Wirkung vorgebildeter Atmungsfermente beruht (38, 1908). Spätere Untersuchungen (1911, 39) zeigten ihm, dass das von der Aleuronschicht und vom Embryo befreite Gersten-Endosperm unter Keimungsbedingungen an Diastase zunimmt, auch in Gegenwart von Anaestheticis. Darum kann die Erzeugung von Fermenten nicht als Beweis dafür dienen, dass die Zellen des innern Endosperms leben. In der Aleuronschicht dagegen wird die Diastasebildung durch Anaesthetica gehemmt; hier ist darum die Fermenterzeugung ein Zeichen vitaler Tätigkeit. STOWARD gelangte so zur Überzeugung, dass das innere Endosperm der Gerste wenigstens zum grössten Teil tot sein müsse.

In Deutschland erfuhr die Lehre, dass das Stärkeendosperm der Gräser aus toten Zellen bestehe, Unterstützung durch GRUESZ, der sich in einer Reihe von Arbeiten mit der Lösung von Reservestoffen in Samen beschäftigte. Ursprünglich der Ansicht, dass die einzelnen Zellen des Gras-Endosperms leben (13, 1896) gelangte er zuletzt zu dem Ergebnis, dass das Stärkeendosperm der Gräser ein totes Gewebe darstellt (14, 1912, p. 34). Er fand an isolierten und von der Aleuronschicht befreiten Mais- und Gersten-Endospermen, die mit einer reichlichen Menge Wasser in Berührung waren, keine Fermentwirkung, weder an den Stärkekörnern noch an den Zellwänden.

Zwischen den beiden Extremen, die gekennzeichnet werden durch den Standpunkt PFEFFERS einerseits und VAN TIEGHEMS auf der andern Seite, suchte DIANA BRUSCHI zu vermitteln. Sie fand in den untersuchten Gras-Endospermen Entstehung von Amyläse aus einem Proferment (6, 1908), dem sie die allerdings unvollständige Stärkelösung in anaesthetisierten isolierten Endospermen zuschrieb, ohne dass Lebenstätigkeit des Protoplasmas nötig wäre. Ausserdem kam sie durch Anwendung von Farblösungen und aufgrund der Kernverhältnisse zum Ergebnis, dass im Stärke-Endosperm das Leben von der Aleuronschicht aus nach innen abnimmt. Die Endosperme der verschiedenen Gräser zeigten dabei ein abweichendes Verhalten. Im Maiskorn z.B. ist

ein grosser Teil der Stärkezellen lebend, während im Roggen-Endosperm sämtliche Stärkezellen tot sind. Die andern Getreidearten stehen in der Mitte. DIANA BRUSCHI erklärte so die abweichenden Resultate, die die verschiedenen Forscher erhalten hatten, je nach der untersuchten Grasart.

Diese Darstellung zeigt, welche Widersprüche zwischen den Ergebnissen der verschiedenen Autoren vorhanden sind. Auf der einen Seite wird die Ansicht vertreten, dass die Stärkezellen des Gras-Endosperms und anderer Nährgewebe vitale Funktionen auszuüben vermögen, auf der anderen Seite werde sie als tote oder doch inaktive Reservestoffbehälter hingestellt, und eine dritte Meinung sucht zu vermitteln.

In erster Linie wurden zu den geschilderten Untersuchungen über die Stärke-Endosperme die Gramineen herangezogen, während die stärkehaltigen Samen anderer Familien weniger zum Gegenstand solcher Studien gemacht wurden. Ebenso wenig wie die Lebenstätigkeit der stärkeführenden Nährgewebe ist die der Zellulose-Endosperme sicher gestellt. In diesen beiden Punkten soll die vorliegende Arbeit aufklären und ergänzen.

Die Aktivität des Öl und Protein führenden Endosperms von *Ricinus*, die sich ja schon in dessen lebhaftem Wachstum ausdrückt, kann wohl nicht bestritten werden. Ob dagegen andere nicht wachsende ölige Nährgewebe gleichfalls leben, lässt sich nicht ohne weiteres behaupten und soll darum im folgenden untersucht werden. Aber auch zuvor lebendes Speichergewebe, etwa das Endosperm von *Ricinus* oder die Kotyledonen nährgebefreier Samen, ist zuletzt mehr oder weniger weitgehend entleert und tot. In welcher Weise das Absterben hier vor sich geht, das ist eine weitere Frage, mit der sich diese Arbeit beschäftigt.

II. METHODISCHES.

Bei der Lösung dieser Aufgaben beschränkte ich mich meist auf die Untersuchung des ruhenden Samens und der Vorgänge bei der normalen Keimung; nur in geringem Umfange wurden auch Versuche mit isolierten Speichergeweben angestellt. Im allgemeinen handelte es sich darum, festzustellen, erstens, was für Reservematerial in den Zellen eines Speichergewebes vorhanden ist und wie der Verbrauch dieser Stoffe im grossen und ganzen vor sich geht, und zweitens, ob die Zellen, in denen diese Reservestoffe gespeichert sind, leben. Dabei war von Anfang an nur der qualitative Nachweis des hauptsächlich organischen Vorratsmaterials beabsichtigt; Einzelheiten, wie etwa die Lösung der Proteinkörner, wurden nicht verfolgt. Die verwendeten Samen wurden gewöhnlich in Erde ausgesät und nach Möglichkeit wurden die Reservestoffbehälter im erwähnten Sinne untersucht.

Zur Verwendung kamen die üblichen mikrochemischen Reagentien (MOLISCH, 24, TUNMANN, 42). Mit Jod-Jodkalilösung, MILLONs Reagens und konzentrierter Salpetersäure wurde auf Proteinstoffe geprüft; für den Stärkenachweis diente Jod, gelöst in Jodkali, Glycerin oder wässrigem Chloralhydrat; die Anwesenheit fetten Öls wurde durch Sudanglycerin, Alkanatinktur, 1% Osmiumsäure oder durch die Verseifungsreaktion festgestellt.

Bei der Entscheidung der zweiten Frage, nämlich ob eine Zelle lebt oder nicht, liessen sich von vorn herein gewisse Schwierigkeiten erwarten. Oft freilich sind tote Gewebepartien ohne weiteres daran kenntlich, dass der Inhalt ihrer Zellen kollabiert ist, während lebende Zellen turgeszent sind. Ich verliess mich jedoch niemals auf dieses Kriterium allein, das ja vor allem auch dann versagen muss, wenn Zellen mit Reservestoffen voll angefüllt sind. Um festzustellen, ob Nährgewebezellen leben oder nicht, wendete ich vielmehr noch folgende Methoden an: Plasmolyse, Kernfärbung, Färbung mit Anilinblau oder Nigrosin.

Die Eigenschaft des lebenden Protoplasmaschlauches, sich in hypertonen Lösungen zu kontrahieren, konnte nicht immer benützt werden. Denn in vollgestopften Speicherzellen fehlt dem Protoplasten die Möglichkeit der Kontraktion, auch wenn er lebt. Infolgedessen ist in den ersten Stadien der Keimung auch in lebenden Zellen oft Plasmolyse nicht einwandfrei nachzuweisen. Erst wenn die Entleerung der Reservestoffe bis zu einem gewissen Grade vorgeschritten ist und das Protoplasma grössere Vakuolen besitzt, lässt sich durch Plasmolyse feststellen, ob eine Zelle lebt oder nicht.

Als Plasmolytica wurden Lösungen von Natriumchlorid, Kaliumnitrat oder Rohrzucker bis zu molekularer Konzentration, nur ganz ausnahmsweise in höherer, verwendet. Besonders wurde, um Täuschungen durch Schrumpfung toter Protoplasten zu vermeiden, auch auf den Rückgang der Plasmolyse durch den Zusatz von Wasser oder von Lösungen geringerer osmotischer Kraft geachtet.

In den Fällen, wo die Anwendung dieser Methode versagt, lassen sich mitunter aus dem Aussehen des fixierten und gefärbten Kerns Schlüsse ziehen, ob der Inhalt einer Zelle lebt oder nicht. Zum Fixieren wurde meist JUELsche Flüssigkeit -100 ccm Alkohol 80%, 2 gr Zinkchlorid, 4 ccm Eisessig (STRASBURGER-KOERNICKE, 40, p. 70) - verwendet; gefärbt wurde mit Fuchsin-Methylgrün (STRASBURGER-KOERNICKE 40, p. 740) oder mit Hämalan (BEHRENS, 1, p. 113), gelegentlich auch mit Safranin in etwa 50% Alkohol (STRASBURGER-KOERNICKE, 40, p. 798, nach BABES), wenn eine Härtung des Zellgewebes wünschenswert erschien. Derartig gefärbte Präparate geben oft gute Übersichtsbilder.

Auch dieser Weg führte nicht immer zum Ziele, und so bot sich in der Anwendung von Anilinblau- und Nigrosinlösung eine Methode, die stets Erfolg brachte. Wie PFEFFER (28) angibt, dringen gewisse ungiftige Farbstoffe in die lebende Zelle nicht ein, während sie vom toten Protoplasten aufgenommen werden. Diese Tatsache ist denn auch verschiedentlich benützt worden, um den Tod von Zellen nachzuweisen.

Am brauchbarsten fand ich wässrige 0,5% Anilinblau- und Nigrosinlösung. Auf Samen und Schnitte aus Samen wirken diese beiden Farbstoffe in der angeführten Konzentration kaum giftig. In Schnitten aus den Kotyledonen von *Phaseolus multiflorus* und *Ph. vulgaris*, deren Stärke bereits zum Teil entleert war, war nach fünftägigem Aufenthalt in 0,5% Anilinblau- oder Nigrosinlösung noch ein grosser Teil der Protoplasten ungefärbt und somit lebend. Durch Plasmolyse in 10% Salpeterlösung wurde bestätigt, dass die ungefärbten Protoplasten tatsächlich am Leben waren. Ferner waren in Schnitten aus dem Endosperm frisch geernteter Samen von *Arthurium Kellermannii* die Protoplasten nach 2-tägiger Einwirkung von 0,5% Anilinblau-Lösung ungefärbt und lebend. Auch hier wurde durch Plasmolyse mit Kalisalpeter kontrolliert. Dass die Farblösung nicht nur die oberflächlichen Zellschichten berührt hatte, sondern auch in den Schnitt eingedrungen war, liess sich an der Färbung der Zellmembranen, besonders der Mittellamelle, erkennen. Weizen- und Maiskörner gelangten in 0,5% Anilinblaulösung zur Keimung. Die Wurzeln dieser Keimlinge waren nach oberflächlichem Abspülen blau gefärbt, aber völlig turgeszent. Die mikroskopische Untersuchung ergab, dass nur die alleräussersten Zellschichten gefärbt und tot waren, während die übrigen Zellen der Wurzeln plasmolysierbar und ungefärbt waren. Die Giftwirkung war also mit Rücksicht auf die 7 - 12-tägige Einwirkung, der die Wurzeln der Keimlinge hierbei ausgesetzt waren, sehr gering.

Aus allen diesen Versuchen geht hervor, dass Anilinblau und Nigrosin in den verwendeten Konzentrationen bei kürzerer Versuchsdauer kaum schädigende Wirkungen ausüben und dass diese beiden Farbstoffe nicht in den lebenden Protoplasten einzudringen vermögen, dass sie dagegen von dem abgestorbenen Protoplasten gespeichert werden¹⁾. Aufgrund dieser Tatsachen liess sich Anilinblau und Nigrosin gut zur Unterscheidung lebender und toter Zellen verwenden. Die zu untersuchenden Schnitte dürfen nicht zu dünn sein, damit mindestens eine Lage unverletzter Zellen vorhanden ist; selbstverständlich dürfen sie auch nicht zu dick sein. Durch Auspinseln u. durch Abspülen mit Wasser wurden die Inhalte verletzter Zellen nach Möglichkeit entfernt. Dann wurden die Schnitte auf eine bis mehrere Stunden in 0,5% Nigrosinlösung oder 0,5% Anilinblau-Lösung gebracht. Zur Entfernung des oberflächlich anhaftenden Farbstoffes wurden die Schnitte vor der Untersuchung mit Wasser oder

1) RACIBORSKI (33) gibt an, dass Nigrosin in sehr verdünnter Lösung in die Zellen ungekeimter sowie gekeimter Erbsen-Kotyledonen eindringt. Die Kotyledonen von *Pisum* habe ich nicht untersucht, ich fand jedoch weder bei *Phaseolus multiflorus* und *Ph. vulgaris*, noch bei allen übrigen Objekten, die ich mit Nigrosinlösung behandelte, ein Eindringen dieses Farbstoffs in lebende Zellen. Vielleicht ist die Verschiedenheit meiner und RACIBORSKI's Resultate dadurch zu erklären, dass das Nigrosin RACIBORSKI's Beimischungen enthielt.

mit 1% Kalisalpetperlösung abgespült. Bei der mikroskopischen Betrachtung zeigten sich die abgestorbenen Partien gefärbt, während die lebenden Protoplasten ungefärbt waren. Auf diese Weise liessen sich auch in dicht gefülltem Speichergewebe lebende Zellen leicht von toten unterscheiden.

Die mit Anilinblau und Nigrosinlösung erzielten Erfolge machten es überflüssig, nach andern Mitteln zu suchen; durch die lebendes Gewebe von totem unterschieden werden kann. Nur die von RUZICKA (35) angegebene Methode wurde kurz nebenher versucht. RUZICKA fand, dass in Gemischen von Neutralrot und Methylenblau lebendes Protoplasma sich im allgemeinen rot färbt, totes blau. Möglicherweise ist auch dieses Mittel gut zu gebrauchen, ich stellte fest, dass in einem Gemisch gleicher Teile 0,001% Methylenblau- und Neutralrotlösung sich die lebenden Zellen des Scutellums und der Aleuronschicht vom Mais rot färbten, während das tote Stärkeendosperm einen sehr schwach blauen Farbton annahm. Weitere Versuche in dieser Richtung unterblieben aus dem angegebenen Grunde.

III. TOTE NÄHRGEWEBE.

Der Ansicht VAN TIEGHEMS, dass die stärkehaltigen Nährgewebe bei der Keimung sich passiv verhalten, war von verschiedener Seite widersprochen worden. Mit den von mir angewandten Methoden lässt sich nun tatsächlich erkennen, dass die stärkehaltigen Endosperme und Perisperme im allgemeinen tot sind.

Ich untersuchte die stärkeführenden Nährgewebe folgender Samen: *Zea Mays*, *Hordeum distichum*, *Avena sativa*, *Triticum vulgare*, *Commelina coelestis*, *Palisota Barteri*, *Anthurium Kellermanni*, *Fagopyrum esculentum*, *Agrostemma Githago*, *Mirabilis Jalapa*. Nur das Nährgewebe von *Anthurium Kellermanni* besteht aus lebenden Zellen; in den stärkeführenden Nährgewebezellen der genannten andern Arten konnte mit den angewandten Mitteln kein Leben nachgewiesen werden. Im folgenden sollen die einzelnen Ergebnisse mitgeteilt werden.

Gramineen.

Zea - PURKJEWITSCH hatte zwar aus Mais-Endospermen, die vom Embryo befreit waren, selbsttätige Entleerung gefunden; als er jedoch versuchte, in Nährlösung die Wieder-Auffüllung des entleerten Endosperms zu erreichen, hatte er keinen Erfolg, und er erklärte dieses Ergebnis damit, dass das Endosperm mit der Entleerung auch seine Bedeutung als lebendes Organ der Pflanze verloren habe (32, 8). Im folgenden soll jedoch gezeigt werden, dass die Stärkezellen des Mais-Endosperms nicht erst im Laufe der Keimung absterben, sondern dass sie vielmehr bereits in der reifen Frucht tot sind.

Bei allen mit Mais ausgeführten Untersuchungen verwendete ich 4 Sorten: eine grossfrüchtige und eine kleinfrüchtige, die im Leipziger botanischen Garten geerntet waren, und eine als *Zea japonica* fol. var. bezeichnete Sorte mittlerer Grösse. Die Keimfähigkeit betrug in allen 4 Fällen fast 100%.

Solange Hypokotyl und Wurzel nach begonnener Keimung noch wenig entwickelt sind, sind die Endospermzellen mit Stärke angefüllt. Bei fortschreitendem Wachstum des Embryos geht die Entleerung rasch vorwärts. Die in der Nähe des Scutellums gelegenen Zellen enthalten dann höchstens Trümmer von Stärkekörnern, während in grösserer Entfernung vom Scutellum die Zellen noch dicht gefüllt sind. Die Wände der ganz oder teilweise entleerten Zellen sind nicht mehr straff gespannt; ein normaler Protoplast ist in ihnen nicht wahrzunehmen. In normaler Salpeter- oder Rohrzuckerlösung oder in doppelt normaler Kochsalzlösung lässt sich Plasmolyse in keinem Keimungsstadium, weder in den entleerten noch in den inhaltsreicheren Stärkezellen wahrnehmen und bei den noch vollständig gefüllten ist sie ja von vorn herein unmöglich. Infolgedessen lässt sich durch diese Methode nicht entscheiden, ob die noch gefüllten Stärkezellen oder tot sind. Die Aleuron- und Scutellumzellen dagegen lassen sich in genügend konzentrierten Lösungen plasmolysieren, wenigstens wenn sie nach den ersten Keimungsstadien etwas inhaltsärmer geworden sind; sie sind also lebend.

