

# **Der Lipoidgehalt des Plasmas bei *Monotropa hypopitys* und *Orobanche (speciosa)*.**

Von W. Biedermann.

Mit 2 Tafeln.

(Aus dem physiologischen Institut zu Jena.)

Daß die Chlorophyllfarbstoffe bei ihrem natürlichen Vorkommen in den Chromatophoren von Lipoiden und speziell Phosphatiden (Lezithin) begleitet werden, darf eigentlich schon durch die Untersuchungen Hoppe-Seyler's (1879) als bewiesen gelten und spätere Beobachter haben diese Tatsache nur immer wieder bestätigt. Hoppe-Seyler gewann durch Extraktion von frischem Gras mit siedendem Alkohol ein kristallinisches Präparat, das er „Chlorophyllan“ nannte, dessen Lösung olivgrün war und welches, wie sich später herausstellte, ein durch die Säuren des Ausgangsmaterials (Oxalsäure) gebildetes Umwandlungsprodukt des grünen Chlorophyllfarbstoffes darstellt. Hoppe-Seyler hielt es für ein Lezithin, in welchem in Übereinstimmung mit anderen Lezithinen sich Glyzerin und Cholin in Verbindung mit Phosphorsäure befinden, das Glyzerin sich aber außerdem entweder allein oder zugleich mit fetten Säuren in Verbindung befindet mit „Chlorophyllansäure“; gestützt auf die spektroskopische Reaktion des Chlorophyllans betrachtete Hoppe-Seyler dasselbe als eine dem Chlorophyllfarbstoff der lebenden Pflanzen noch sehr nahestehenden Körper, immerhin aber als ein Umwandlungsprodukt desselben. Wenn auch durch die bahnbrechenden Arbeiten Willstätter's<sup>1)</sup> die ursprüngliche, allerdings nur vorsichtig geäußerte Ansicht Hoppe-Seyler's, daß das Chlorophyll zu den Lezithinen zähle, als widerlegt gelten muß, indem sich herausstellte, daß der reine Farbstoff von allen Aschenelementen nur Magnesium aber keinen Phosphor enthält, so kann doch nicht bezweifelt werden, daß derselbe im Stroma der Chloroplasten mit

1) Unters. über Chlorophyll. Berlin 1913.

Lezithin gemengt und zu diesem offenbar in naher Beziehung stehend vorkommt.

Zugunsten einer solchen Auffassung scheint mir mit großer Entschiedenheit die Tatsache zu sprechen, daß sich, wie kurze Zeit nach Hoppe-Seyler's Untersuchungen Pringsheim<sup>1)</sup> (1881) gezeigt hat, aus den Chloroplasten unter gewissen Bedingungen ein braunes Umwandlungsprodukt des grünen Farbstoffes unter Formen ausscheidet, die auf den ersten Blick an die für Lezithin so charakteristischen Myelinfiguren erinnern. Pringsheim selbst war darüber allerdings ganz im Unklaren, um was es sich bei den von ihm entdeckten höchst auffallenden Gebilden eigentlich handelt. Er glaubte, daß ein flüssiger, ölartiger Stoff, den er „Hypochlorin“ nannte, das Stroma der Chloroplasten durchtränke und bei Einwirkung von Salzsäure jene braun gefärbten Gebilde erzeuge. Es ist das Verdienst Artur Meyer's, die Identität der „Hypochlorinkristalle“ mit Hoppe-Seyler's „Chlorophyllankristallen“ nachgewiesen zu haben. Die letzteren beschreibt Hoppe-Seyler als sichelförmig gebogene, spitzwinkelige Täfelchen, oft rosettenförmig oder radial nach allen Richtungen um einen Punkt gestellt; im auffallenden Lichte erscheinen sie schwärzlichgrün, im durchfallenden braun, sie besitzen Wachskonsistenz, lösen sich leicht in Äther und Petroläther, schwer in kaltem, leichter in heißem Alkohol. Ganz dieselben Formen und ganz die gleichen Eigenschaften zeigen nun auch die Hypochlorinkristalle Pringsheim's, nur ist ihre Formenmannigfaltigkeit noch eine sehr viel größere und sind es gerade die an Myelinfiguren erinnernden eigenartig verschnörkelten Gestalten, die besonders häufig entstehen. Solche Formen kommen nun keineswegs dem wirklich reinen, durch Säurewirkung erzeugten Chlorophyllderivat (Willstätter's „Phäophytin“) zu, sie sind vielmehr gerade für das mit farblosen lipoiden Stoffen (Lezithin) „verunreinigte“ Phäophytin charakteristisch. Die besondere Form wird diesem erst durch die Beimengungen aufgeprägt.