Die Kerne in den Stärkezellen des ruhenden Mais-Endosperms, die bereits KOEPPEN

(20), RACIBORSKI (33) und ZACHARIAS (45) beschrieben haben, sind durch die Einlagerung von Stärke meist zackig bis netzförmig, besonders im mittleren Teile des Nährgewebes. Kernkörperchen sind in ihnen nicht wahrnehmbar. Nach Beginn der Keimung zeigen die Kerne keine Veränderung der Form; sie runden sich dann nicht ab, auch wenn die Zelle durch die Lösung von Stärke weniger prall gefüllt ist. In vorgeschrittenen Stadien der Keimung verlieren sie an Färbbarkeit; denn bei sonst gleicher Vorbehandlung waren die Kerne der Stärkezellen nur gequollener Maisfrüchte mit Hämalaun bereits nach einer halben Stunde gut gefärbt, während die Kerne in teilweise entleerten Endospermen oft erst nach 12-stündigem oder noch längerem Verweilen in Hämalaun deutlich hervortraten. Die Kerne der Aleuronschicht und des Scutellums sind während der Keimung annähernd rundlich, höchstens etwas eingebuchtet. Mit Hämalaun färben sie sich bedeutend rascher als die Kerne der Stärkezellen. In Präparaten, die in den Stärkezellen gut gefärbte Kerne aufwiesen, waren die Zellen des Scutellums und der Aleuronschicht stets überfärbt, mitunter fast schwarz.

Aus dem Verhalten der Kerne der Stärkezellen lässt sich die Vermutung ableiten, dass sie funktionsuntüchtig und tot sind. Indessen ist dieser Schluss nicht zwingend, denn unregelmässige Gestalt der Kerne kommt nicht gerade selten bei tierischen und pflanzlichen Zellen vor. So sind beispielsweise die Zellkerne aus der Epidermis von *Allium Porrum* langgestreckt und durch Einschnitte zerklüftet und *Sempervivum tectorum* besitzt in den Mesophyllzellen alter Blätter gelappte Kerne (ZIMMERMANN, 44, p. 12).

Weder Plasmolyse noch Kernfärbung lassen also einwandfrei erkennen, dass die Stärkezellen im Maisendosperm tot sind. Erst die dritte von mir angewandte Methode, die Behandlung mit Anilinblau- oder Nigrosinlösung zeigt mit Sicherheit, dass die Stärkezellen tot sind.

Ziemlich dicke, gut ausgepinselte und abgospülte Schnitte von Maiskörnern, die einen Tag in feuchten Sägespänen gelegen hatten, wurden in 0,5% Anilinblau- oder Nigrosinlösung gebracht; nach einer Stunde wiesen sie in den Stärkezellen intensive Färbung der Zellkerne auf; auch das Plasmanetz zwischen den Stärkekörnern war deutlich gefärbt. Die Protoplasten der Aleuronschicht und des Scutellums waren zum grössten Teil ungefärbt geblieben; nur ganz wenige von ihnen hatten sich gefärbt, wohl deshalb, weil die Zellen angeschnitten und die Protoplasten verletzt waren. Das Scutellum hebt sich schon bei makroskopischer Betrachtung von dem dunkel gefärbten Endosperm durch seine helle Farbe ab.

Zunächst wurden hierbei eingequollene Maisfrüchte verwendet, weil sie leichter geschnitten werden können. Aber auch Schnitte aus trockenen Maiskörnern zeigen nach der Behandlung mit Anilinblau oder Nigrosin ungefärbte Aleuron- und Scutellum-Zellen, während in den Stärkezellen das Plasmanetz mit dem Kern gefärbt war, ganz wie bei eingequollenen Körnern.

Auch BRUSCHI (6, p. 456) hatte versucht, durch den Gebrauch von Farblösungen lebendes Gewebe von totem zu unterscheiden. Sie benützte Methylviolet und Anilinblau, allerdings ohne genaue Angaben über die Konzentration der Lösungen und über die Dauer der Einwirkung zu machen. Dzu ist folgendes zu bemerken: Das unschädliche Anilinblau dringt nicht in die lebende Zelle ein, wie bereits berichtet wurde, während das giftige Methylviolet gerade auch das lebende Protoplasma färben kann (PFEFFER 28, p. 247). Die Verwendung dieses Farbstoffes ist darum nicht zweckmässig. Bei der Anwendung dieser Methode färbten sich in den Versuchen BRUSCHI die Zellen des inneren, mehligten Teils des Maisendosperms und ein Teil der Zellen der hornigen Partien; in der Nähe der Aleuronschicht blieben die Stärkezellen ungefärbt. Daraus schloss BRUSCHI, dass der innere Teil des Mais-Endosperms tot ist, während die Zellen des äusseren, unter der Aleuronschicht gelegenen Teils leben, und dass in der Übergangszone ein Teil der Zellen tot ist.

Eine ungefärbte periphere Zone habe ich bei Anwendung von Anilinblau- und Nigrosinlösung im Stärkeendosperm der Maisfrucht nicht beobachtet. Die Erklärung für das Ergebnis BRUSCHI könnte darin zu suchen sein, dass die Farblösung zu kurze Zeit einwirkte. Denn zwischen und in die Zellen des rissigen und lockeren innern Endosperms kann die Farbe viel leichter eindringen als in die fest zusammenschlies-

senden Zellen des hornigen Teils. Wenn BRUSCI ihre Resultate sowohl mit Anilinblau als auch mit dem in die lebende Zelle eindringenden Methylviolett erhielt, so ist das aus rein mechanischen Ursachen ungleich rasche Eindringen offenbar der Grund dafür, dass in der Peripherie des Stärkeendosperms bei BRUSCHI die Zellen ganz oder teilweise ungefärbt blieben.

Es liesse sich gegen meine Ergebnisse der Einwand machen, dass die mit Nigrosin oder Anilinblau gefärbten Zellen angeschnitten gewesen wären. Aus dieser Überlegung herans wurden eingequollene Maiskörner halbiert und einen Tag lang in 0,5% Anilinblau-Lösung gebracht. Dann wurden nach kurzem Abspülen der äusserlich anhaftenden Farblösung senkrecht zur Schnittfläche mit dem Rasiermesser Schnitte hergestellt. Bei der mikroskopischen Untersuchung zeigte sich, dass die Farbe in den perihireren Teilen des Stärkeendosperms mindestens zwei Zellschichten tief eingedrungen war. Zahlreiche Zellen hatten sich gefärbt, die nicht unmittelbar von der Farblösung berührt worden waren und die nicht angeschnitten gewesen waren. Im lockeren und rissigen Teile des Nährgewebes, wo die Zellen nicht so dicht aneinander schliessen, war die Farbe tiefer eingedrungen als im äusseren Teil.

Kontrollversuche mit abgetöteten Objekten hatten dasselbe Ergebnis; das Eindringen wird nicht beschleunigt, wenn die Objekte vor der Anwendung der Farblösung einer Behandlung ausgesetzt wurden, die zum Tode der Zellen hätte führen müssen. Zu diesem Zwecke wurden kleine Stücke gequollener Maiskörner einen Tag in 50% Alkohol oder 2 - 3 Tage in gesättigtes Chloroformwasser gelegt. Dann wurden sie mindestens 2 Stunden in fliessendem Wasser gewaschen. Wurden die derartig behandelten Maisstücke im ganzen in Anilinblaulösung gebracht, so zeigte sich an den Stärkezellen derselbe Erfolg wie an den Objekten, die nicht abgetötet worden waren: die Farblösung war nach eintägiger Einwirkung im allgemeinen 2 Zellschichten tief eingedrungen, im lockeren Teil des Nährgewebes tiefer. Schnitte aus dem abgetöteten Scutellum zeigten nach der Behandlung mit Anilinblau- oder Nigrosinlösung dunkel gefärbte Protoplasten; auch die Aleuronzellen nahmen nuremehr, da sie tot waren, den Farbstoff auf. Schnitte aus dem mit Alkohol oder Chloroform behandelten Stärke-Endosperm zeigten selbstverständlich das gleiche Verhalten, wie wenn das Stärke-Endosperm nicht mit abtötenden Mitteln behandelt war; in beiden Fällen waren sie gefärbt.

Ein weiterer Einwand gegen meine Ergebnisse mit Farblösungen könnte der sein, dass die Stärkezellen des Mais-Endosperms erst absterben durch die Einwirkung des Farbstoffes. Das ist jedoch angesichts der geringen Giftwirkung, die bereits im methodischen Teile dargelegt wurde, wenig wahrscheinlich. Anilinblau gebrauchte ich auch in noch verdünnteren Lösungen, von denen also anzunehmen ist, dass sie weniger schädlich wirken, nämlich bis zu 0,125%. Das Resultat war das gleiche wie bei der Verwendung der 0,5% Lösung: Kerne und Plasmanetz der Stärkezellen färbten sich blau; die Zellen des Scutellums und der Aleuronschicht blieben ungefärbt. Aus diesen Ergebnissen lässt sich also mit Sicherheit der Schluss ableiten, dass die Stärkezellen des Mais-Endosperms bereits zu Beginn der Keimung tot sind.

Hordeum, Avena, Triticum. - Ausser *Zea* wurden von den Gramineen untersucht die Endosperme von *Hordeum distichum*, *Avena sativa* und *Triticum vulgare*. Auch hier liess sich in den Stärkezellen kein Leben nachweisen. Schnitte aus Körnern, die einen Tag im Wasser gelegen hatten, wurden auf etwa 1 Stunde in 0,5% Anilinblau- oder Nigrosinlösung gelegt. Nur die Protoplasten der Aleuronschicht und des Scutellums blieben ungefärbt; die Stärkezellen dagegen zeigten zwischen den Stärkekörnern das intensiv gefärbte Plasmanetz. Die Kerne waren meist nicht durch dunklere Färbung ausgezeichnet, im Gegensatz zum Mais.

Um den Einwand zu widerlegen, dass die gefärbten Zellen angeschnitten gewesen wären, wurden auch hier halbe Getreidekörner in die Farblösung gebracht. Wiederum zeigte sich auf Schnitten, die senkrecht zur halbierenden Trennungsfläche geführt wurden, dass der grösste Teil der Stärkezellen, die den Farbstoff im Protoplasmanetz gespeichert hatten, unverletzt waren. Die Körner der untersuchten Getreidearten keimten fast vollzählig. Die Wirkung der Farblösungen wurde stets an einer Anzahl von Körnern untersucht; sodass eine Täuschung durch die Verwendung von zufällig nicht keimfähigen Samen ausgeschlossen ist.

Die Kerne der Stärkezellen von Gerste, Hafer und Weizen ähneln denen des Mais-

endosperms, soweit sie überhaupt aufzufinden sind: sie sind im Zustand der Reife netzförmig oder doch von unregelmässigen Umrissen. Plasmolyse konnte nur in den Zellen der Aleuronschicht und des Scutellums nach Beginn der Keimung erreicht werden. Die Aleuronzellen beginnen meist erst dann abzusterben, wenn die Vorräte des Endosperms fast völlig verbraucht sind.

Auch bei *Hordeum*, *Avena* und *Triticum* sind demnach die Stärkezellen tot. Es ist zwar auch denkbar, jedoch nicht gerade wahrscheinlich, dass das Absterben d. Zellen erst eintritt während der Quellung. Für die physiologische Bedeutung des Stärke-Endosperms als Reservestoffbehälter wäre es indessen wohl gleichgiltig, ob das Endosperm bei Beginn der Quellung abstirbt oder bereits am Schluss der Reife: die Entleerung fände in beiden Fällen aus einem toten Behälter heraus statt. Der Zustand des Zellkerns im ruhenden Endosperm und sein Verhalten während der Reife deuten jedoch darauf hin, dass die Stärkezellen bereits am Ende der Reife tot sind. BROWN und ESCOMBE (4) sowie BRENCHLEY (2) beschreiben nämlich die Entartung der ursprünglich normalen Kerne in den Endospermzellen der Gerste während der Reife, GUILLERMOND (14) in denen des Weizens, und aus diesem Verhalten der Kerne lässt sich der Schluss ziehen, dass die Stärkezellen des Grasendosperms bereits im reifen Samen tot sind, bevor mit der Quellung der Keimungsprozess beginnt.

Commelina, Palisota.

Das Nährgewebe von *Commelina coelestis* und von *Palisota Barterii* besteht zum grössten Teil aus stärkeführenden Zellen; eine einzige periphere Zellschicht enthält nur Fett und Proteinstoffe, aber keine Stärke. Die aus Teilkörnern zusammengesetzten Stärkekörner liegen in einem Plasmanetz, was besonders nach der Behandlung mit Jodjodkali deutlich wird.

Im ruhenden Samen ist das Nährgewebe von hornartigem Aussehen. Nach Beginn d. Keimung zerfallen die Stärkekörner um das Saugorgan herum. Die Zellen sind dann mit einer weissen Masse erfüllt, während in grösserer Entfernung das Nährgewebe noch hornartig und durchscheinend ist. Aber auch unter der peripheren Aleuronschicht entsteht eine schmale weisse Zone, in der die Stärkekörner zerfallen. Demnach scheint auch bei den untersuchten Commelinaceen die Aleuron-Schicht ein Ferment auszuschleiden, das auf die Stärkekörner einwirkt.

Plasmolyse der Stärkezellen lässt sich in normaler Salpeter- oder Rohrzuckerlösung nicht erreichen, auch dann nicht, wenn sie bereits teilweise entleert sind. Die Zellen der Aleuronschicht dagegen und die des Saugorgans sind in entsprechend hypertonschen Lösungen plasmolysierbar und somit lebend. Durch die Kernfärbung mit Hämalaun nach Fixierung mit JUELscher Lösung werden in den Stärkezellen von *Commelina* und *Palisota* zackig zerrissene Kerne sichtbar. Mit Anilinblau- und Nigrosinlösung behandelte Schnitte aus dem Endosperm des ruhenden oder eingequollenen Samens von *Commelina* zeigten inmitten des gefärbten Plasmanetzes den dunkleren Kern. Die Aleuronzellen dagegen blieben ungefärbt. Demzufolge besteht das Stärke-Nährgewebe von *Commelina* und *Palisota* aus toten Zellen, während die Aleuronschicht lebt; diese ist erst im ausgesogenen Endosperm tot, und jetzt stirbt auch das Saugorgan ab.

Fagopyrum, Agrostemma, Mirabilis.

Bei *Fagopyrum esculentum*, *Agrostemma Githago* und *Mirabilis Jalapa* ist im Perisperm Stärke abgelagert. Bei *Fagopyrum* und *Agrostemma* ist in der Nähe der Radicula das Endosperm in geringem Umfang ausgebildet; es enthält fettes Öl und Proteinstoffe, keine Stärke (HARZ 19, p. 1072). Der Embryo liegt beim Buchweizen mitten im Nährgewebe; bei *Agrostemma* und *Mirabilis* umfassen die Keimblätter das Perisperm. *Fagopyrum* besitzt eine mit Öl und Eiweissstoffen erfüllte Aleuronschicht.

Bei der Keimung beginnt die Lösung der Stärke von den ableitenden Keimblättern aus; bei *Fagopyrum* zeigt sich, dass auch von der Aleuronschicht aus Einwirkung auf die darunter gelegenen Stärkezellen stattfindet, wie auch HABERLANDT (15) mitbeteiligt hat. Plasmolyse teilweise entleerter Stärkezellen liess sich niemals beob-

achten. Um mir jedoch volle Gewissheit zu verschaffen, dass Plasmolyse tatsächlich nicht eintrat, auch nicht in geringem Grade, brachte ich mit Ätherwasser oder Chloroformwasser abgetötete Schnitte aus dem Perisperm von *Agrostemma* und *Fagopyrum* in plasmolytische Lösungen (Rohrzucker, Kalisalpeter). Hier waren die Stärkezellen sicher tot und demnach nicht plasmolysierbar. Vergleichen mit diesen Objekten zeigten die Schnitte, die nicht mit Äther- oder Chloroformwasser behandelt waren, in hypertonischen Lösungen nicht den kleinsten Unterschied: niemals konnte ich in den Perispermzellen die geringste Spur von Plasmolyse feststellen, auch denn nicht, wenn die Stärke bereits mehr oder weniger weitgehend gelöst worden war¹⁾. Die öl- und eiweisshaltigen Endospermzellen dagegen zeigen in frühem Stadium der Keimung, wenn die Radikula eben erst aus der Testa herausgetreten ist, Plasmolyse. Sie sterben jedoch bald ab, nachdem sie einen Teil ihrer Vorratsstoffe abgegeben haben. Auch die Zellen der Aleuronschicht bei *Fagopyrum* sind plasmolysierbar.

Nach der Behandlung mit Anilinblau-Lösung wiesen Schnitte aus dem Perisperm gequollener Buchweizenkörner deutliche, wenn auch schwache Färbung der Zellkerne auf, während die Endospermzellen ungefärbte Protoplasten enthielten. Das Perisperm von *Mirabilis* zeigte schwache Blaufärbung innerhalb der Zellen; gefärbte Kerne wurden hier nicht gefunden. In beiden Fällen sind also die stärkehaltigen Zellen des Nährgewebes tot.

Bei *Agrostemma* blieb das lebende Endosperm ungefärbt; in dem Perisperm konnte Färbung nicht einwandfrei festgestellt werden. Die geringe Bläuung, welche die Stärkezellen nach der Einwirkung der Anilinblau-Lösung zeigten, konnte ebenso gut von den gefärbten Zellmembranen herrühren, wie von etwa gefärbtem Zell-Inhalt. Schnitte aus dem Perisperm des ruhenden oder gequollenen samens der Kornrade färbten sich in MILLONs Reagenz nur in der Nähe des Embryos sehr schwach rötlich; der Inhalt der Perispermzellen an Eiweissartigen Stoffen, die sich mit Anilinblau färben könnten, ist offenbar nur sehr gering. Das Ausbleiben der Speicherung von Anilinblau hat also bei *Agrostemma* seinen Grund nicht darin, dass das Perisperm von *Agrostemma* lebt, sondern es wird vielmehr durch den Mangel an färbbarer Substanz, nämlich an Protoplasma, verursacht; denn die Stärkekörner speichern den Farbstoff nicht. Kerne liessen sich in den Perispermzellen von *Agrostemma* nicht einwandfrei nachweisen. Schnitte, aus denen durch mehrstündiges Einwirken verdünnten Speichels unter Zusatz von Chloroform bei 40 - 50° die Stärke gelöst war, zeigten nach

1) In diesem Zusammenhang wurden Schnitte ganz junger *Agrostemma*-Keimlinge, die ausser dem Perisperm gleichzeitig die Radikula und das Endosperm trafen, auch mit 0,45% Salzsäure abgetötet. Als diese Schnitte mit normaler Kochsalzlösung behandelt wurden, zeigte sich in den Zellen der Radikula und des Endosperms Kontraktion der Protoplasten, die eine gewisse Ähnlichkeit mit Plasmolyse hatte; auf Zusatz von Wasser vergrösserte sich der Protoplast wieder. Frische Schnitte des Endosperms oder der Radikula, die in Wasser liegend beobachtet wurden, zeigten auf Zusatz von 0,45% Salzsäure sofort Verquellung der Protoplasten; auf Zusatz von NaCl-Lösung trat Kontraktion der Protoplasten ein. Noch deutlicher wurde durch den eintretenden Farbumschlag das Eindringen der Säure und die damit verbundene Quellung, wenn die Zellen vorher mit Neutralrot *intra vitam* gefärbt worden waren. Die Radikula- und Endospermzellen sind reichlich mit dichtem Protoplasma angefüllt. Bei der hohen Säure-Konzentration lag auf der Hand, dass es sich bei dieser Scheinplasmolyse nicht um die regulatorische Tätigkeit lebender Protoplasten handeln konnte, sondern um eine rein physikalisch-chemische Erscheinung, nämlich um die Quellungsveränderung eines kolloidalen Systems, des Protoplasmas. An den plasma-armen stärkegefüllten Perispermzellen wurde diese Scheinplasmolyse nicht wahrgenommen. Dass es sich nicht um einen Lebensvorgang handelte, zeigt auch folgender Versuch: Trockene Gelatineplättchen, in 0,45% Salzsäure gebracht, quollen bedeutend auf; danach in normale NaCl-Lösung gelegt, zeigten sie Schrumpfungen. Ähnliche Erscheinungen hat FISCHER (10) an Fibrin untersucht. Er fand dabei, dass die Quellfähigkeit des Fibrins in verdünnten Säuren erhöht und dass die erhöhte Quellfähigkeit in Gegenwart von Salzen wieder herabgesetzt wird.

Fixierung und Behandlung mit Hämalaun in zahlreichen Perispermzellen kleine, unregelmässig konturierte Fetzen gefärbter Substanz, die wohl als Kernreste anzusprechen sind. Aus alledem geht mit Sicherheit hervor, dass auch die Perispermzellen von *Agrostemma* tot sind.

In den bisher besprochenen Fällen, bei den untersuchten Gramineen und Commelinaceen, bei *Fagopyrum*, *Mirabilis* und *Agrostemma* war in den stärkehaltigen Zellen des Nährgewebes durch die angewandten Mittel kein Leben nachzuweisen. Bei der Keimung erwachen nur die stärkefreien Teile dieser Samen zu neuem Leben, nämlich der Embryo, ferner das Öl und Eiweiss enthaltende Endosperm bei *Agrostemma* und *Fagopyrum*, und die Aleuronschicht bei den Gräsern, den Commelinaceen und bei *Fagopyrum*.

IV. LEBENDE RESERVESTOFFBEHÄLTER.

A. NÄHRGEWEBE.

VAN TIEGHEM hatte nur die Öl und Eiweiss enthaltenden fleischigen Nährgewebe aktiv genannt, die Zellulose führenden hornigen und die Stärke führenden mehlig-dagegen passiv. Die bisher besprochenen stärkehaltigen Nährgewebe erwiesen sich nach den von mir angewandten Untersuchungsmethoden als tot; sie waren im reifen Zustand trocken und mehlig. Für sie trifft also VAN TIEGHEMs Regel zu. Anders verhält es sich mit dem gleichfalls stärkehaltigen Nährgewebe von *Anthurium Kellermanni*; der Same dieser Aracee ist in frischreifem Zustand wasserreich; zahlreiche Zellen, die nicht allzu sehr mit Stärke vollgestopft sind, lassen sich plasmolysieren; die Protoplasten färben sich nicht mit Anilinblau; die Zellen sind also lebend, nicht nur die des Embryos, sondern auch die des Nährgewebes.

Wenn dagegen VAN TIEGHEM die zellulosehaltigen Nährgewebe als passiv bezeichnete, so ist diese Behauptung nicht zutreffend. Es ist nämlich nicht möglich, hornige, zellulosehaltige Endosperme von den fleischigen, öl- und eiweisshaltigen streng zu trennen. Denn einerseits enthalten die zellulosehaltigen Nährgewebe Fett und Proteinstoffe, und andererseits ist auch in den Membranen der fleischigen Endosperme eine gewisse Menge von Hemizellulosen vorhanden, die bei der Keimung verwendet werden können und somit als Reservestoffe anzusehen sind. Im *Ricinus*-Samen fanden SCHULZE und GODET (37, p. 318) einen Gehalt an Hemizellulosen von 2 - 3%. Bei ihren Untersuchungen verwendeten sie allerdings den gesamten Kern des Samens, also Endosperm und Embryo zusammen. Trotzdem ist wohl sicher anzunehmen, dass Hemizellulosen auch im Endosperm, das ja den grössten Teil des *Ricinus*-Samens ausmacht, vorkommen, wie auch aus den Vorgängen während der Keimung zu erkennen ist (siehe unten).

Im Endosperm von *Ricinus* sind die Zellmembranen dünn; dicker sind sie im Nährgewebe der folgenden von mir untersuchten öl- und proteinhaltigen kleineren Samen, nämlich von *Dipsacus Fullonum*, *Nigella sativa*, *Linum usitatissimum*, *Foeniculum officinale* und *Datura Stramonium*. Auch im hemizellulosereicheren Endosperm von *Paeonia officinalis* sind die Zellwände immerhin nur mässig stark. Mächtiger sind die Auflagerungen in den Endospermen von *Iris spuria*, *Phoenix dactylifera*, *Ceratonia Siliqua*, *Cyclamen persicum*, bei denen die Wände Tüpfelkanäle aufweisen. Bei *Phoenix* und *Ceratonia* kann die Stärke der Wände den Durchmesser des Zell-Lumens sogar übertreffen.

Die Reservesubstanz der Endospermwände besteht, wie die Hemizellulosen überhaupt (RIPPEL 34, p. 79) aus Kondensationsprodukten von Hexosen oder von Pentosen, die durch verdünnte Mineralsäuren verhältnismässig leicht spaltbar sind; dabei ist die gleichzeitige Anwesenheit der Kondensationsprodukte mehrerer Zuckerarten in häufigen Fällen erwiesen (CZAPEK 7, p. 417).

Bei der Keimung werden die im Samen angelagerten Reservezellulosen gleichfalls hydrolysiert und die Spaltprodukte werden von der jungen Pflanze aufgenommen. Die hierbei stattfindenden Lösungsvorgänge hat zuletzt wohl MICHNIEWICZ (23) mikroskopisch untersucht, frühere Beobachter zum Teil ergänzend, zum Teil widerlegend. Dieser Autor fand, dass bei der Keimung zylindrische, weniger stark lichtbrechende

Membranpartien auftreten, die vom Zell-Lumen aus die sekundären Auflagerungen durchsetzen; späterhin verschmelzen diese veränderten Partien miteinander. Die Lösungserscheinungen betreffen zunächst nur einen Bestandteil der Wandverdickungen, der andere kann späterhin auch verdaut werden. Innenhaut und Mittellamelle bleiben stets erhalten.

Es war bereits erwähnt worden, dass eine strenge Trennung zwischen öl- und eiweisshaltigen, fleischigen und Hemicellulosen führenden, hornigen Endospermen im Sinne VAN TIEGHEMS nicht möglich ist. Dem entsprechend ergibt sich eine Übereinstimmung insofern, als sich in beiden Fällen nachweisen lässt, dass die Endospermzellen bei der Keimung neues Leben zeigen¹⁾. Deshalb soll auch noch nicht die Möglichkeit ausgeschlossen sein, dass es tote, mit Hemicellulosen versehene Endosperme gibt, etwa bei den Leguminosen, in deren Nährgewebe das Lumen der Zellen fast völlig verschwunden sein kann, wie es z.B. bei *Trigonella* der Fall ist (NADELMANN, 25, p. 666).

Wenn man die Frage verfolgt, in welcher Weise das Absterben in ursprünglich lebendem Nährgewebe vor sich geht, so lassen sich gewisse Beziehungen auffinden zwischen der Lebensdauer der Nährgewebezellen und dem Verhalten derjenigen Organe des Embryos, die aus dem Nährgewebe die mobilisierten Reservestoffe aufnehmen. Hierbei können zwei Typen voneinander unterschieden werden. Bei dem einen Typus - als Beispiel seien genannt *Ricinus* und *Phoenix* - sterben schon in frühen Keimungsstadien um den aussaugenden Embryoteil herum die Zellen des Nährgewebes in immer breiter werdendem Streifen ab; gleichzeitig wachsen das Saugorgan bzw. die Kotyledonen, wobei sie auf die Wände der toten, leeren Nährgewebezellen einen Druck ausüben.

Bei dem zweiten Typus wächst das Saugorgan während der Keimung nicht oder doch nicht eben merklich innerhalb des Nährgewebes, und in diesem Falle sind die Zellen des Nährgewebes, die um das Saugorgan herumliegen, auch in späteren Keimungsstadien noch lebend. Zu diesem Typus gehören von den untersuchten Samen *Arthrum Kellermannii*, wo das Nährgewebe hauptsächlich Stärke führt, und *Iris spuria*, deren Endosperm ausser Öl und Proteinstoffen reichliche Mengen von Hemicellulosen enthält.

Typus 1: Die um das ableitende Organ gelegenen Zellschichten sterben im frühen Keimungsstadium ab; das ableitende Organ des Embryos wächst mehr oder weniger bedeutend innerhalb des Endosperms.

Ricinus communis.

Im *Ricinus*-Samen sind die Kotyledonen von dem fleischigen, dicken Endosperm wie von einer Tasche umschlossen. Während der ersten Stadien der Keimung findet ein nicht unbeträchtliches Wachstum der Kotyledonen und des sie umhüllenden Endosperms statt, das auch nach der Sprengung der Samenschale noch andauert. Das Endosperm erreicht etwa das Doppelte der Länge und Breite, die es im ruhenden Samen besass. Schliesslich wird das Nährgewebe, das auch mit über die Erde gebracht werden kann, durch die Kotyledonen vollständig oder doch bis auf die Spitze in 2 Teile zerlegt.

In den ersten Stadien der Keimung ist das Nährgewebe, mit blossen Auge betrachtet, weiss und fest. Die Zellen lassen sich auch mit konzentrierten Lösungen des reichen Inhalts wegen noch nicht plasmolysieren. Aus Nigrosin- und Anilinblaulösungen nehmen die Protoplasten keinen Farbstoff auf; sie sind also lebend. Nur unmittelbar um die Kotyledonen herum liegt eine Zone toter Zellen, die aber schon im ruhenden *Ricinus*-Samen, allerdings nur sehr wenige Lagen fast leerer Zellen umfassend, vorhanden zu sein pflegt. Im Laufe der Keimung vergrössert sich die

1) Auch die Zellen der hemizellulosereichen Nährgewebe von *Allium Cepa* und *A. obliquum* sowie von *Galium Mollugo* sind plasmolysierbar und somit lebend; indessen wurde die Keimung dieser Samen nicht näher verfolgt.

Zahl der an ihrer Zusammensetzung beteiligten Zellagen und durch das Wachstum der Kotyledonen werden die Wände dieser toten und somit nicht mehr turgeszenten Zellen zusammengedrückt. Infolge dessen wird die tote Zone anfänglich nur verhältnismässig wenig verbreitert, trotzdem die Zahl der toten Zellagen erheblich zunimmt, und die Kotyledonen werden von dem lebenden, reichlich mit Inhaltsstoffen versehenen Endospermgewebe durch einen nur schmalen, toten Streifen getrennt, der von dem mobilisierten Material durchwandert werden muss.

Im folgenden sei das Endosperm eines Keimlings mittleren Stadiums beschrieben, bei dem Hypokotyl und Hauptwurzel zusammen 14 cm lang waren. Hier bestand die tote Zone etwa aus 10 bis 12 Zellagen. Die Wände dieser toten Zellen waren dünner und weniger stark lichtbrechend als die Wände der näher an der Peripherie gelegenen gesunden Zellen; ein Teil ihrer Membransubstanz, wohl die bereits im ruhenden Samen vorhandenen Hemizellulosen (vergl. oben, Seite 293, auch SCHULZE u. CODET, 37), muss also verflüssigt und vom Embryo aufgenommen worden sein. Als Inhalt führten die toten Endospermzellen noch Öltröpfchen und Reste des Protoplasten. In nächster Nähe der Kotyledonen waren die Plasmareste verschwindend klein; nach der Peripherie hin nehmen sie an Masse zu; an der Grenze zwischen totem und lebendem Gewebe schliesslich besaßen die offenbar zuletzt abgestorbenen Zelleiber annähernd ebensoviel Protoplasma und Öl, wie die benachbarten lebenden, und hier färbten sich auch die toten Protoplasten mit MILLONs Reagens rot, während die geringen Plasmareste in der Nähe der Kotyledonen sich höchstens bräunlich färbten, also keine Eiweissstoffe mehr enthielten.

In den lebenden Endospermteilen hatte eine weitgehende Auswanderung der Reservestoffe stattgefunden, und jetzt liess sich mit normalen Lösungen leicht Plasmolyse erreichen. Die Rotfärbung mit MILLONs Reagens zeigte noch reichliches Vorhandensein von Proteinstoffen an; die Intensität der Färbung nahm von aussen nach innen etwas ab. Ebenso zeigten Osmiumsäure und Alkannatinktur an der Peripherie des Endosperms noch eine grössere Menge fetten Öls an, als an der Grenze zwischen lebendem und totem Gewebe.

In späteren Keimungsstadien hat das lebende Endospermgewebe noch mehr an Inhalt abgenommen; es ist noch weiss und fest, während das abgestorbene Gewebe als durchscheinender Streifen um die Keimblätter herum nunmehr schon mit blossen Auge sichtbar ist.

In der toten Zone sind jetzt geringere Inhaltsreste vorhanden als in den früheren Keimungsstadien der Fall war. Wenn man diesen Umstand im Auge behält, und wenn man ferner berücksichtigt, dass die in der toten Zone vorhandenen Reste an Öl und Eiweiss am reichlichsten an der Grenze mit dem lebenden Gewebe und am spärlichsten in der Nähe der Kotyledonen sind, so folgt daraus, dass eine Aufnahme dieser beiden Reservestoffe auch nach dem Tode der Protoplasten möglich sein muss. Die oft nur ganz unbedeutenden Plasmareste, die in den zusammengepressten Endospermzellen der toten Zone zurückbleiben, zeigen ferner, dass nicht allein das als Reservestoff gespeicherte Eiweiss mobilisiert wird, sondern auch die Protoplasten der Endospermzellen selbst nach ihrem Tode fast vollständig gelöst werden können.