Nach Willstätter hätte man sich das Chlorophyll in den Chromatophoren „in kolloïdaler Verteilung oder einem sehr ähnlichen Zustand“ zu denken, wofür hauptsächlich die Unterschiede zwischen dem Absorptionsspektrum des lebenden Blattes und einer wirklichen Chlorophylllösung zu sprechen scheinen. Beim Abbrühen von Blättern soll dann das Chlorophyll „aus seinem kolloïdalen Zustande in die Form

1) Jahrb. f. wiss. Bot., XII, 1879—81.

einer wirklichen Lösung übergehen, nämlich gelöst in seinen infolge der Temperaturerhöhung verflüssigten wachsartigen Begleitstoffen“ (l. c. pag. 61). Dadurch wird es auch bedingt, daß es nun viel leichter ist, den Farbstoff zu extrahieren. Bekanntlich hat schon Pringsheim gezeigt, daß es bei Einwirkung feuchter Wärme auf intakte chlorophyllhaltige Zellen gelingt, eine Ausscheidung grüner, in Alkohol und Äther löslicher Tropfen aus den Chlorophyllkörnern herbeizuführen, die, „wie schon der unmittelbare Augenschein lehrt“, aus einem fettartigen Körper bestehen, den er „Lipochlor“ nannte — dem Träger des Farbstoffes — der diesen selbst und die ihn begleitenden Substanzen in Lösung hält. Auch Willstätter gibt an, „daß beim Abbrühen der Blätter das Chlorophyll in einem stark brechenden Medium in Lösung geht“ und vertritt überhaupt die Anschauung, daß „die Auflösung des Chlorophylls in den verschiedenen Fällen und seine Wiederabscheidung sich durch die lösende Wirkung der mit Alkohol sich vermischenden lipoïden Chloroplastenbestandteile erklärt“.

In einer früheren Mitteilung<sup>1)</sup> habe ich dann gezeigt, daß man solche Tropfenbildungen schöner und in viel einfacherer Weise durch verschiedene Lösungsmittel erzielen kann. Alkohol und nachfolgende Glyzerinbehandlung und besonders Chloralhydrat erwiesen sich hierzu als sehr geeignet. Alle derartigen Tropfen bestehen aus einer an sich farblosen Grundsubstanz, in welcher die Chlorophyllfarbstoffe diffus gelöst sind. Sie ist selbst wieder aus einem in Alkohol löslichen und einem darin unlöslichen Anteil zusammengesetzt und in der Hauptsache als ein fettähnlicher Körper charakterisiert, der sich mit Osmiumsäure mehr oder weniger intensiv schwärzt. Es hat sich aber außerdem noch gezeigt, daß nicht nur die Chloroplasten sehr reich sind an lipoïden Substanzen, mit denen vereint der Farbstoff sowohl bei Behandlung mit Alkohol wie mit Chlorhydrat austritt, sondern daß derartige Stoffe auch im Plasma selbst in beträchtlicher Menge enthalten sind. Dies muß unmittelbar aus dem Umstande gefolgert werden, daß nicht nur die Stromasubstanz der Chromatophoren, sondern auch das übrige Plasma von Trypsin erst dann restlos gelöst werden, wenn man die betreffenden Zellen vorher mit Alkohol, Äther und Chloroform extrahiert hat<sup>2)</sup>. Da sich bei An-

1) Flora, N. F. XI, 1918, p. 560.

2) W. Biedermann, Pflüger's Arch. 174, 1919.

wendung der oben erwähnten Lösungsmethoden in chlorophyllführenden Zellen immer nur gefärbte Tropfen bilden und nur ganz ausnahmsweise einmal auch farblose entstehen, so gewinnt es den Anschein, daß der Lipoidgehalt der Chloroplasten immer viel größer ist, als der des umgebenden Plasmas, wiewohl dies nicht notwendig aus der beobachteten Tatsache zu folgern ist. Unter allen Umständen schien es mir wünschenswert, den Inhalt von Pflanzenzellen auch in solchen Fällen auf das Vorhandensein lipoïder Stoffe zu prüfen, wo Chlorophyll nahezu oder ganz fehlt. Das Vorhandensein solcher und speziell lezithinartiger Substanzen in verschiedenen Samen ist ja längst nachgewiesen (vgl. die Literaturangaben in Abderhalden's Lehrb. d. physiol. Chemie, Bd. I, pag. 243). Wegen der reichlichen Speicherung von Reservestoffen ist aber in diesem Falle der Lipoidgehalt des Plasmas selbst nicht klar zu erkennen. Ich richtete daher mein Augenmerk zunächst auf die Gewebszellen chlorophyllfreier parasitischer Pflanzen, von denen mir *Monotropa hypopitys* und zwei Arten von *Orobanche* zur Verfügung standen. Die erstgenannte Pflanze, die in der Umgebung Jenas ganz gemein ist, bietet in den den ganzen Stengel und auch die Blüten überdeckenden Schuppen ein sehr schönes, leicht zu behandelndes Untersuchungsmaterial.