Noch ein weiterer Umstand ist von Wichtigkeit: in frühen Keimungsstadien nämlich sind die eben abgestorbenen Zellen reicher an Fett und Proteinstoffen als in späteren. Demnach sterben die Zellen nicht etwa ab, nachdem sie einen bestimmten Teil des Reservematerials abgegeben haben, sondern die Menge der Vorratsstoffe, welche die Zellen bis zum Augenblick des Todes abgegeben haben, ist in verschiedenen Keimungsstadien verschieden gross: sie ist in frühen Phasen geringer als in späteren.

Übrigens kann ich GREENs (11, p. 381) Beobachtung, dass in den Zellen der toten Zone kein Fett vorhanden wäre, nicht bestätigen. Ich fand, wie bereits erwähnt, wenigstens in nicht zu späten Stadien mehr oder weniger glänzende Tröpfchen in der toten Zone, die durch ihr Verhalten gegen Sudanglycerin, Alkannatinktur und Osmiumsäure sowie durch die eintretende Verseifung mit starken Alkalien als fettes Öl erkannt wurden. Hierbei ist es ausgeschlossen, dass diese Öltröpfchen beim Schneiden aus den noch lebenden Partien des Albumens mitgerissen

worden wären, denn beim Heben und Senken des Tubus liess sich leicht erkennen, dass sie allseitig von Zellwänden umgeben waren.

In den bisherigen Keimungsstadien waren die Kotyledonen vom Endosperm noch rings umschlossen und standen daher mit ihm in inniger Berührung. Wenn dagegen in späten Phasen der Keimung das Nährgewebe auseinander gespalten wird, so bietet es den Kotyledonen kein Widerlager mehr; es steht jetzt mit den Keimblättern nicht mehr in so enger Berührung, sondern es liegt ihnen nur noch lose an. Die Bedingungen für die Stoffaufnahme sind daher weniger günstig; dieser Umstand ist indessen nurmehr ohne grössere Bedeutung, da die Reservestoffe des Nährgewebes schon sehr weitgehend aufgebraucht sind. Schliesslich wird das ganze Endosperm glasig-durchscheinend und weich; die mikroskopische Untersuchung zeigt, dass höchstens an der Peripherie hier und da noch lebende Zellgruppen vorhanden sind, die arm an Plasma sind, grosse Vakuolen besitzen und sich leicht plasmolysieren lassen. In diesem Stadium stellen sich häufig Bakterien ein, vorausgesetzt dass genügend Feuchtigkeit vorhanden ist.

Im folgenden seien noch einige wenige Versuche mit *Ricinus*-Endospermen erwähnt. Die Kerne von der Testa befreiter Samen wurden auseinander gespalten und von den so erhaltenen Hälften wurden die Teile des Embryos losgelöst bis auf geringe Reste der Keimblätter, die an den Endospermhälften verblieben. In einer 2. Versuchsreihe wurde nur die Radicula und die Plumula von den geschälten und halbierten Samen entfernt, während die Keimblätter unberührt gelassen wurden, sodass also jeder Endospermhälfte ein Keimblatt anlag. Dann wurden die Objekte beider Serien in verdeckten Glasschalen auf feuchtem Flisspapier einer Temperatur von 20 - 25° ausgesetzt, gleichzeitig mit *Ricinus*-Samen, von denen nur die Testa losgelöst war. Ganz wie bei VAN TIEGHEM zeigte sich nun Wachstum auch der isolierten Endosperme; die unverletzten Samen gelangten bald zur Keimung. Dabei liess sich nun beobachten, dass die Zellen der operierten Endosperme nach gleicher Versuchsdauer noch reicher an Nährstoffen waren und vor allem länger am Leben blieben als die Nährgewebezellen der unverletzten Samenkern, bei denen ja dauernde Ableitung stattfand und bei denen um die Kotyledonen herum in der gewöhnlichen Art und Weise die Endospermzellen abstarben. Die Zellen derjenigen Endospermhälften, bei denen die Kotyledonen nicht entfernt worden waren, zeigten nach 14 Tagen keine Verbreiterung der bereits im ruhenden Samen um die Kotyledonen herum vorhandenen toten Zone des Nährgewebes; Fett und Proteinstoffe hatten sowohl hier als auch bei den Endospermen, wo die Keimblätter bis auf geringe Reste losgelöst waren, stark abgenommen; sämtliche Zellen lebten.

Pinus Pineae.

Der Embryo ist im Samen von *Pinus Pineae* rings vom Nährgewebe umschlossen, Reservestoffe sind fettes Öl und Eiweiss. Bei der Keimung wird die starke Samenschale durch das Wachstum des Endosperms gesprengt, und die Wurzel durchbricht das Nährgewebe; die Kotyledonen bleiben bis gegen das Ende der Keimung vom Endosperm umschlossen.

Die Endospermzellen sind bei Beginn der Keimung lebend, wenn sie sich auch des reichen Inhalts wegen vorläufig nicht plasmolysieren lassen. Die zuerst absterbenden Zellen liegen auch hier um die Kotyledonen herum. Die mehr nach der Peripherie gelegenen, vorläufig noch lebenden Zellen geben im weiteren Verlauf d. Keimung ihre Reservestoffe allmählig ab; gleichzeitig nimmt die Zahl der Zellagen, welche die tote Zone bilden, zu. Schliesslich sind nur noch in der Spitze des Endosperms die Zellen wenigstens teilweise lebend; sie haben den allergrössten Teil des Reservematerials abgegeben und besitzen einen plasmaarmen, vakuoligen Zelleib, der höchstens ganz winzige Öltröpfchen aufzuweisen pflegt. In diesem Zustande wird das Endosperm meist abgeworfen. Noch mehrere Tage danach findet man gelegentlich im Spitzenteil des abgefallenen Nährgewebes lebende Zellen, vorausgesetzt, dass es vor allzu starkem Austrocknen geschützt war.

Nigella sativa, *Linum usitatissimum*, *Foeniculum officinale*,
Datura Stramonium, *Dipsacus Fullonum*.

Das Endosperm dieser kleinen Samen wird während der ganzen Dauer der Keimung von der Testa umschlossen, im Gegensatz zu *Ricinus* und *Pinus*, wo die Samenschale durch das Wachstum des Nährgewebes gesprengt wird. Reservestoffe sind auch hier Fett und Proteinstoffe; daneben findet eine Verwertung der Wandsubstanz der Nährgewebezellen statt.

In den ersten Keimungsstadien lassen sich die Endospermzellen des reichen Inhalts wegen kaum plasmolysieren; später, wenn die Wurzel einige Millimeter lang geworden ist, zeigen die Protoplasten in 10% Kalisalpetatlösung deutliche Kontraktion; eine ansehnliche Menge von Reservematerial haben sie dann bereits abgegeben.

Schon im ruhenden Samen liegt um den Embryo herum eine Zone leerer oder doch inhaltsarmer toter Zellen, die im Laufe der Keimung durch die absterbenden Zellschichten in zentrifugaler Richtung verbreitert wird. Gleichzeitig wachsen die Keimblätter innerhalb des Nährgewebes; sie drücken dabei die Wände der toten Zellen zusammen, wodurch stets eine enge Berührung mit dem Nährgewebe gewährleistet ist. Die zusammengeschobenen Wände werden dünner und weniger stark lichtbrechend, ein Zeichen, dass sie, wohl unter der Einwirkung von den Kotyledonen abgeschiedener Fermente an Substanz verlieren. Gleichzeitig findet auch hier, wie bei *Ricinus*, die Aufnahme von Öl und Eiweiss aus der toten Zone heraus statt; denn auch hier können die Protoplasten der toten Endospermzellen bis auf geringe Reste verschwinden, und ebenso sind Öltröpfchen, die sich in früheren Stadien oft in den toten Zellen fanden, später meist nicht mehr vorhanden.

Die Zellwände im Endosperm von *Linum* bläuen sich mit Jodjodkali; sie enthalten also Amyloid. In den oben beschriebenen Keimungsstadien, wo die Wurzel mehrere mm lang war, trat nirgends mehr Blaufärbung ein; das Amyloid war also bereits in den lebenden Zellen gelöst. Die Wandstärke hatte in den lebenden Zellen trotzdem nicht merklich abgenommen; erst in den toten Zellen ist eine Verminderung der Wandstärke zu beobachten. Bei den genannten Samen wurden indessen die Vorgänge beim Verbrauch der Wandsubstanz nicht näher untersucht; erst im folgenden soll diese Frage behandelt werden.

Das Nährgewebe der folgenden untersuchten Samen, deren Keimung gleichfalls nach dem Tyous I. verläuft und bei denen somit die Endospermzellen von den Kotyledonen aus bald nach Beginn der Keimung abzusterben beginnen, ist mehr oder weniger reich an Hemizellulosen: *Phoenix dactylifera*, *Pasonia officinalis*, *Ceratonia Siliqua*, *Cyclamen persicum*. Ausserdem enthalten sie neben Proteinstoffen in verschiedenen Mengen fettes Öl. Sie alle stimmen darin überein, dass auch in ihren Zellen sich lebende Protoplasten nachweisen lassen, wenn sie auch sonst in manchem voneinander abweichen mögen.

Cyclamen persicum.

Bei *Cyclamen* vermittelt ein einziger Kotyledon die Aufnahme der Reservestoffe des Nährgewebes. Der Druck, der er auf die im Laufe der Keimung abgestorbenen Endospermzellen ausübt, ist verhältnismässig gering; infolge dessen werden die Wände der toten Zellen weniger heftig zusammengepresst, als es etwa bei *Ricinus* der Fall ist, und die Berührung des Kotyledons mit den noch lebenden Partien des Albumens ist weniger innig. Dafür ist allerdings der Samen von *Cyclamen* ziemlich klein. Die Auflagerungen im Endosperm von *Cyclamen* enthalten Amyloid und färben sich mit Jodjodkali blau.

In frühen Stadien der Keimung sind die lebenden Zellen des Nährgewebes noch reich an Inhaltsstoffen; späterhin haben Fett und Proteinstoffe abgenommen; die Zellen lassen sich jetzt leicht plasmolysieren.

Gleichzeitig sind an den lebenden Endospermzellen Lösungserscheinungen auch in den Wandverdickungen zu beobachten, sowohl in der Peripherie als auch in denjenigen lebenden Partien, die näher am Kotyledon liegen; hier sind sie je-

doch schon weiter vorgeschritten. Die bereits veränderten Teile der Zellwand sind weniger stark lichtbrechend geworden, als es die noch nicht angegriffenen Partien sind. Im Querschnitt gesehen, springen vom Zell-Lumen aus, unter Schöpfung der Innenhaut, hyaline Striche oder Stacheln in die sekundären Auflagerungen hinein, zwischen denen die Wandsubstanz noch stärker lichtbrechend ist. Bei gemügender Vergrößerung sind diese Lösungserscheinungen ohne Zuhilfenahme von Reagentien gut sichtbar. Deutlicher werden sie durch Anwendung von Jodjodkaliumlösung, wobei sie farblos bleiben, während die unveränderten Partien der Auflagerungen blau werden. In Kongorot-Lösung färbt sich nur die intakte Membran; die hyalinisierten Partien bleiben ungefärbt.

Die tote Zone um den Kotyledon herum ist je nach dem Keimungsstadium mehr oder weniger breit. Sie enthält noch Protoplasma-Reste und namentlich in früheren Stadien Öltröpfchen. Auch hier liegen in der Nähe des Kotyledons nur noch ganz unbedeutende Protoplasmareste, reichlichere nach der Grenze der lebenden und der toten Endospermepartien zu, und auch hier findet also eine Aufnahme von Fett- und Proteinstoffen auch aus toten Partien heraus statt, wie es (Seite 295) bereits für *Ricinus* geschildert wurde.

Die Wandverdickungen in der t o t e n Zone sind stets stärker angegriffen, als die der lebenden Endospermzellen. In mittleren Keimungsstadien sind in unmittelbarer Nähe des Kotyledons die Auflagerungen vollständig gelöst; es sind nur die Mittellamellen und die Innenhäute erhalten geblieben. Weiter nach der Peripherie zu sind die Auflagerungen teilweise noch vorhanden, aber vollständig hyalinisiert; ihre Masse wird mit zunehmender Entfernung vom saugenden Kotyledon immer beträchtlicher. Schliesslich, aber immer noch in der t o t e n Zone, sind auch stärker lichtbrechende Wandpartien vorhanden, und in den Membranen lebender Zellen sind nur geringe Teile hyalin. Der grösste Teil der Reservesubstanz der Endospermzellen wird also erst verflüssigt, wenn die Protoplasten der Zellen abgestorben sind.

Paeonia officinalis.

Auch bei *Paeonia officinalis* lassen sich bereits in den Wänden lebender Zellen des Endosperms Lösungserscheinungen auffinden, die besonders durch die Behandlung mit Jodjodkaliumlösung deutlich werden. Denn bei *Paeonia* besteht die Reservesubstanz gleichfalls aus Amyloid, und wie bei *Cyclamen* bläuen sich die hyalinisierten Membranpartien nicht mehr. Wenn auch die hyalinisierten Partien in den Wänden lebender Zellen ansehnlicher sind als bei *Cyclamen*, so wird immerhin der bei weitem grössere Teil der sekundären Auflagerungen erst nach dem Tode der Zellen verflüssigt.

Ceratonia Siliqua.

Ogleich die Zellen des Nährgewebes von *Ceratonia Siliqua* ziemlich bald nach Beginn der Keimung von den Kotyledonen aus absterben, so lassen sich dennoch an den Wänden l e b e n d e r Zellen Lösungserscheinungen auffinden. Die angegriffenen Partien sind schon ohne Zuhilfenahme von Reagentien durch ihre geringe Lichtbrechung kenntlich. Dass die infrage kommenden Zellen leben, wurde durch Plasmolyse mit normaler Salpeterlösung, die auf Zusatz von Wasser zurückging, einwandfrei festgestellt. Auch bei *Ceratonia Siliqua* wird der grösste Teil der Reservesubstanz der Zellwände nach dem Tode der Protoplasten verflüssigt.

Phoenix dactylifera.

Während *Cyclamen*, *Paeonia* und *Ceratonia* bei der Keimung schon in den l e b e n d e n Zellen Lösungserscheinungen der Membranverdickungen aufweisen, gelang es mir nicht, in den Wänden l e b e n d e r Endospermzellen von *Phoenix dactylifera* Anzeichen von Hydrolyse zu finden. Hier würde also die gesamte Reservezellulose der Membranen erst nach dem Tode der Zellen mobilisiert werden. MICHNIEWICZ (23, p. 489) beschreibt als erste Auflösungsstadien "dicht gedrängte, später oft reihenweise verschmelzende Punkte" auf den Auflagerungen der Zellwandflächen. Er

gibt an, dass dieses Stadium nur bei Beginn der Keimung angetroffen wird. Die jüngsten der von mir untersuchten Dattelkeimlinge hatten bereits eine Wurzel von mindestens 6 cm Länge entwickelt. Es kann sein, dass in diesem Stadium die von MICHNIEWICZ beschriebene Punktierung nicht mehr vorhanden ist; selbst an den Rändern sehr dünner Schnitte liess sie sich weder im Querschnitt noch in der Aufsicht wahrnehmen. Die das Saugorgan umschliessenden toten Endospermepartien dagegen, die durch das wachsende Saugorgan z.T. stark zusammengepresst waren, zeigten mehr oder weniger deutlich angegriffene Wandauflagerungen; in nächster Nähe des Saugorgans waren nur noch die Innenhäutchen und Mittellamellen übrig, in zentrifugaler Richtung nahm die Masse der noch vorhandenen Reservezellulose zu. Während der Keimung wächst das Saugorgan immer weiter; gleichzeitig schreitet das Absterben der Nährgewebezellen nach der Testa zu fort; das Saugorgan wird von den noch lebenden Partien des Endosperms immer durch eine Zwischenschicht toten Gewebes getrennt. Dass die Zellen der untersuchten Schnitte lebten, stellte ich durch Plasmolysieren und folgende Deplasmolyse in verdünnteren Lösungen oder in Wasser fest. Die Plasmolyse ist in den Zellen des Dattelendosperms nicht immer leicht zu beobachten. Vor allem dürfen nicht zu dünne Schnitte verwendet werden, da die Protoplasten wegen der tief in die Zellwände eindringenden Tüpfelkanäle beim Schneiden leicht verletzt werden können. In späteren Stadien, wenn die Zellen an Inhalt abgenommen haben, ist Plasmolyse leichter zu beobachten, namentlich in den peripher gelegenen, regelmässiger gestalteten Zellen.

Es besteht demnach die Möglichkeit, dass das *Phoenix*-Endosperm ausserstande ist, seine Reservezellulose selbst, d.h. ohne Tätigkeit des Embryos, zu lösen. Damit im Einklang stehen die Angaben PONDs (29), der dem Dattelendosperm die Fähigkeit der Selbstverdauung absprach. Indessen ist die Versuchsanordnung PONDs wohl nicht ganz einwandfrei. POND fand keine Selbstzersetzung zerriebener Endosperme, ganz gleich, ob diese dem ruhenden Samen entnommen waren, oder ob sie entkeimt, 28 Tage lang in Zimmertemperatur im Wasser gelegen hatten. Im letzteren Falle hatte sie POND täglich 3 Minuten lang mit 1% Kupfersulfatlösung gewaschen, um Keime fernzuhalten. Es ist anzunehmen, dass eine solche Behandlung nicht ohne schädigende Folgen auf das Protoplasma der Endospermzellen bleibt. POND berichtet zwar, dass die Keimung von Dattelkernen, deren Embryo nicht entfernt war, durch das Waschen mit Kupfersulfat nicht verhindert wurde. Das schliesst jedoch wohl nicht aus, dass die entkeimten Endosperme geschädigt wurden, vor allem deshalb, weil das Gift von der Höhlung aus, in der der Embryo gesessen hatte, eindringen konnte. Ausserdem stellte POND Entleerungsversuche an. Dabei liess er entkeimte Endosperme in 1% Toluolwasser eintauchen, das täglich erneuert wurde; die nicht untergetauchten Teile der Endosperme wurden täglich abgespült. Nach 56 Tagen fand er keine Anzeichen von Korrosion in den Zellwänden. Beweisend dafür, dass das Dattel-Endosperm der Selbstverdauung unfähig wäre, ist indessen auch dieser Versuch nicht; denn eine Schädigung durch das Antiseptikum ist auch in diesem Falle denkbar. Immerhin ist es wohl wahrscheinlich, dass die Lösung der Reservezellulose der Dattelsamen nur durch die Wirkung des Embryos möglich ist.

Was den Verbrauch der übrigen Reservestoffe betrifft, so nimmt der Protoplasmakörper der lebendigen Endospermzellen im Laufe der Keimung an Mächtigkeit ab u. ebenso verringert sich ihr Ölvorrat, soweit sich nach mikroskopischer Untersuchung und nach mikrochemischen Reaktionen beurteilen lässt.

Mit diesen beiden Tatsachen lassen sich auch die Analysen-Ergebnisse LE CLERC DU SABLONS vereinen, der allerdings dem Dattelendosperm die Fähigkeit der Selbstverdauung absprach. Dieser Autor fand während der ganzen Keimung im ungelösten Teile des Dattel-Endosperms einen annähernd gleichbleibenden Ölgehalt von 7%. Dieser Umstand lässt sich so erklären, dass ausser dem Fett auch die protoplasmatischen Bestandteile abnehmen, wie ich an den Schnitten von lebenden Endospermepartien von Keimlingen verschiedenen Alters finden konnte. Das Verhältnis des Öls zur Substanz des ungelösten Nährgewebes kann infolge dessen immer konstant bleiben. Wenn ferner LECLERC DU SABLON in entkeimten Endospermen, die unter gleichen Bedingungen gehalten waren, wie die gekeimten Samen, keine wesentliche Abnahme des Fettgehaltes fand, so ist daran wohl nur der Mangel an Ableitung schuld, und die Unfähigkeit des Dattelendosperms, sein fettes Öl selbst zu mobilisieren, wäre

damit noch nicht erwiesen.

Typus 2: Die um das Saugorgan gelegenen Zellschichten des Nährgewebes bleiben lange lebend; das Saugorgan zeigt kein Wachstum.

Bei den bisher behandelten lebenden Endospermen, die alle dem aufgestellten Typus 1 angehören, drückt während der Keimung das ableitende Organ des Embryos die um das ableitende Organ herum absterbenden Zellen durch sein Wachstum mehr oder weniger stark zusammen. Dadurch bleibt der Raum, den das entleerte und somit zwecklose Nährgewebe einnimmt, verhältnismässig gering; der Weg von den mit Vorratsstoffen noch gefüllten Nährgewebezellen bis zum Embryo ist nur kurz, und es braucht von den gelösten Stoffen nur eine schmale Zone toter Zellen durchzuwandern zu werden. Denn je geringer der Zwischenraum zwischen Embryo und Vorratsspeicher bleibt, desto günstiger sind die Bedingungen für die Stoff-Aufnahme; je weiter andererseits der Embryo von den Reservestoffen entfernt ist, desto geringer ist seine saugende Kraft, desto geringer ist das Konzentrationsgefälle, desto geringer also auch die Wirkung von ihm ausgeschiedener Fermente. Andere Verhältnisse liegen vor, wenn der ableitende Embryoteil nicht innerhalb des Endosperms, dem Absterben der Zellen entsprechend, wächst. Wenn auch hier die Zellagen um das ableitende Organ herum in frühem Stadium der Keimung absterben würden, so müsste die Entfernung zwischen Embryo und Reservestoffspeicher immer grösser werden, was die eben erwähnten Nachteile für die Ernährung des Embryos zur Folge hätte. Es ist also verständlich, wenn in diesem Falle die Zellen des Nährgewebes noch lange leben bleiben, auch wenn sie den grössten Teil der Vorratsstoffe abgegeben haben, sodass eine innige Verbindung zwischen dem Embryo und dem Speichergewebe, d.h. jetzt den peripheren Teilen des Nährgewebes, auch fernerhin besteht. Denn der Raum zwischen beiden ist nicht tot, sondern er enthält lebende Substanz. Die verflüssigten Reservestoffe brauchen nicht mehr rein mechanisch durch Diffusion allein in den Embryo zu gelangen, sondern das lebende Protoplasma der Endospermzellen kann in den Prozess der Stoffwanderung regulatorisch eingreifen. Das sind die Verhältnisse, wie sie beim Typus 2. vorliegen. Von den untersuchten Samen gehören hierher *Iris spuria* und *Anthurium Kellermanii*.

Iris spuria.

An Reservematerial besitzt das Nährgewebe von *Iris spuria* ausser Fett und Proteinstoffen ansehnliche Verdickungen der Zellwände, die sich mit Jodjodkalilösung braun bis violettbraun färben. Die Aufnahme dieser Vorratsstoffe wird durch ein Saugorgan vermittelt, das nicht oder doch nicht wesentlich wächst; die Endospermzellen bleiben auch um das Saugorgan herum lange lebend.

Im Laufe der Keimung nehmen Öl und Proteinstoffe in den Zellen merklich ab, und zwar nahe am Saugorgan stärker als an der Peripherie des Nährgewebes. Gleichzeitig beginnt die Hydrolysierung der Membranverdickungen, an denen hyaline Partien auftreten; diese angegriffenen Teile der Auflagerungen färben sich nicht mehr mit Jodjodkalilösung. Derartige Veränderungen der Wandsubstanz sind besonders weit vorgeschritten in der Nähe des Saugorgans; sie sind jedoch auch in den peripheren Teilen des Nährgewebes aufzufinden.

Im vorgerücktesten Stadium, das ich untersuchen konnte, nämlich bei einem Keimling, der ein Blatt von 22 mm Länge und zwei Wurzeln von 62 und 47 mm Länge entwickelt hatte, lag im Endosperm um das Saugorgan herum eine Zone, in der die Zellwände bereits vollständig hyalinisiert waren; die Wandstärke hatte dabei nicht oder doch nicht merklich abgenommen. Die Breite dieser hyalinen Zone um das Saugorgan herum entsprach etwa einem Drittel bis der Hälfte des Samen-Halbmessers. Die weiter nach aussen gelegenen Zellschichten besaßen nur teilweise hyalinisierte Membranen, und in der äussersten Zellage waren nur geringe Veränderungen der Membranverdickungen wahrzunehmen. Sämtliche Zellen des Endosperms waren plasmolysierbar und somit lebend. Fixierte und gefärbte Schnitte zeigten in den Zellen des Nährgewebes normale Kerne.

In welcher Weise der weitere Verbrauch der Reservestoffe, insbesondere der Reservezellulose, und das Absterben des Nährgewebes vor sich gehen, konnte nicht beobachtet werden, da von den ausgesäten Samen nur eine geringe Anzahl zur Keimung gelangt war. Am Ende der Keimung bleibt vom Endosperm nur noch ein dünnes Häutchen übrig, das wohl aus den Mittellamellen und Innenhäuten der Zellwände besteht.

Anthurium Kellermannii.

Die Samen von *Anthurium Kellermannii*¹⁾, einer Aracee, sind von etwa eiförmiger, seitlich zusammengedrückter Gestalt; sie sind etwa 8 bis 10 mm lang und 5 bis 7 mm breit. Im frischreifen Zustande sind sie reich an Wasser. Der Embryo liegt inmitten des stärkereichen Nährgewebes; seine Zellen enthalten gleichfalls Stärke, meist in geringeren Mengen als die Zellen des Nährgewebes. Die peripheren Zelllagen des Albumens führen Chlorophyll. Sämtliche Zellen des Samens enthalten reichlich Protoplasma. In n. Salpeterlösung lässt sich in vielen Fällen Plasmolyse feststellen, wenn auch nur in geringem Grade; nur die Zellen, die sehr stark mit Stärkekörnern angefüllt sind, zeigen begreiflicher Weise keine Kontraktion des Protoplasten. Die Behandlung mässig starker Schnitte mit Anilinblau- oder Nigrosinlösung ergibt nirgends gefärbte Zellen, vorausgesetzt, dass der Inhalt angeschnittener Zellen durch Abspülen mit Wasser entfernt worden ist. Fixierte und gefärbte Präparate frischreifer Samen lassen in jeder Zelle des Embryos und des Nährgewebes einen normalen Kern erkennen, dessen Umrisse nur ab und zu durch Stärkekörner leicht eingebeult sind. Aus alledem geht hervor, dass die stärkehaltigen Zellen des Nährgewebes von *Anthurium Kellermannii* leben.

Anders liegen die Verhältnisse bei Samen, die durch zweimonatiges Lagern bei einer Temperatur von 16 - 25° halb ausgetrocknet und äusserlich etwas geschrumpft sind. Dann sind in den meisten Zellen die Kerne eingebeult bis gezackt, sowohl im Embryo als auch im Endosperm. Mit 0,5% Anilinblau- oder Nigrosinlösung behandelte Schnitte solcher halb eingetrockneter Samen zeigen zahlreiche gefärbte, also tote Zellen. Dabei scheinen die Zellen des Embryos und die peripher gelegenen Schichten des Albumens widerstandsfähiger gegen die Folgen des Austrocknens zu sein, denn Schnitte aus mässig geschrumpften Samen weisen dort einen grösseren Teil ungefärbter Zellen auf als in den innern Partien des Nährgewebes.

Noch auffallendere Veränderungen haben in völlig ausgetrockneten Samen stattgefunden, die durch noch stärkeren Wasserverlust hornartig und damit in ihrer Beschaffenheit Getreidekörnern ähnlich geworden sind. Sämtliche Zellkerne sind hier gezackt; sie gleichen in der äusseren Form fast den Kernen in den Stärkezellen der Gräser. In Anilinblau- oder Nigrosinlösung färben sich sämtliche Zellen, ganz gleich, ob die Samen, denen die Schnitte entnommen werden, einen Tag in Wasser bzw. feuchten Sägespänen gelegen haben, oder ob sie in trockenem Zustand geschnitten werden.

Durch den Wasserverlust während des Lagerns wird also der Tod der Zellen, nicht nur des Nährgewebes, sondern auch des Embryos herbeigeführt. Diese Tatsache macht es verständlich, dass von halb oder ganz ausgetrockneten Samen kein einziger zur Keimung gelangte, während gleichzeitig geerntete Samen, die gegen Verdunstung etwas geschützt gewesen waren, und infolge dessen ihr frisches, turgeszentes Aussehen bewahrt hatten, nach mehreren Monaten noch keimten.

Ein Erlöschen der Keimfähigkeit von Samen durch Austrocknen kommt auch bei einheimischen Samen vor. DETMER (8, p. 531) erwähnt diese Tatsache von Weidensamen und er bringt sie in Beziehung zu den feuchten Standorten, an denen die meisten Weidenarten vorzukommen pflegen. In ähnlicher Weise lässt sich wohl auch bei den Samen von *Anthurium Kellermannii* deren geringe Widerstandskraft gegen das Austrocknen biologisch begründen, da die *Anthurium*-Arten in den Wäldern des tropischen Amerika zuhause sind (ENGLER, 9, p. 14).

1) Unter diesem Namen werden die Pflanzen, denen ich die Samen entnahm, in den Gewächshäusern des Leipziger botanischen Gartens geführt. *A. Kellermannii* ist eine Hybride (ENGLER, 9, p. 295).

Die Aufnahme der Reservestoffe des Albumens während der Keimung wird durch ein Saugorgan vermittelt, an dem im Laufe der Keimung kein Wachstum wahrgenommen wurde. Aus den Zellen um das Saugorgan herum beginnt die Stärke zuerst zu schwinden; die Zellen sterben jedoch noch lange nicht ab, trotzdem die Reservestärke fast völlig aus ihnen geschwunden ist. Auch nach der Abgabe des grössten Teils der Reservestoffe haben sie noch eine wichtige Aufgabe zu erfüllen. Sie enthalten nämlich nunmehr zahlreiche kleine wohl transitorisch gebildete Stärkekörner, und dieser Umstand beweist, dass sie sich aktiv an der Translokation der Stärke beteiligen, die noch in überaus reichlichen Mengen in den nach der Peripherie zu gelegenen Zellen vorhanden ist.

Die Keimlinge von *Anthurium Kellermanni* wachsen sehr langsam, und dementsprechend nehmen die Reservestoffe nur allmählig ab. Aus diesem Grunde wurden einige Keimlinge vier Wochen lang verdunkelt, damit der Stärkeverbrauch durch Verhinderung der Assimilationstätigkeit beschleunigt würde. Nach Ablauf dieser Zeit war bei einem dieser Keimlinge, dessen Wurzel 7 cm lang war und der ein Blatt von 2 cm Breite und 3 cm Länge hatte, noch reichlich Reservestärke im Saugorgan und den äusseren Endospermtteilen vorhanden; ganz oder fast stärkefrei waren die alleräussersten Lagen des Nährgewebes; sämtliche Zellen waren lebend.

Ein anderer der verdunkelten Keimlinge liess schon bei makroskopischer Betrachtung auf Schnitten durch den Samen erkennen, dass die Stärke des Albumens sehr weitgehend verbraucht sein musste; denn das Nährgewebe war fast durchsichtig geworden, während das Saugorgan noch weiss in der Mitte lag. Die mikroskopische Untersuchung ergab, dass die Zellen des Saugorgans noch reichlich grosse Stärkekörner neben transitorischen kleinen aufwiesen. Drei bis vier Zellschichten des Nährgewebes nächst dem Saugorgan waren tot; die übrigen Zellen lebten noch. Reservestärke war nur in einer schmalen Zone in geraumer Entfernung vom Saugorgan noch vorhanden, während die peripheren, chlorophyllführenden Zellen meist stärkefrei waren. Inwie weit die noch vorhandenen geringen Reste des Stärkevorrates noch verbraucht werden, kann ich nicht angeben, da die allerletzten Stadien der Keimung bis zum völligen Tode des gesamten Nährgewebes nicht verfolgt werden konnten. Immerhin lässt sich sagen, dass die Zellen des Nährgewebes um das Saugorgan herum erst abzusterben beginnen, nachdem das Reservematerial bis auf einen geringen Teil mobilisiert worden ist.

Da die Monokotylen, soweit sie mit Nährgewebe versehen sind, ein wachsendes oder nicht wachsendes Saugorgan besitzen (TSCHIRCH, 41), so lassen sich hier Beziehungen der geschilderten Art zwischen dem Verhalten des Saugorgans und der Lebensdauer der Nährgewebezellen vielleicht in zahlreichen Fällen feststellen. Leider gelangten die mir zur Verfügung stehenden Samen mehrerer Monokotylen nicht zur Keimung. Es waren das hauptsächlich die Samen einiger Liliaceen (*Colchicum*, *Anthericum*, *Asparagus*) und einiger Scitamineen (*Globba*, *Hedychium*, *Musa*, *Canna*), ferner die Samen der nährgewebefreien Aracee *Aglaonema*.

B. KOTYLEDONEN.

Wenn die Reservestoffe der Samen in den Kotyledonen gespeichert sind, so ist von vornherein zu erwarten, dass ihre Zellen lebendig sind, da ja die Kotyledonen Teile des Embryos selbst sind. Dabei ist es gleichgültig, was sie für Reservestoffe enthalten; die hauptsächlich Stärke und Proteinkörner enthaltenden Speicherzellen der Bohnen-Keimblätter sind ebenso am Leben wie die Speicherzellen v. *Lupinus* oder von *Tropaeolum*, die neben fettem Öl und Proteinstoffen noch reichlich Hemizellulosen enthalten.