Sowohl die Stengelschuppen, wie die noch zarteren Deckschuppen der Blüten sind brauchbar. Im frischen Zustande erscheinen dieselben farblos oder blaßgelblich gefärbt und so durchsichtig, daß sie der mikroskopischen Untersuchung ohne weiteres zugänglich sind. Die Zellen der Oberseite, deren Membranen nur wenig verdickt erscheinen, sind ziemlich groß, länglich und gegeneinander polygonal abgegrenzt; von ähnlicher Form sind auch die Elemente des Parenchyms. Alle Zellen umschließen einen ziemlich stark lichtbrechenden, völlig homogenen Inhalt von blaßgelblicher Farbe. Fast regelmäßig findet man einige, meist wandständige Vakuolen im Zellinhalt, doch ist ihre Zahl immer sehr gering. Bei tieferer Einstellung bemerkt man eine rundliche Anhäufung feinkörniger Masse, die so blaß und durchsichtig ist, daß man sie leicht ganz übersehen kann und anscheinend den Kern einschließt. Überträgt man isolierte Schuppen sofort in eine größere Menge Alkohol, so nehmen sie wie auch dieser selbst allmählich eine blaßviolettrote Färbung an. Bei mikroskopischer Untersuchung unter Alkohol findet man in fast allen Zellen in wechselnder Zahl stark lichtbrechende glänzende Körnchen ausgeschieden, die neben einem sehr deutlich hervortretenden Haufen dunkler Granula, die einzigen geformten Bestandteile der Zellen ausmachen. Vom Kern ist auch jetzt in der Regel



nicht viel zu sehen. Ganz ähnliche stark lichtbrechende Krümel entstehen, wie ich seinerzeit fand, auch im Inhalt der Blattzellen von *Elodea* bei Einwirkung von Alkohol. In beiden Fällen ändert sich das Aussehen solcher Präparate fast momentan bei Zusatz von Wasser, indem die Körnchen erblassen und bei *Monotropa* ohne Rest verschwinden. Von den vorher so auffallenden, meist an dem einen oder anderen Ende der gestreckten Zellen lokalisierten dunklen Körnchenhaufen bleibt nur ein blasser Rest übrig. Außerordentlich scharf tritt dann aber regelmäßig der runde Kern hervor, der ein feinkörniges Aussehen zeigt und einen glänzenden Nukleolus einschließt. Durch den Alkohol ist offenbar ein großer Teil des Zellinhaltes herausgelöst worden, der im gegebenen Falle aus zwei Komponenten besteht, einer stark lichtbrechenden, alkohollöslichen Substanz und „Plasma“ von gewöhnlichem Aussehen. Beide stehen zueinander aber nicht in dem Verhältnis von Plasma und Plasmaprodukt (wie etwa das Fett einer Fettzelle), sondern sie bilden offenbar zusammen die „lebendige Substanz“ der Zelle.

Sehr ungewöhnliche Bilder erhält man durch Plasmolyse der Schuppen mit Kochsalzlösung. Es erfolgt dann nicht, wie sonst gewöhnlich, eine gleichmäßige Ablösung des plasmatischen Inhaltes der Zellen von der Membran, sondern die nächste Veränderung besteht in der Vergrößerung und Neubildung von wandständigen Vakuolen, die, indem sie miteinander zusammenfließen, allmählich die offenbar sehr zähflüssige Inhaltsmasse von der Wand abdrängen und so deren Volumen mehr und mehr verkleinern. Schließlich ist der größte Teil des Zellraumes von farbloser Flüssigkeit erfüllt, während das Plasma einen sehr stark lichtbrechenden, gelben Klumpen bildet, der entweder, wie in der Mehrzahl der Zellen, der Wand angeschmiegt oder als rundlicher Ballen frei in der Mitte liegt. Nicht selten findet sich an jedem Zellende eine solche zwickelförmige Masse oder es erscheinen beide Hälften wohl auch durch einen Faden der gleichen, stark lichtbrechenden Substanz verbunden. Der eigentümliche Glanz dieser letzteren im Verein mit der hellgelben Farbe erinnert viel eher an Fett, als an Plasma und man würde hier dem fremdartigen Anblick, den ein Präparat in diesem Stadium der Plasmolyse darbietet, kaum glauben, daß es sich um nichts anderes handelt, als um den durch Kochsalzlösung zur Retraktion gebrachten, plasmatischen Inhalt frischer Pflanzenzellen (Fig. 1).