Die Keimblätter der von mir untersuchten nährgewebefreien Arten stimmen darin überein, dass sie in erster Linie Reservestoffbehälter darstellen. Die Kotyledonen von *Lupinus albus* und *Phaseolus vulgaris*, auch die hypogäischen von *Phaseolus multiflorus*, ergrünen zwar am Licht; aber ihre Assimilationstätigkeit ist wohl von untergeordneter Bedeutung. Schon ihre dicke, fleischige Beschaffenheit weist darauf hin, dass ihre wichtigste Funktion die Speicherung von Reservematerial ist.

Phaseolus multiflorus.

Die Vorgänge bei der Keimung von *Phaseolus multiflorus* hat SACHS (36) eingehend beschrieben. Zuerst beginnt die Reservestärke in der Blattbasis und zwar zwischen den Gefässbündeln zu schwinden. Von hier schreitet der Verbrauch der Stärke nach der Spitze fort; indessen enthalten an der Basis die um die Gefässbündel liegenden Speicherzellen noch Stärke, wenn sie in der Mitte des Keimblattes zwischen den Gefässen bereits mobilisiert ist. Die Zellen sind jetzt wohl alle noch lebend.

In späteren Stadien beginnen die Keimblätter, zuerst in der unteren Hälfte, zu schrumpfen. Dann sind die zwischen den Gefässbündeln liegenden Speicherzellen zum Teil tot, die Stärke ist aus den meisten dieser toten Zellen geschwunden, u. sie enthalten nur unbedeutende Plasmareste. Näher bei den Gefässen sind die Zellen des Speichersystems zwar plasmaarm und entleert, aber noch lebend. In nächster Nähe der Gefässe sind sie nicht nur lebend, sondern enthalten auch noch Stärke. Die Proteinstoffe sind gleichfalls weitgehend verbraucht worden; MILLONs Reagens gibt nur in den Partien um die Leitstränge herum lebhaftes Färbung. Gegen Ende der Keimung ist Stärke nur noch in denjenigen Speicherzellen der Keimblattspitze vorhanden, die in der Nähe der Gefässbündel liegen, und hier bleibt sie zu einem geringen Teile ungenutzt. Nur ganz vereinzelt finden sich inmitten von stärkefreiem totem Speichergewebe abgestorbene Zellen, die noch voll Stärke sind. Normalerweise sind jedoch stärkeführende Zellen in den Bohnen-Kotyledonen lebend und die Protoplasten des Speicherparenchyms sterben erst ab, nachdem die Stärke vollständig oder doch bis auf ganz minimale Reste mobilisiert worden ist.

Aufgrund dieser Beobachtungen lässt sich vermuten, dass die Lösung der Stärke in den Kotyledonen der Bohne nur innerhalb des lebenden Protoplasten vor sich gehen kann, im Gegensatz zu den im 3. Teile behandelten Nährgeweben, bei denen die Stärke gerade auch aus toten Zellen heraus mobilisiert wurde. Die Ergebnisse des folgenden Versuchs stützen diese Annahme.

Nach eintägigem Quellen wurden Samen von *Phaseolus multiflorus* an der Basis der Keimblätter mit einem glühenden Platindraht 2 bis 3 mm tief angebohrt. Auf diese Weise wurden die Zellen in der Nähe des dadurch entstandenen Loches abgetötet. Dann wurden die Bohnen in die Erde ausgesät; sie keimten ebenso schnell zur Keimung wie unverletzte Samen und entwickelten sich ohne merkliche Schädigung. Bei der mikroskopischen Untersuchung nach einiger Zeit fand ich, dass die Stärke in den lebenden Speicherzellen der Keimblattbasis zu einem grossen Teil geschwunden war, ausser in denjenigen Zellschichten, die die Leitbündel umgaben. Die Stärkekörner der abgetöteten Partien dagegen zeigten keine oder nur unbedeutende Anzeichen von Korrosion. Diese geringen Lösungserscheinungen könnten auf die Wirkung der vorhandenen Pilzfäden zurückgeführt werden. Bei genauer Versuchsanordnung müsste durch steriles Arbeiten das Eindringen von Pilzen und Bakterien verhindert werden; auch die Methode, durch Hitze die Speicherzellen abzutöten, ist nicht korrekt, da ja dadurch die Stärke verändert wird. Immerhin lässt sich erkennen, dass in den Keimblättern von *Phaseolus multiflorus* die Stärke toter Zellen im wesentlichen nicht gelöst wird.

Noch ein weiterer Versuch wurde mit den Kotyledonen von *Phaseolus multiflorus* ausgeführt. Nach eintägigem Quellen wurde von einer Anzahl Bohnen der eine Kotyledon vorsichtig an der Basis abgeschnitten. Diese isolierten Kotyledonen wurden in verdeckten Glaschalen auf feuchtes Filtrierpapier gelegt und unter Lichtabschluss gehalten, während der übrige Teil des Samens in Erde ausgeät wurde. Noch nach Wochen enthielten die Speicherzellen der isolierten Kotyledonen reichlich Stärke; nur an der Blattbasis, wo sich Adventivwurzeln gebildet hatten, war sie zwischen den Gefässbündeln weitgehend aufgebraucht. Sämtliche Zellen des Speicherparenchyms waren noch lebend. Die ausgesäten Samentteile dagegen, an denen ausser einem Kotyledon Radicula und Plumula verblieben waren, hatten sich inzwischen zu etwas schwächlichen Pflanzen entwickelt, deren Kotyledon längst entleert und zugrunde gegangen war.

Phaseolus vulgaris.

Die Vorgänge bei der Keimung von *Phaseolus vulgaris*, die epigäisch verläuft, spielen sich, soweit sie hier in Betracht kommen, in allgemeinen in derselben Weise ab wie bei *Ph. multiflorus*.

Lupinus albus.

Bei *Lupinus albus* bleiben gleichfalls diejenigen Speicherzellen der Kotyledonen am längsten lebend, die in der Nähe der Gefässbündel liegen. In späten Stadien sind die Keimblätter an der Basis bereits vergilbt, während sie in der Blattspitze noch grüne, lebende Zellen enthalten.

Tropaeolum majus.

Ebenso wie bei *Phaseolus* die Lösung der Stärke, so beginnt bei *Tropaeolum* die Nutzbarmachung der aus Amyloid bestehenden Wandverdickungen in der Keimblatt-Basis; solange mit Jodjodkali Blaufärbung der Zellwände eintritt, solange sind die Protoplasten noch lebend; erst nachdem das Amyloid ihrer Membran mobilisiert ist, stirbt die Zelle ab. Die Zellen um die Gefässe herum bleiben auch hier länger lebend als die andern Speicherzellen.

Übrigens zeigt sich auch beim Austreiben von Zwiebeln (*Allium Cepa*), dass in den Zwiebelschuppen diejenigen Zellagen am längsten leben, welche die Gefässbündel umgeben, und ausserdem die Zellen der Epidermis. Die übrigen Zellen enthalten dann nur noch spärliche Plasmareste.

V. EINIGE PHYSIOLOGISCHE UND BIOLOGISCHE BEMERKUNGEN.

Wie wir gesehen haben, besitzt die Regel VAN TIEGHEMS über die Aktivität der Nährgewebe nicht in vollem Umfang Geltung. Sie trifft zu für die mehligigen, toten Nährgewebe der untersuchten Gräser und Commelinaceen, von *Fagopyrum*, *Agrostemma* und *Mirabilis*. Das stärkehaltige Nährgewebe von *Anthurium Kellermannii* dagegen besteht aus lebenden Zellen. VAN TIEGHEMS Regel gilt ferner in den Fällen, wo die Nährgewebe Proteinstoffe und Fett abgelagert haben. Derartige Endosperme sind aus lebenden Zellen zusammengesetzt, wohl meist eine schmale Zone um den Embryo herum ausgenommen, die bereits im ruhenden Samen leer oder doch Inhalts-arm und tot ist. Es erwachen bei der Keimung Proteinstoffe und Öl führende Zellen auch dann zu neuem Leben, wenn sie nur einen geringen Teil des Nährgewebes ausmachen, wie es etwa bei der Aleuronschicht der untersuchten Gräser und Commelinaceen und des Buchweizens, oder bei dem Endosperm des Buchweizens und der Kornrade der Fall ist.

Den Cellulose-Endospermen hatte VAN TIEGHEM eine Aktivität abgesprochen. Soweit ich fand, bestehen sie jedoch gleichfalls aus lebenden Zellen; sie enthalten Fett und Proteinstoffe in reichlichen Mengen, wie die fleischigen Endosperme u. sind von diesen nicht streng zu trennen.

Aus alledem geht hervor, dass die wichtigsten Reservestoffe - fettes Öl, Stärke, Hemizellulosen, Proteinstoffe - in lebenden Nährgewebezellen gespeichert sein können; die stärkehaltigen Nährgewebezellen können tot sein, brauchen es aber nicht zu sein.

Mit der Tatsache, dass die Stärkezellen der Gras-Endosperme tot sind, lassen sich im allgemeinen trotz dem scheinbaren Widerspruch auch die Ergebnisse der Autoren in Einklang bringen, die den Stärke-Endospermen eigene Aktivität zuerkannt haben. Dass die Zunahme des Diastase-Gehaltes im Mais-Endosperm, die LINF (22) als Beweis für die Lebenstätigkeit ansah, nicht an die Tätigkeit noch lebenden Protoplasmas gebunden zu sein braucht, zeigten BRUSCHI (6) und STOWART (39). Wenn in Versuchen HANSTEEENS (18) und PURKJEWITSCHS (32) unter geeigneten Bedingungen die Entleerung isolierter Gras-Endosperme auftrat, so lässt sich dieser Umstand im wesentlichen auf die sezernierende Tätigkeit der Aleuronschicht zurückführen, auf

die HABERLANDT (15, 16) sowie BROWN und ESCOMBE (4) hingewiesen und deren Beugung für die Entleerung der Endosperme später STOWARD erneut darlegte. Wenn dagegen, wie HANSTEEN angibt, die Entleerung geschälter, also von der Aleuronschicht befreiter Mais-Endosperme ebenso rasch vor sich ging wie die Entleerung ungeschälter, so stehen damit vor allem die Resultate von GRUETT (14) in Widerspruch, der keine künstliche Entleerung geschälter Gersten- und Mais-Endosperme feststellen konnte. Ferner beobachtete STOWARD (39) in isolierten geschälten Gersten-Endospermen, denen die Möglichkeit der Ableitung der Hydrolyseprodukte geboten war, nur geringe Selbstverdauung, ganz so, wie auch bei anästhetisierten, ungeschälten Endospermen. HABERLANDT (16, p. 476) hält es für wahrscheinlich, dass die energische Entleerung geschälter Mais-Endosperme in den Versuchen HANSTEENS ihre Ursache hat in der selbstregulatorisch gesteigerten Diastase-Produktion der Endospermzellen. Da indessen die Stärkezellen des Mais-Endosperms tot sind, wie im 3. Teil dieser Arbeit gezeigt worden ist, so kann diese Begründung nicht mehr genügen. Es bestehen ausserdem zwei Möglichkeiten, das Ergebnis HANSTEENS zu erklären: erstens dass während des zweitägigen Quellens der Maiskörner eine genügende Menge Diastase vom Scutellum in das Endosperm eingedrungen war, welche nachträglich eine energische Entleerung des isolierten Endosperms zu bewirken imstande wäre, oder zweitens, dass sich Bakterien eingestellt hatten, die sich trotz peinlichster Genauigkeit auf die Dauer wohl nicht immer ausschliessen lassen. HANSTEEN hat allerdings, wie er angibt, Kulturen erhalten, die Monate lang steril blieben. Ich kenne seine Arbeitsmethode nicht aus eigener Erfahrung und lasse es dahingestellt, auf welchen Ursachen die Entleerung geschälter Mais-Endosperme in seinen Experimenten beruht. Die allgemeine Bedeutung seiner Versuche, ebenso wie derjenigen PURKJEWITSCHS liegt vor allen darin, dass sie die Wichtigkeit dauernder Ableitung bei derartigen Stoffwchselfvorgängen erwiesen, und wurde auch durch die Unrichtigkeit dieses einzelnen Ergebnisses nicht beeinträchtigt werden.

Die verschiedenen Arten des Nährgewebes sind einander in morphologischer und zytologischer Beziehung nicht gleich. Bei den Gymnospermen ist das Endosperm aus dem haploiden Makroprothallium hervorgegangen, während es bei den Angiospermen seine Entstehung aus dem sekundären Embryosack-Kern nimmt. Das Perisperm schliesslich ist aus dem Nucellus hervorgegangen und somit diploid.

Gleichwohl stimmt das Proteinstoffe und Fett führende *Pinus*-Endosperm mit dem die gleichen Reservestoffe enthaltenden Angiospermen-Nährgewebe darin überein, dass in beiden Fällen das Nährgewebe bei der Keimung zu neuem Leben erwacht. Ferner ist das Stärkemehl-haltige Endosperm der untersuchten Gräser ebenso aus toten Zellen zusammengesetzt wie das stärkehaltige Perisperm von *Fagopyrum*, *Agrostemma* und *Mirabilis*. Daraus geht hervor, dass Nährgewebe, die dieselben Reservestoffe führen, hinsichtlich der Lebenstätigkeit ihrer Zellen auch dann das gleiche Verhalten zeigen können, wenn sie morphologisch und zytologisch ganz verschieden sind.

Wenn man sich die Frage vorlegt, was denn Leben und Lebenstätigkeit im Speichergewebe eigentlich bedeuten, so ergibt sich folgendes: Selbstverständlich hat es mit Lebenstätigkeit nicht das mindeste zutun, wenn trotz Gegenwart von Protoplasmagiften, etwa von Chloroform, aus totem Gewebe wirksame Fermente entstehen, durch die unter geeigneten Bedingungen die Verflüssigung vorhandener Reservestoffe erzielt werden kann. In diesem Sinne haben die Arbeiten von BRUSCHI (6) und von STOWARD (39) erwiesen, dass im Grasendosperm Amylasebildung und Stärkelösung auch ohne vitale Vorgänge möglich sind. Wenn andererseits der Protoplast einer Nährgewebezelle als lebend erkannt ist, so ist er sehr wahrscheinlich auch imstande, entsprechende Bedingungen vorausgesetzt, auf das abgelagerte Reservematerial einzuwirken, da ja das lebende Protoplasma auch bei der Speicherung beteiligt gewesen ist. Infolge dessen ist es wohl durchaus berechtigt, ein Nährgewebe aktiv zu nennen, wenn es als aus lebenden Zellen bestehend erkannt wurde, u. wenn in diesen lebenden Zellen die Reservestoffe während der Keimung Veränderungen unterworfen werden. Als aktiv ist ein solches Endosperm auch dann noch zu bezeichnen, wenn ein besonderer, vom Embryo ausgehender Reiz für die Einleitung der

Entleerung seiner Inhaltsstoffe nötig ist, wie BRUSCHI (5) bei *Ricinus* angibt.

Wenn man das Schicksal der hauptsächlichsten Reservestoffe während der Keimung verschiedener Samen verfolgt und dabei im Auge behält, ob sie aus lebenden oder aus toten Zellen heraus mobilisiert werden, so besteht wohl ein Unterschied zwischen Nährgewebe und Kotyledonen. Die Speicherzellen von Kotyledonen, etwa der Bohne, die noch Reservestoffe enthalten, pflegen im allgemeinen noch zu leben; aus künstlich abgetöteten Partien der *Phaseolus*-Kotyledonen wird Stärke anscheinend nicht entleert. Demnach ist wahrscheinlich eine Lösung von Reservestoffen aus toten Zellen von Kotyledonen heraus nicht möglich. Indessen lässt sich aufgrund der wenigen untersuchten Fälle und aufgrund eines einzigen unzureichenden Versuchs (oben, Seite 303) ein endgiltiges und allgemeines Urteil über die Lösung von Reservestoffen aus toten Kotyledonarzellen nicht abgeben.

Anders als bei Kotyledonen liegen die Verhältnisse, wenn die Reservestoffe in einem besondern Nährgewebe abgelagert sind. Dann kann ihre Lösung aus toten u. aus lebenden Zellen heraus erfolgen. Die Nährgewebezellen, die Stärke enthalten, können entweder vom Beginn der Keimung an tot sein (Gräser etc.) oder sie sind, wie bei *Anthurium Kellermannii*, zu Beginn der Keimung und selbst noch in späten Stadien lebend. Fett, Proteinstoffe und daneben vorhandene Hemizellulosen können aus derselben Nährgewebenselle vor und nach dem Tode des Protoplasten mobilisiert werden. Hemizellulosen können auch aus Nährgeweben heraus verbraucht werden, die von vorn herein tot sind, wie die Auflösung der Wandsubstanz in den Endospermen der Gräser beweist. Das gleiche gilt bei den Gräsern und Commelinaceen für die Mobilisierung der im Protoplasma der toten Stärkezellen enthaltenen Eiweissstoffe.