Ganz entsprechende Bilder erhält man auch bei Anwendung von Zuckerlösungen oder Glycerin. Will man solche Präparate konservieren,

so stößt man auf die größten Schwierigkeiten, da sowohl bei längerer Einwirkung der plasmolysierenden Flüssigkeit selbst, wie auch bei Zusatz fixierender Lösungen alsbald weitgehende Veränderungen eintreten, die als Entmischungsvorgänge charakterisiert sind. Ganz plötzlich vollzieht sich eine solche Entmischung schon dann, wenn man eine plasmolysierte Blattschuppe für wenige Augenblicke in kochende Kochsalzlösung derselben Konzentration taucht, wie sie zur Plasmolyse verwendet wurde. Die gelben, homogenen Plasmaklumpen, in denen man zunächst weder den Kern, noch sonst welche Strukturelemente erkennt, werden beim Erhitzen sofort durchsichtig und lassen nun, in einer farblosen Grundmasse eingelagert, sehr stark lichtbrechende und scharf konturierte Gebilde erkennen, welche teils die Form knotiger, oft verzweigter Stäbchen haben und lebhaft an gewisse Myelinformen erinnern, teils handelt es sich um kleine farblose, wie Fett aussehende Tröpfchen. In fast jeder Zelle bemerkt man ferner einen ziemlich dunkel gelb gefärbten Tropfen, der offenbar den vorher gleichmäßig in der ganzen Masse verteilten gelben Farbstoff enthält und anscheinend den Kern umschließt (Fig. 2).

Kocht man abgelöste Schuppen oder ganze Stücke von Fichtenspargel längere Zeit mit Wasser, so färbt sich dieses, sowie auch die Pflanzenteile selbst, sehr bald tief ockergelb und es bildet sich ein brauner Bodensatz. Eine dunkle Verfärbung aller Teile der Pflanze, die allmählich bis zu tiefem Schwarz fortschreitet, tritt auch in den verschiedensten Konservierungsflüssigkeiten sowie beim Trocknen ein, und man muß daher besondere Maßnahmen treffen, um Sammlungs-exemplare in der ursprünglichen Farbe zu erhalten. Läßt man plasmolysierte Schuppen in der Kochsalzlösung oder im Glyzerin liegen, so werden sie nach einigen Tagen so dunkel, daß man dünne Flachschnitten anfertigen muß, um überhaupt etwas zu sehen. Es scheint sich hierbei nicht um eine Oxydasewirkung zu handeln, wie in so vielen anderen Fällen ähnlicher Farbenwandlungen.

Was nun die langsamen Veränderungen betrifft, welche der Inhalt der durch Kochsalz plasmolysierten Schuppenzellen noch vor der Verfärbung erleidet, so beginnen sie sich in der Regel nach 24—48 Stunden deutlich bemerkbar zu machen, und zwar immer vom Rande der geballten Inhaltsmasse her. Hier entstehen eine Menge kleiner Vakuolen (Tröpfchen), so daß sich eine, aus lauter kleinen stark lichtbrechenden Tröpfchen und Vakuolen gebildete Randzone entwickelt. Indem dann der Prozeß weiter nach Innen fortschreitet, gewinnt die ganze ursprünglich homogene Masse der Ballen ein mehr oder weniger schaumiges Aus-

sehen (Fig. 3 *a*). Zugleich wird die gelbe Farbe immer blasser, um schließlich in der Mehrzahl der Zellen ganz zu verschwinden. Das Pigment bzw. eine pigmentierte stark lichtbrechende Substanz sammelt sich dann entweder um den Kern, denselben vollständig einhüllend, oder es bilden sich noch außerdem einer oder mehrere gelb gefärbte Tropfen (Fig. 3 *b*). Da alle diese Veränderungen, wie schon erwähnt, hauptsächlich in der peripheren Zone der einzelnen Ballen beginnen, so erscheint diese im optischen Querschnitt dunkel im Vergleich zur helleren Mitte, so daß in einem gewissen Stadium jeder Ballen den Eindruck eines Bläschens oder Säckchens macht, dessen heller durchsichtiger Inhalt von einer plasmaähnlichen Hülle umgeben wird. Dazu trägt noch der Umstand bei, daß zwischen den stark lichtbrechenden Tröpfchen in zunehmendem Maße eine fein granuliert Substanz bemerkbar wird, welche jene mehr und mehr auseinanderdrängt und so die ganze Rindenschicht durchsichtiger macht (vgl. Fig. 3 *b*, *c*). Verweilen die Schuppen längere Zeit in starker oder gar konzentrierter Kochsalzlösung, so erscheinen die Ballen im durchfallenden Licht oft ganz dunkel, fast schwarz, indem ihre ganze Masse dicht durchsetzt wird von sehr kleinen, stark lichtbrechenden Tröpfchen, wie ja auch eine von Fettstaub oder Muzigengranulis dicht erfüllte Zelle dunkel schwärzlich aussieht. Setzt man in solchem Falle Glyzerin zu, so bilden sich sehr bald und in großer Zahl Vakuolen, deren Zwischenräume von der stark lichtbrechenden Substanz ausgefüllt werden und da die Vakuolen sich fast berühren, so entsteht auf diese Weise ein grobblasiger Schaum mit glänzenden Wabenwänden. Die Mannigfaltigkeit der Bilder ist, wie man sieht, sehr groß und es würde eine lange Reihe von Figuren erforderlich sein, um nur einigermaßen die vorkommenden Typen darzustellen. Das Wesentliche bleibt aber immer ein Entmischungsvorgang, bei welchem sich zunächst in der Peripherie des durch Plasmolyse zu einem Klumpen geballten, ursprünglich ganz homogenen Zellinhaltes Vakuolen und Tröpfchen einer stark lichtbrechenden Substanz ausscheiden. Unter fortschreitender Aufhellung des Balleninneren macht sich dann immer deutlicher eine Sonderung in einen stark lichtbrechenden Anteil und andererseits in eine Substanz vom Aussehen gewöhnlichen Plasmas bemerkbar.