Bei der Keimung der Samen mit lebendem Nährgewebe hatte ich 2 Typen unterschieden. Bei dem einen Typus sterben um den Embryo herum die Zellen des Nährgewebes bald nach Beginn der Keimung ab, das Saugorgan oder die Keimblätter wachsen innerhalb des Nährgewebes. Der zweite Typus ist dadurch ausgezeichnet, dass das Nährgewebe um das Saugorgan herum lange leben bleibt und dass das Saugorgan nicht wächst. Meine Beobachtungen über die Lebensdauer der einzelnen Nährgewebezellen sind beim zweiten Typus nur wenig umfangreich und daher können sie bei den folgenden Betrachtungen nur nebenher berücksichtigt werden.

Was die Fett und Proteinstoffe führenden Nährgewebe anbetrifft, so wird bei der Keimung des Typus 1. der grösste Teil dieser Reservestoffe von den Speicherzellen abgegeben, solange diese leben. Die um das ableitende Organ herum allmählich absterbenden Zellen brauchen im Augenblicke ihres Todes durchaus nicht völlig entleert zu sein; jetzt noch vorhandene Reste an Öl und Eiweissstoffen können auch fernerhin noch aufgenommen werden. Aber nicht allein der als Reservematerial gespeicherte Vorrat an Proteinstoffen wird verwertet, sondern auch das Protoplasma der Endospermzellen kann soweit ausgeätzt werden, dass in der toten Schicht schliesslich nur ganz unbedeutende Überbleibsel vorhanden sind, die keine Eiweissreaktion mehr geben. Der Anteil an Öl und Proteinstoffen, der nach dem Tode des Protoplasten vom Embryo aufgenommen wird, ist gering im Vergleich mit dem Betrag, der von den Nährgewebezellen während ihrer Lebensdauer abgegeben wird. Das gleiche gilt auch für die Mobilisierung von Fett und Proteinstoffen aus denjenigen Nährgeweben, die neben diesen beiden Reservestoffen noch reichliche Mengen von Hemizellulosen enthalten.

In diesem Falle kann sich die Lebenstätigkeit der Nährgewebezellen auch auf die Hydrolysierung der Reservezellulose erstrecken. Von den untersuchten Hemizellulose-reichen Samen wurden allein bei *Phoenix* in den Wänden l e b e n d e r Endospermzellen keine Lösungserscheinungen gefunden. Bei den Samen mit Öl- und eiweisshaltigen Nährgeweben, deren Wände nur mässig verdickt sind, wurde die Lösung der Wandsubstanz nicht näher verfolgt; immerhin lässt das Beispiel von *Linum* erkennen, dass auch hier eine Veränderung der Wandsubstanz bereits zu Lebzeiten der Nährgewebezellen in die Wege geleitet werden kann.

Von den hemizellulosereichen Samen ist es die zum 2. Typus gehörige *Iris spuria*, wo die Lösungserscheinungen in den Wänden l e b e n d e r Zellen am sinnfälligsten sind. Aber auch die hemizellulosereichen Endosperme des ersten Typus, ausser *Phoenix*, pflegen in den Wänden lebender Zellen hyalinisierte Partien auf-

zuweisen. Solche Lösungserscheinungen lassen sich auch in den peripheren lebenden Partien der Endosperme auffinden, nicht allein in der Nähe der Kotyledonen. Diese Tatsache legt die Vermutung nahe, dass die einzelnen Nährgewebezellen aktiv die Verflüssigung der Wandsubstanz bewerkstelligen können, ohne dass dabei vom Endosperm sezernierte Hemizellulasen beteiligt zu sein brauchen. Wenn dabei die Hydrolyse der Wandsubstanz in den nahe bei den Kotyledonen gelegenen Endosperm-partien weiter vorgeschritten ist als an der Peripherie, so geht daraus zunächst nur hervor, welche Bedeutung die Ableitung der Lösungsprodukte besitzt, auf die ja auch PFEFFER (29) und HANSTEEN (18) hingewiesen hatten. Denn erstens kann die Anhäufung der Hydrolyseprodukte die Tätigkeit des lebenden Protoplasmas beeinflussen und zweitens kann durch sie die Wirkung bereits gebildeter Fermente behindert werden. Nach OPPENHIMER (26, I, p. 77) ist es in zahlreichen Fällen erwiesen, dass die Reaktionsprodukte die Fermenttätigkeit hemmen, und GREEN (12, p. 440) betont gleichfalls die Notwendigkeit ihrer Entfernung für den ungestörten Fortgang derartiger Prozesse. In der Nähe des wachsenden Embryos nun werden bei der Keimung die Hydrolyseprodukte der Reservezellulose rasch aufgenommen; sie können sich darum hier niemals anhäufen. Mit zunehmender Entfernung vom ableitenden Organ jedoch muss sich dessen saugende Wirkung immer weniger stark bemerkbar machen; es tritt eine Hemmung des Lösungsprozesses durch die angesammelten Reaktionsprodukte ein, die nach der Peripherie zunimmt. Die Folge davon ist, dass hier die Wandverdickungen weniger stark angegriffen sind, als in den lebenden Zellen, die näher am Saugorgan liegen.

Damit soll indessen die Sekretion von Hemizellulasen durch den Embryo nicht im mindesten bestritten werden; das bisher gesagte soll nur darlegen, dass man durchaus berechtigt ist, den lebenden Endospermzellen Anteil an der Lösung ihrer Membranverdickungen und sonstiger Reservestoffe zuzusprechen. Sicher haben vom Embryo abgeschiedene Fermente bei den Zellulose-Endospermen des Typus 1. hervorragenden Anteil an der Verflüssigung der Wandsubstanz der toten Zellen; daneben ist eine postmortale Wirkung vom lebenden Protoplasma der Endospermzellen selbst erzeugter Fermente möglich.

Wenn beim Typus 1. die Protoplasten in den Endospermzellen absterben, dann ist stets der grösste Teil der Reservezellulose noch vorhanden; die noch lebenden Nährgewebezellen dagegen weisen nur geringe hyalinisierte Partien in den Membranen auf. Der grösste Teil der Reservezellulose wird also erst nach dem Tode der Zellen verflüssigt. Das gilt wohl auch für die fleischigen Endosperme, wenn die in ihnen enthaltenen, geringeren Mengen an Hemizellulosen verwertet werden. Eine merkliche Verminderung der Wandstärke findet hier erst nach dem Absterben der Endospermzellen statt. Somit verhalten sich die Hemizellulosen bei der Keimung des Typus 1. anders als Fett und Proteinstoffe, die zum grössten Teile gerade aus lebenden Zellen heraus mobilisiert werden.

Unter den Öl und Proteinstoffe führenden Gewebepartien kommt eine besondere Bedeutung der Aleuronschicht der untersuchten Gräser, Commelinaceen und des Buchweizens zu. Bei diesen Samen ist der stärkehaltige Teil des Nährgewebes tot, die Aleuronschicht aber besteht aus lebenden Zellen, die lange Zeit reich an Inhalt bleiben. Sie ist in erster Linie ein fermenterzeugendes Drüsengewebe, worauf bei den Gräsern HABERLANDT (16) hingewiesen hatte. Bestätigt wurde HABERLANDTs Ansicht durch BROWN und ESCOMBE (4) sowie durch STOWARD (39). Fraglos übt die Aleuronschicht auch bei Commelinaceen und bei *Fagopyrum* die gleiche Funktion aus, wie bei den Gräsern, da auch hier die Stärkezellen unter ihr Fermentwirkung aufweisen.

Die Funktion der Fermentsekretion, welche die Aleuronschicht ausübt, ist bestimmend für ihre Lebensdauer. Bei den von mir untersuchten Gräsern starb sie meist erst ab, wenn die Stärke vollständig oder doch zum grössten Teil gelöst war; ebenso verhielt sich *Commelina*.

Diese Regel ist jedoch nicht ohne Ausnahme. Bei den Keimlingen einer der verwendeten grossfrüchtigen Maissorten war in vorgerückten Entwicklungsphasen ein grosser Teil des Nährgewebes, oft ein Viertel, noch vorhanden; gleichwohl waren Aleuronschicht und Saugorgan tot, und eine weitere Verwertung des Endosperms war ausgeschlossen. Allerdings waren die jungen Maisspflanzen unter günstigen Licht-

und Wärmeverhältnissen - sie waren in der ersten Augsthälfte aufgewachsen - längst imstande zu assimilieren; es wäre denkbar, dass unter ungünstigen Assimilationsbedingungen eine bessere Ausnützung der Vorratsstoffe auch bei dieser Maisorte stattfindet, und dass im Zusammenhang damit Aleuronschicht und Saugorgan länger leben bleiben. Versuche in dieser Richtung wurden jedoch nicht unternommen.

Wenn man bei keimenden Samen die Lebensdauer der hauptsächlichsten Reservestoff-Behälter als ganze Organe, nämlich der Nährgewebe und Kotyledonen, ins Auge fasst, so können sich auch hier wieder zwischen beiden gewisse Unterschiede ergeben. Das Nährgewebe, also Endosperm oder Perisperm, dient nur als Reservestoffbehälter, wenn man von der Aleuronschicht absieht, deren wichtigste Funktion die Fermentsekretion ist. Daraus ergibt sich die Lebensdauer des Nährgewebes beim Keimungsprozess, sofern es überhaupt nicht schon im ruhenden Samen tot war: mit seiner Entleerung ist es ein überflüssiges Organ geworden.

Anders liegen die Verhältnisse bei den Kotyledonen. Diese sind ein Teil des Embryos und ihre Zellen sind zu Beginn der Keimung stets lebend. Die Funktionen, die sie im Dienste der jungen Pflanze ausüben, können ganz verschieden sein (DETMER, 8, p. 562); drei davon beanspruchen Interesse für unsere Betrachtungen. Erstens dienen sie als Speicherorgan. Für diese Aufgabe kommen sie + auch dann in Frage, wenn die überwiegende Menge der Reservestoffe im Nährgewebe abgelagert ist. Zweitens können sie an der Assimilation teilnehmen. Von den Kotyledonen hypogäisch keimender Samen kann diese Funktion begreiflicher Weise nicht ausgeübt werden, von Ausnahmen wie *Phaseolus multiflorus* abgesehen, wo sie imstande sind, am Licht zu ergrünen. Aber auch in diesem Falle kann die Menge der Assimilate gering sein. Drittens können die Keimblätter die Aussaugung des etwa vorhandenen Nährgewebes besorgen und erst nach Ausübung dieser Funktion können sie mit ihrer ganzen Fläche am Licht assimilieren. Bei den mit Endosperm oder Perisperm versehenen Monokotylen ist meist ein Teil des Embryos zu einem besonderen Saugorgan ausgebildet, das im Samen verbleibt und nicht ergrünt, dessen wichtigste Funktion also ausser der Speicherung von Reservematerial die Ausnützung des Nährgewebes ist. Bei manchen andern Monokotylen, z.B. bei *Allium*, wird der saugende Teil Kotyledons am Ende der Keimung aus der Testa herausgezogen.

Durch diese Funktionen wird die Lebensdauer der Keimblätter bestimmt. Sind die Kotyledonen nur Speicherorgan, so haben sie mit ihrer Erschöpfung ihre Aufgabe für die Pflanze erledigt und gehen zugrunde. In diesem Falle gleichen sie dem Nährgewebe, und nur in diesem Falle lassen sich Kotyledonen mit lebenden Nährgeweben vergleichen. Als Beispiel seien genannt *Tropaeolum majus* und *Phaseolus multiflorus*, ferner *Ph. vulgaris*, wo die Assimilationstätigkeit nur unbedeutend ist und als unwesentliche Funktion ausser acht gelassen werden kann. Wenn dagegen die Keimblätter sich energisch an der Assimilation beteiligen, so können sie nach der Entleerung noch kürzere oder längere Zeit an der Keimpflanze lebend verbleiben. Ist schliesslich die hauptsächlichste Funktion eines Embryoteils die Aussaugung des Nährgewebes, wie bei den nicht ergrünenden Saugorganen der Monokotylen, so erfolgt sein Absterben, nachdem das Nährgewebe erschöpft ist oder doch wenigstens sobald die junge Pflanze sich selbständig ernähren kann.

Sowohl in lebenden Nährgeweben, als auch in denjenigen Kotyledonen, deren einzige oder doch hauptsächlichste Funktion die Speicherung der Reservestoffe ist, ist die Art und Weise, in der das Absterben der einzelnen Zellen vor sich geht, in folgendem Punkte die gleiche: Ebenso wie in Nährgeweben, so sind auch in solchen Kotyledonen, etwa bei *Phaseolus multiflorus*, stets diejenigen noch lebenden Zellen am weitesten entleert, die an der Grenze des toten Gewebes liegen und offenbar demnächst absterben werden. Entweder sind hier die Vorratsstoffe vollkommen oder wenigstens bis auf höchst unbedeutende Reste geschunden, wie bei der Bohne, oder sie sind immerhin zu einem beträchtlichen Teile ausgewandert, der in späteren Keimungsstadien grösser ist als in früheren, wie im Nährgewebe der Samen des Typus 1. Demnach bestehen Beziehungen zwischen dem Verbrauch der Reservestoffe und der Lebensdauer der einzelnen Speicherzellen. Das geht auch aus den Versuchen mit isolierten Speicherorganen hervor, in denen sowohl die Endosperme von *Ricinus*, als auch die Kotyledonen von *Phaseolus multiflorus* sich länger lebend

erhielten als bei der normalen Keimung, bei der ja dauernde Ableitung der Reservestoffe durch die junge Pflanze stattfindet.

Ein länger währendes Vorhandensein der Reservestoffe schiebt also den Tod der Speicherzellen hinaus, die Abgabe des Reservematerials beschleunigt das Absterben. Die Verhältnisse liegen indessen nicht so einfach, dass eine Endospermzelle, etwa von *Ricinus*, abstirbt, nachdem ein bestimmter Betrag der Reservestoffe mobilisiert ist. Vielmehr enthalten die eben abgestorbenen Nährgewebszellen in frühen Keimungsstadien noch einen grösseren Betrag an Fett und Proteinstoffen als in späteren. Wenn auch Beziehungen zwischen der Mobilisierung des Reservematerials und der Lebensdauer der Nährgewebezellen bestehen, so ist es trotzdem unangebracht, das Auswandern der Vorratsstoffe als die direkte Ursache des Todes hinzustellen. Vielmehr ist der ganze Komplex aller der Erscheinungen, die das Leben zusammensetzen, viel zu verwickelt und zu wenig bekannt, als dass man in solchen Fällen eine bestimmte Todesursache feststellen könnte.

Man ist vielleicht geneigt, bei den Samen, deren Keimung nach dem Typus 1. verläuft, den Druck des wachsenden Saugorgans oder der wachsenden Kotyledonen für den Tod der Endospermzellen mit verantwortlich zu machen, der beispielsweise bei *Ricinus* oder bei *Phoenix* die Zellwände oder ihre Reste stark zusammenpresst. Eine Bestätigung dieser Vermutung könnte man darin erblicken, dass in den Versuchen mit halbierten *Ricinus*-Endospermen ein Einfluss der den Endospermhälften aufliegenden Keimblätter auf die Lebensdauer der Nährgewebezellen nicht erkennbar war. Indessen ist bei diesen Versuchen auch die Ableitung durch den wachsenden Embryo ausgeschaltet (in den erwähnten Versuchen waren ja Radicula und Plumula entfernt), und es lässt sich somit nicht entscheiden, ob die längere Lebensdauer der den Kotyledonen benachbarten Endospermzellen durch die unterbliebene Ableitung verursacht wird oder durch das Ausbleiben des Druckes, den bei der normalen Keimung die Kotyledonen auf das Nährgewebe ausüben. In andern Fällen ist der auf die Endospermzellen ausgeübte Druck der Keimblätter geringer als bei *Ricinus* und *Phoenix*, z.B. bei *Cyclamen*, und trotzdem liegt auch hier um den Kotyledon herum nach Beginn der Keimung eine tote Zone. Ferner beginnt in den letzten Stadien auch bei *Anthurium Kellermannii*, dessen Keimung nach dem Typus 2. verläuft, das Absterben der Zellen um das Saugorgan herum, trotzdem an ihm kein Wachstum wahrgenommen wurde. Es lässt sich somit eher behaupten, dass beim Typus 1. der primäre Vorgang das Absterben der um das ableitende Organ herum gelegenen Zellen ist, und dass das Wachstum des Saugorgans oder der Kotyledonen dadurch erst ermöglicht oder sogar biologisch notwendig gemacht wird, namentlich dann, wenn es sich um grössere Samen handelt.

Es lässt sich wohl eher eine Antwort erwarten, wenn man nach der biologischen Bedeutung des Lebens in Speicherzellen fragt, als wenn man nach den Ursachen ihres Todes forscht. In gewisser Beziehung ist das Leben der Nährgewebezellen eine kostspielige Einrichtung; denn die lebenden Protoplasten brauchen für den eigenen Stoffwechsel Nahrung, und dieser Umstand macht eine reichere Ausstattung mit Reservematerial notwendig, als wenn die Zellen tot wären. Infolgedessen kann unter biologischen Gesichtspunkten angenommen werden, dass das Leben in den Reservestoffbehältern eine notwendige Bedingung zur Ausübung gewisser Funktionen ist, und dass es erlischt, wenn die Tätigkeit lebenden Protoplasmas nicht mehr erforderlich ist. Hinsichtlich der Aleuronschicht, die in erster Linie Drüsengewebe ist, ist es ja selbstverständlich, dass eine nach den jeweiligen Bedürfnissen regulierte Fermentsekretion in grossem Umfange nur durch die Tätigkeit lebenden Protoplasmas möglich ist. Was das Leben in Öl- und Eiweiss-haltigen Nährgeweben anbetrifft, die Reservestoffbehälter sind, so lässt sich annehmen, dass die Mobilisierung von Öl und Proteinstoffen nur auf diese Weise zweckmässig in die Wege geleitet werden kann. Tatsächlich wird ja auch der grösste Teil dieser beiden Reservestoffe aus lebenden Zellen heraus mobilisiert; derjenige Anteil, der beim Typus 1. aus der toten Zone heraus aufgenommen wird, ist nur gering und auch hierbei kann noch eine postmortale Wirkung von Fermenten angenommen werden, die bereits der lebende Protoplast erzeugt hatte.

Diese Art und Weise, die Bedeutung des Lebens in den Speicherorganen zu erklären, muss versagen, wenn man sich die Frage vorlegt weswegen das stärkehaltige

Nährgewebe von *Anthurium Kellermannii* lebt. Dass die Mobilisierung von Stärke aus toten Zellen heraus möglich ist, beweist ja die Keimung der im dritten Teil genannten Samen. An diesem Beispiel lässt sich erkennen, dass zur Erreichung ein und desselben Zieles ganz verschiedene Mittel angewendet werden können, indem das eine mal die Stärke durch die Tätigkeit der lebenden Speicherzellen des Nährgewebes selbst gelöst wird, in andern Fällen aus totem Gewebe heraus durch die Fermentsekretion lebender Zellen.

Nicht ohne Wichtigkeit mag das Leben der Nährgewebezellen bei der Abwehr von Mikroorganismen sein. Solange die Endospermzellen von *Ricinus* in ihrer Mehrzahl leben, verwehrt die vitale Tätigkeit der Protoplasten Bakterien den Aufenthalt. Wenn dagegen der grösste Teil der Zellen tot ist, dann finden Bakterien in den noch vorhandenen organischen Stoffen einen günstigen Nährboden und treten dann mitunter in solchen Mengen auf, dass die wenigen noch lebenden und fast völlig entleerten Endospermzellen sicher geschädigt werden. Auch im Schleimendosperm von *Ceratonia* können Bakterien in grösseren Mengen auftreten, aber stets in vorgerückten Keimungsstadien.

Die biologische Bedeutung des Lebens in Nährgewebezellen als Schutz gegen Mikroorganismen ist namentlich dann von Einfluss, wenn der Keimungsprozess sich über lange Zeit erstreckt, wie es stets bei *Phoenix* und *Paeonia* oder bei *Anthurium* der Fall ist. In dieser langen Zeit wäre ein totes Nährgewebe den Angriffen von Pilzen und Bakterien viel stärker ausgesetzt, als ein lebendes.

Die von Anfang an toten Stärkeendosperme der Gräser und Commelinaceen und des Buchweizens sind, ausser durch die Testa, durch die periphere lebende Aleuronschicht wenigstens bis zu einem gewissen Grade gegen das Eindringen fremder Organismen geschützt, ein Punkt, auf den bereits BROWN und ESCOMBE (4) bei der Gerste aufmerksam gemacht haben. Dabei ist die lange Lebensdauer der Aleuronschicht, die bereits erwähnt wurde, der Pflanze auch in dieser Beziehung von Nutzen. Bei *Mirabilis* und *Agrostemma* wird das Stärkeperisperm fast völlig von den Kotyledonen umfasst, sodass auch hier, wo die Aleuronschicht fehlt, das tote Nährgewebe nach aussen hin durch lebende Zellen gegen den Verbrauch durch fremde Organismen geschützt ist.

VI. ZUSAMMENFASSUNG.

1. Die im reifen Samen ausgetrockneten stärkehaltigen Nährgewebezellen bei den untersuchten Gräsern und Commelinaceen, sowie bei *Fagopyrum*, *Mirabilis* und *Agrostemma* sind tot. Das stärkereiche Nährgewebe im Samen der Aracee *Anthurium Kellermannii* dagegen ist in frischreifem Zustand stark wasserhaltig und lebt; durch Austrocknen gehen die Zellen des Nährgewebes und Embryos zugrunde.

2. Die Zellen derjenigen Nährgewebe, die Proteinstoffe und fettes Öl als Reservematerial führen, erwachen bei der Keimung zu neuem Leben; das gilt auch dann für fett- und proteinhaltige Nährgewebe, wenn sie reich an Hemizellulosen sind.

3. Ausser den Gräsern und *Fagopyrum* besitzen auch die untersuchten Commelinaceen eine aus lebenden Zellen bestehende Aleuronschicht.

4. Aus den absterbenden Zellen ursprünglich lebender Reservestoffbehälter (Nährgewebe, Kotyledonen) ist das Reservematerial mehr oder weniger weitgehend geschwunden.

5. In Samen mit lebendem Nährgewebe bestehen Beziehungen zwischen dem Verhalten des Embryos und der Lebensdauer der Nährgewebezellen während der Keimung. Dabei lassen sich zwei Typen aufstellen: Bei dem einen Typus sterben schon in frühen Keimungsstadien die Nährgewebezellen um den ableitenden Embryoteil (Saugorgan oder Kotyledonen) herum ab, und gleichzeitig wächst der ableitende Embryoteil bedeutend innerhalb des Nährgewebes. Beim zweiten Typus bleiben die Nährgewebezellen lange lebend, und das Saugorgan wächst nicht.

6. Beim Typus 1. werden Fett und Proteinstoffe zum grössten Teil aus lebenden Nährgewebezellen heraus mobilisiert; zu einem geringen Betrag können sie auch aus toten Zellen heraus aufgenommen werden. Hemizellulosen werden bei diesem Typus zum grössten Teil aus den Wänden toter Zellen gelöst; indessen lassen, ausser bei

Phoenix dactylifera, auch die Wände lebender Nährgewebezellen Lösungserscheinungen in der Wandsubstanz erkennen.

Die vorliegende Arbeit wurde ausgeführt im Botanischen Institut der Universität Leipzig. Sie verdankt ihre Entstehung der Anregung von Herrn Geh. Rat Prof. Dr. PFEFFER, unter dessen Leitung diese Untersuchungen zum grössten Teil ausgeführt wurden. Es ist mir schmerzlich, meinem hochverehrten Lehrer nicht mehr meinen Dank aussprechen zu können für die Förderung, die meine Arbeiten durch ihn erfuhren. Herrn Prof. Dr. BUDER spreche ich für das Interesse, das er mir stets entgegengebracht hat und für die zahlreichen mir erteilten Ratschläge meinen ergebensten Dank aus, ebenso Herrn Privatdozenten Dr. STARK, Herrn Kustos Dr. GIESSLER, den Herren Assistenten Dr. F. MUELLER und Dr. G. MUELLER.

LITERATURVERZEICHNIS.

- (1) BEHRENS, Tabellen zum Gebrauch b. mikrosk. Arb., Leipzig 1908. - (2) BRENCHLEY, The development of the grain of barley. in *Annals of Botany* XXVI.2., 1912. - (3) BROWN and MORRIS, Researches on the germination of some Gramineae, in *Journ. Chem. Soc.* LVII, 1890. - (4) BROWN and ESCOMBE, On the depletion of the endosperm of *Hordeum vulgare* during germination, in *Proc. Roy. Soc.* LXIII, 1898. - (5) BRUSCHI, Ricerchi fisiologici nella germinazione dei semi di ricino, in *Annali di Bot.* VI, 1907. - (6) BRUSCHI, Researches on the vitality and self-digestion of the endosperm of some Gramineae, in *Annals of Bot.* XXII, 1908. - (7) CZAPEK, *Biochemie d. Pflanzen*, 2. ed. I, 1913. - (8) DETMER, *Vergl. Physiologie des Keimungsprozesses der Samen*, 1880. - (9) ENGLER, *Das Pflanzenreich*, 21. Heft, *Araceae-Pothoideae*, 1905. - (10) FISCHER, Weitere Versuche über die Quellung des Fibrins, in *Arch. f. d. ges. Physiol.* CXXV, 1908. - (11) GREEN, On the germination of the seed of the Castor-oil plant, in *Proc. Roy. Soc.* IIL, 1890. - (12) GREENWINDISCH, *Die Enzyme*, 1901. - (13) GRUESS, Beiträge z. Physiologie d. Keimung, in *Landw. Jahrb.* XXV, 1896. - GRUESS, Kapillaranalyse der Enzyme, 1912. - (15) GUILLERMOND, Recherches cytologiques sur la germination des grains de quelques Graminées etc. in *Arch. d'anatomie microscopique* X, 1908/09. - (16) HABERLANDT, Die Kleberschicht des Grasendosperms als Diastase ausscheidendes Drüsengewebe, in *Ber. D. bot. Ges.* XVIII, 1890. - (17) HABERLANDT, *Physiol. Pflanzenanat.* 3. ed. 1904. - (18) HANSTEEN, Über die Ursachen der Entleerung der Reservestoffe aus Samen, in *Flora* LXXIX, Erg.-Bd. 1894. - (19) HARZ, *Landw. Samenkunde*, 1885. - (20) KOEPPEN, Über d. Verhalten d. Zellkerns im ruhenden Samen. Diss. 1887. - (21) LECLERC DU SABLON, Sur la digestion de l'albumen du dattier, in *Rev. de Bot.* IX, 1897. - (22) LINZ, Beitr. z. Physiol. d. Keimung von *Zea Mays*, in *Pringsh. Jahrb.* XXIX, 1896. - (23) MICHNIEWICZ, Die Lösungsweise der Reservestoffe in den Zellwänden der Samen bei ihrer Keimung, in *Sitzungsber. Akad. Wien* CXII, 1903. - (24) MOLISCH, *Mikrochemie d. Pflanze*, 1913. - (25) NADELMANN, Über d. Schleimendosperme der Leguminosen, in *Pringsh. Jahrb.* XXI, 1890. - (26) OPPENHEIMER, *Die Fermente und ihre Wirkungen*, 4. ed. 1913. - (27) PFEFFER, *Pflanzenphysiologie*, 1. ed. 1881. - (28) PFEFFER, Über Aufnahme v. Anilinfarben in lebende Zellen, in *Unters. Botan. Inst. Tübingen* II, 1886. - (29) PFEFFER, Ursachen d. Entleerung der Reservestoffe aus Samen, in *Ber. Sächs. Ges. d. Wissensch. Math.-Phys. Kl.* XLV, 1893. - (30) PFEFFER, *Pflanzenphysiol.* 2. ed. I., 1897. - (31) POND, The capacity of the endosperm for self-digestion, in *Annals of Bot.* XX, 1906. - (32) PURKJEWITSCH, *Physiol. Unter.* über d. Entleerung der Reservestoffbehälter, in *Pringsh. Jahrb.* XXXI, 1898. - (33) RACIBORSKI, Zur Morphologie d. Zellkerns d. keimenden Samen, in *Anz. Akad. Krakau* 1893/94. - (34) RIPPEL, Der biologische Abbau d. pflanzl. Zellmembranen. *Angew. Bot.* I, 1919. - (35) RUZICKA, Über tinktorielle Differenzen zwischen lebendem und abgestorbenem Protoplasma, in *Arch. f. d. ges. Physiologie* CVII, 1905. - (36) SACHS, *Physiol. Unters.* über d. Keimung d. Schinkbohne, in *Ges. Abh.* I, 1892. - (37) SCHULZE u. CODET, *Unters.* über die in den Pflanzensamen enthaltenen Kohlenhydrate, in *Zeitschr. f. physiol. Chem.* LKI, 1909. - (38) STOWARD, On the endospermic respiration in certain seeds, in *Annals of Bot.* XXII, 1908. - (39) STOWARD, A research

into the amyloclastic secretory capacities etc. in *Annales of Bot.* XXV. 2., 1911. - (40) STRASBURGER-KOERNICKE, *Das Botanische Praktikum*, 1913. - (41) TSCHIRCH, *Physiologische Studien über die Samen, insbesondere die Saugorgane derselben*, in *Annales du jard. de Buitenzorg IX*, 1891. - (42) TUNMANN, *Pflanzenmikrochemie*, 1913. - (43) VAN TIEGHEM, *Recherches physiologiques sur la germination*, in *Ann. Sc. Nat.* 5. ser. XVII, 1873. - (44) VAN TIEGHEM, *Sur la digestion de l'albumen*, in *Ann. Sc. Nat.* 6. ser. IV, 1876. - (45) ZACHARIAS, *Über das Verhalten des Zellkerns wachsender Zellen*, in *Flora LXXI, Erg.-Bd.*, 1895. - (46) ZIMMERMANN, *Die Morphologie und Physiologie des pflanzlichen Zellkerns*. 1896.

Umfang und Inhalt der Familie der Loganiaceen.

Von WOLFGANG KLETT (Königsberg Pr.).

EINLEITUNG.

Zu denjenigen Familien des höheren Pflanzenreichs, deren systematische Stellung - sowohl was die innere Umgrenzung als auch die Beziehungen zu anderen Familien anbelangt - noch durchaus unklar, ja oft geradezu verworren erscheint, gehört mit an erster Stelle die der Loganiaceen. Diese Familie verdiente lange Zeit wie kaum eine andere den Namen einer Sammelfamilie, da zu ihr nur zu oft Gattungen gestellt wurden, deren nähere Verwandtschaft innerhalb des grösseren Formenkreises zweifelhaft war, und die dann - nicht selten ohne jeden genetischen Zusammenhang - zu den Loganiaceen versetzt wurden. So ist denn auch die Literatur, die hier in Betracht kommt, ein getreues Spiegelbild der vielfachen Umwandlungen geworden, welche die Familie im Laufe der Zeit erfahren hat. Die Heterogenie der Loganiaceen ist von ihren Bearbeitern seit den Tagen eines DE CANDOLLE (1) und BENTHAM (2), dann von BUREAU (3), BENTHAM-HOOKER (4), BAILLON (5), SOLEREDER (6) und neuestens GILG (7) immer wieder betont worden. Hand in Hand mit dieser Feststellung ging dann meist die Anregung oder gar der Versuch, dieser Heterogenie durch Teilung der Familie oder durch Überweisung verschiedener Gattungen in andere Familien abzuwehren. Auch ich habe mich früher (8) für eine Umgestaltung der Loganiaceen ausgesprochen, da ich diese damals für keineswegs aussichtslos hielt, eine Ansicht, die ich allerdings heute bei Beendigung meiner Studien nicht mehr vertreten kann.

Die Zahl der Arbeiten, die sich in neuerer Zeit mit der Systematik der Loganiaceen beschäftigt haben, ist auffallend gering, ganz im Gegensatz zu anderen Familien nahestehender Formenkreise, über die man heute meist sehr gut unterrichtet ist. Worin der Grund hierzu zu suchen ist, etwa darin, dass eine Bearbeitung der heterogenen Familien scheinbar zu wenig Aussicht auf Erfolg bietet, steht dahin. Seit der letzten grösseren Arbeit SOLEREDERs über die Loganiaceen hat sich nun eine Menge neuen Materials angehäuft, das unsere Kenntnis der Familie zu vertiefen sehr geeignet ist, obwohl es im wesentlichen nur aus der Beschreibung neuer Arten besteht.

Es war daher eine reizvolle Aufgabe, die Familie monographisch (im engeren Sinne) zu bearbeiten, der Verwirrung, die in vielen Gattungen herrschte, abzuwehren, und diesen selbst eine neue Form und Einteilung zu geben. Dabei ergab sich aber die Notwendigkeit, zuvor die vile umstrittene Frage der Umgranzung der Loganiaceen von neuem anzuschneiden, umso mehr, als, wie schon angedeutet, bis in die neueste Zeit versucht worden ist, die Familie gänzlich aufzuteilen oder zum mindesten kleinere oder grössere Gattungsgruppen abzutrennen.

Ich stellte mir dabei besonders folgende Frage: Sind die Loganiaceen als Familie überhaupt haltbar? und wenn ja: sind sie in ihrer heutigen Umgrenzung, also etwa derjenigen, wie sie von BENTHAM-HOOKER oder von SOLEREDER festgelegt wurde, möglich, oder sind Gattungen vorhanden, die nach allen ihren Charakteren besser

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): Weissflog Johannes

Artikel/Article: [Leben und Lebensdauer in den Reservestoffbehältern keimender Samen 283-312](#)