Ganz ähnliche Erscheinungen beobachtet man auch bei Einwirkung von Glyzerin auf frische Schuppen. Auch dann entsteht bei der plasmolytischen Kontraktion des Inhaltes in jeder Zelle zu-

nächst ein ganz homogener, eigentümlich glänzender hellgelber Klumpen, der, wenn die Schuppen im Glyzerin verbleiben, allmählich eine Entmischung erfährt, welche schließlich zu einer Aufhellung führt, die dann Strukturen sichtbar macht bzw. bedingt, von denen unmittelbar nach beendeter Plasmolyse nicht die geringste Spur zu bemerken ist. Wieder beginnt der Vorgang mit einer von der Peripherie jedes Ballens ausgehenden Vakuolisierung, wobei sich der Farbstoff, der an einer stark lichtbrechenden Substanz haftet, in der Hauptsache um den Kern ansammelt und diesen so das Aussehen eines homogenen, gelben, eigentümlich fettig glänzenden rundlichen Körpers verleiht, während die übrige Masse des Ballens sich völlig entfärbt und durchsichtig wird. Ein Teil der stark lichtbrechenden gelblichen Substanz findet sich gewöhnlich auch in der äußersten Peripherie des ehemaligen Ballens abgelagert, wodurch dessen Kontur stellenweise verdickt und glänzend erscheint und eine Art Rindenschicht gebildet wird, auch halbmondförmige Segmente an einzelnen größeren Vakuolen kommen vor. Von der Umgebung des Kernes her spannen sich in der Regel Stränge einer feinkörnigen, oft wieder von kleinen Vakuolen durchsetzten Substanz durch den Innenraum des „Plasmasäckchens“ oder es erscheint dieser ganz erfüllt von einem grobblasigen Schaum, dessen Wände von „Plasma“lamellen gebildet werden. Eine größere wandständige Anhäufung derselben feinkörnigen Masse umschließt gewöhnlich den Kern (Fig. 4). Nun erst bieten die Schuppenzellen das typische Bild einer gewöhnlichen plasmolysierten Pflanzenzelle dar. Von da ab ändert sich im Aussehen der Zellen in der Regel nicht mehr viel, nur wird, wie schon oben bemerkt wurde, das ganze Gewebe der Schuppen mit der Zeit immer dunkler und schließlich fast schwarz, so daß eine genauere Untersuchung dann nur an dünnen Flachschnitten möglich erscheint. Dieses Dunkeln betrifft nicht so sehr den Zellinhalt als vielmehr die Membranen, wenngleich auch jener einen bräunlichen Farbenton annimmt. Eines sehr eigentümlichen Befundes muß ich hier noch gedenken, den ich an Schuppen machte, die mehrere Monate in Glyzerin aufbewahrt worden waren. Sie waren natürlich sehr stark gedunkelt und auch das Glyzerin hatte sich stark gebräunt. Sowohl in den Zellen, wie auch frei in der Außenflüssigkeit fanden sich nun zahlreiche, oft ziemlich große Kristalldrüsen von blätterigem Bau, die, wenn sie genügend Licht durchließen, eine ganz ähnliche Farbe zeigten wie der geballte Zellinhalt unmittelbar nach der Plasmolyse. Diese Kristalle erwiesen sich als außerordentlich widerstandsfähig, sie waren in Wasser, Alkohol und Chloroform unlöslich und wurden auch von



Säuren und Alkalien anscheinend nicht angegriffen. Möglicherweise handelt es sich hier um dieselbe Substanz, die ich in etwas anderer Form in den Zellen von Schuppen abgelagert fand, die etwa gleichlange in konzentrierter Kochsalzlösung gelegen hatten. Es waren das gelbgefärbte Kugeln, teils einzeln, teils zu zwei oder mehreren vereinigt, an denen man nur hier und da Spuren einer kristallinen Struktur bemerken konnte.

Wenn schon die bisher mitgeteilten Beobachtungen sehr dafür zu sprechen scheinen, daß in die Zusammensetzung des „Plasmas“ der Schuppenzellen von *Monotropa* lipöide Substanzen eingehen, die sich bei der Plasmolyse teilweise abspalten, so wird dies zur Gewißheit, wenn man das Verhalten der betreffenden Zellen gegen Eau de Javelle und Osmiumsäure prüft.

Verfolgt man die allmählich fortschreitenden Veränderungen bei Zusatz des erstgenannten Reagens zu ganz frischen Schuppen unter dem Mikroskop, so fällt vor allem auf, daß durchaus nicht alle Zellen einer Schuppe in gleicher Weise reagieren, sondern sich gruppenweise verschieden verhalten. Meist beginnt die Wirkung sich darin zu zeigen, daß der homogene blaßgelbliche Zellinhalt, der, wie schon erwähnt wurde, nur von einigen wenigen farblosen Vakuolen durchsetzt ist, sich von beiden Enden der Zelle her ablöst, wobei sich oft durch Bildung neuer, großer Vakuolen eine förmliche Zerklüftung der Masse entwickelt, die sich mehr und mehr abrundet und schließlich unter Beibehaltung ihrer blaßgelben Farbe eine große, inmitten der Zelle liegende homogene, runde Kugel bildet, die durch ihr starkes Lichtbrechungsvermögen einem großen Öltropfen gleicht und offenbar dem klumpigen Ballen entspricht, der sich bei der Plasmolyse bildet. Oft liegen in der nächsten Umgebung des großen Tropfens noch einige kleinere von sonst gleicher Beschaffenheit (Fig. 5 a). In manchen Zellen kommt es schon vor der vollständigen Abkuglung zur Differenzierung von einem oder mehreren gelben Tropfen, die dann außerhalb der blasseren Hauptmasse des Zellinhaltes liegen, der an Stelle der ausgetretenen Tropfen manchmal napfförmig eingedrückt erscheint (Fig. 5 b). Bei der schließlichen Abkuglung des ganzen Zellinhaltes werden auch diese Tropfen wieder aufgenommen und lösen sich in der Grundmasse restlos auf.

In manchen, gewöhnlich gruppenweise vereinigten Zellen scheiden sich unter dem Einfluß des Reagens fast sofort zahlreiche, stark lichtbrechende, öartige Tropfen aus, die meist farblos, zuweilen gelblich

gefärbt erscheinen und in der Folge ebenfalls wieder mit der Grundmasse verschmelzen, wenn es zur endgültigen Abkuglung kommt.

Dieses Endstadium dauert am längsten; aber nach einigen Stunden werden auch die großen zentralen Kugeln aufgelöst, und zwar unter sehr eigentümlichen Erscheinungen. Oft sieht man, wie sich zunächst vom Rande zahlreiche kleine Tröpfchen ablösen und plötzlich verschwinden. Mit einem Male überzieht sich dann die ganze Oberfläche des großen Tropfens schwärzlich, indem zahllose kleinste stark lichtbrechende Tröpfchen in der Masse auftreten. Gewöhnlich beginnt die Entmischung an irgendeiner Stelle des Randes und verbreitet sich von da aus sehr schnell über den ganzen Tropfen. Bevor noch diese Trübung, die sich wie ein Schleier über den durchsichtigen Tropfen herüberzieht, den jenseitigen Rand erreicht hat, beginnt vom Ausgangspunkte her die Wiederaufhellung. Die Masse des Tropfens hat aber nun ihr starkes Lichtbrechungsvermögen verloren und erscheint als ein blasses Haufwerk kleiner Körnchen oder Tröpfchen, dessen Gesamtdurchmesser in der Regel größer ist als der der ursprünglichen Kugel. Im nächsten Moment — man hat kaum Zeit, die Erscheinung genau ins Auge zu fassen — ist alles spurlos verschwunden.

Am interessantesten sind aber die Erscheinungen, die bei einer nicht zu stürmischen Einwirkung des Reagens sich entwickeln und zu einer ganz ähnlichen Scheidung des Zellinhaltes in zwei ganz verschiedene Anteile führen, wie es auch im Verlauf der Plasmolyse zu geschehen pflegt. Man findet dann den ölartigen zentralen Tropfen umgeben von einer mehr oder weniger dicken Hülle, die auch den Kern einschließt und deren Substanz ganz das Aussehen gewöhnlichen Plasmas darbietet (Fig. 7 *a*). Eine solche Zelle macht durchaus den Eindruck einer von einer pflanzlichen Zellmembran umschlossenen tierischen Fettzelle. Wenn dann später der große gelbe Tropfen unter den oben beschriebenen Erscheinungen verschwunden ist und nur noch die Hülle mit dem Kern zurückbleibt, erhält man ganz ähnliche, nur viel schönere Bilder eines hohlen, kernhaltigen Plasmasäckchens, wie sie auch bei der Plasmolyse mit Kochsalz oder Glycerin entstehen (Fig. 7 *b*). Am seltensten kommt es bei Einwirkung von Eau de Javelle zunächst zur Bildung ebensolcher klumpiger gelblicher Massen, wie stets bei Plasmolyse. Dann sind auch die weiteren Veränderungen ganz ähnliche, nur beginnt die Vakuolisierung viel früher und schreitet sehr rasch fort (Fig. 6).

Präparate, wie die in Fig. 7 *a*, *b* dargestellten, lassen, wie mir scheint, an der Tatsache nicht zweifeln, daß in den Schuppenzellen von

*Monotropa* fettähnliche Substanzen in inniger Mischung mit dem „Plasma“ reichlich enthalten sind, so daß der unveränderte Inhalt dadurch sowohl in seinem Aussehen, wie auch in seinem ganzen sonstigen Verhalten wesentlich beeinflußt wird. Sehr auffallend macht sich dies auch bei Behandlung mit Chloroform geltend. Bringt man Schuppen — am besten die großen Deckschuppen der Blüten oder die unmittelbar unter dem Blütenstand gelegenen Stengelschuppen — in eine mit Chloroform geschüttelte verdünnte Lösung von  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (0.4 %) und erwärmt auf 40° C, so dunkeln die Schuppen in der Regel sehr stark und nehmen einen grauschwärzlichen Farbenton an. Bei mikroskopischer Untersuchung zeigen die Zellen dann sehr auffallende Veränderungen, die sich wieder in verschiedenen Zellen einer und derselben Schuppe sehr wechselnd gestalten. Meist scheiden sich unter dem Einfluß des Chloroforms stark lichtbrechende farblose Tropfen und Tropfenaggregate aus, die sehr deutlich doppelt konturiert sind und ganz den Eindruck von Myelintropfen des Nervenmarkes machen, namentlich wenn dieselben miteinander zu verschiedengestaltigen Gruppen verschmelzen (Fig. 8a). Ehe es zur eigentlichen Tropfenbildung kommt, sieht man den ganzen Zellinhalt durchsetzt von kleinsten stark lichtbrechenden Tröpfchen, die dann offenbar später zu größeren und schließlich zu großen Tropfen zusammenfließen. Durch Aneinanderlagerung solcher Tropfen kommt es unter gegenseitiger Abplattung zur Bildung eines Schaumwerkes, dessen optischer Durchschnitt dann stark lichtbrechende Gitter und Netze mit polygonalen Maschen darstellt, die oft den ganzen Innenraum einer Zelle durchsetzen (Fig. 8b). In vielen Zellen zeigen die Tropfen keinen doppelten Randkontur und gleichen dann vollkommen Ölkugeln.

Solche Bilder führen direkt zu jenen, welche man in höchst charakteristischer Weise bei Einwirkung von Osmiumsäure erhält. Bringt man eine etwa an der Grenze des basalen Drittels quer abgeschnittene Schuppe in 1 % ige Osmiumsäure, so färbt sie sich schon nach kurzer Zeit, wenigstens teilweise, tief schwarz. Es bildet sich zunächst regelmäßig eine von der Schnittgrenze aus mehr oder weniger weit nach dem Blättinneren übergreifende, tiefschwarze Demarkationszone, während der Rest der Schuppe unregelmäßig schwarz gefleckt und gestreift erscheint, wie es die Fig. 9 in einem besonders charakteristischen Falle darstellt.

Die Zwischenpartien sind farblos oder ganz schwach bräunlich-gelb gefärbt. Bei mikroskopischer Untersuchung geschwärzter Stellen findet man die Zellen mehr oder weniger dicht erfüllt mit dunklen

Tropfen, deren Größe und Farbe in den Zellen eines und desselben Bezirkes sich außerordentlich wechselnd gestaltet (Fig. 10). Zwischen tiefstem Schwarz und einem nur eben noch wahrnehmbaren grauen Hauch finden sich alle denkbaren Übergänge von dunkel- und hellgrau. In der Regel enthalten die zentral gelegenen Zellen eines geschwärzten Bezirkes die dunkelsten Tropfen, die dann oft auch so gedrängt liegen, daß die Zellen fast gleichmäßig schwarz und undurchsichtig erscheinen. Um an solchen Stellen Einblick in die Beschaffenheit des Zellinhalts zu gewinnen, muß man mit dem Rasiermesser möglichst dünne Flachschnitte machen. Dann erkennt man, daß es sich niemals um eine gleichmäßige Schwärzung des Zellinhaltes handelt, sondern ausnahmslos um Tropfen, die an den dunkelsten Stellen in einer diffus grau gefärbten homogenen Masse eingebettet liegen. Nach der Peripherie eines schwarzen Fleckes hin blaßt die Farbe der Tropfen immer mehr ab und in der Grenzzone finden sich dann gewöhnlich Zellen, in denen man bei einiger Aufmerksamkeit und günstiger Beleuchtung zwar noch die gleichen Tropfenbildungen erkennt, wie in den mehr zentral gelegenen Zellen, aber ungefärbt und nur ganz schattenhaft angedeutet, da sich ihr Lichtbrechungsvermögen nur sehr wenig von dem der Umgebung unterscheidet. Man bekommt vielfach den Eindruck, als ob die Tropfen nicht etwa erst unter der Einwirkung der Osmiumsäure entstünden, sondern immer vorhanden sind und nur mangels einer genügenden Differenz des Brechungsvermögens unsichtbar bleiben. Die erste Wirkung des Reagens wäre dann lediglich durch eine Zunahme des Brechungsindex der Tropfenmasse gekennzeichnet. In der Regel sind die Tropfen einer und derselben Zelle hinsichtlich ihrer Größe nur wenig verschieden, was besonders für solche Fälle gilt, wo kleine Tropfen den ganzen Innenraum einer Zelle fast ausfüllen (Fig. 10 *b*). Bisweilen fließen größere Tropfen zusammen und bilden dann unregelmäßig geformte knollige Massen, die sofort an typische Myelinformen erinnern (Fig. 10 *c*). Ein derartiges Konglomerat findet man neben den Einzeltropfen fast in jeder überhaupt gefärbten Zelle (Fig. 10 *a, b*) und es entsprechen diese sehr auffallenden tiefschwarzen Massen anscheinend jenen Haufen dunkler Körnchen und Tröpfchen, welche für Alkoholpräparate so charakteristisch sind und an ungefärbten Zellen auch nach Osmiumbehandlung häufig wahrgenommen werden (Fig. 10 *d*). Ganz selten werden in solchen ungefärbten Zellen blasse helle „Myelinfiguren“ sichtbar (Fig. 10 *d'*), die offenbar den ebenso blassen farblosen Tropfen entsprechen, die man oft am Rande einer Insel von geschwärzten Zellen findet. Es sind das längliche, meist verzweigte Gebilde, die in



großer Zahl entstehen und vielleicht als eine rasch vorübergehende Vorstufe der Tropfenbildung aufzufassen sind.

Großen Schwierigkeiten begegnet man, wenn es sich darum handelt, solche Osmiumpräparate aufzubewahren, denn die geschwärzten Tropfen sind keineswegs, wie osmiertes Fett, unveränderlich haltbar, sondern im Gegenteil sehr vergänglich. Weder Alkohol noch Glyzerin vermag ihre Form und Anordnung zu erhalten und nur im Wasser bewahren die Präparate ihre ursprüngliche Schönheit. Ich habe solche viele Monate fast unverändert in thymolisiertem Wasser aufbewahrt. Sie gewinnen aber mit der Zeit an Haltbarkeit und lassen sich dann auch in unverändertem Zustand mit Alkohol entwässern.

Es wurde bereits erwähnt, daß die Osmiumfärbung sich in der Regel auf einzelne mehr oder weniger ausgedehnte Zellterritorien beschränkt, deren Umfang an einer und derselben Schuppe außerordentlich verschieden ist. Manchmal nur auf einige wenige Zellen beschränkt, verbreitet sich die Schwärzung an anderen Stellen über große Flächenräume und ausnahmsweise sogar über eine ganze Schuppe. Sehr bemerkenswert ist dabei der schon früher erwähnte Umstand, daß eine solche „diffuse“ Schwärzung fast regelmäßig als „Demarkationszone“ in Form eines mehr oder weniger breiten Streifens entsteht, der sich von der basalen Bruch- oder Schnittlinie der Schuppe nach innen hin erstreckt (Fig. 9). Es macht fast den Eindruck, als ob von der verletzten Stelle aus die Zellen in einen veränderten Zustand versetzt würden, der sie für die Einwirkung des Reagens empfänglich macht. Ich habe leider versäumt, die Wirkung sonstiger Verletzungen näher zu prüfen, doch wäre vielleicht auf diesem Wege eine Erklärung der sonderbaren und so unregelmäßig verteilten lokalen „Osmiumflecken“ zu erreichen.

Es kann meiner Ansicht nach nicht bezweifelt werden, daß das eben geschilderte Verhalten der Schuppenzellen auf das Vorhandensein reichlicher Mengen lipoïder, sich mit Osmium schwärzender Substanzen im Zellinhalt zu beziehen ist. Da diese aber, wie sich aus dem Vorstehenden ergibt, mit dem „Plasma“ der betreffenden Zellen ursprünglich innig gemischt zu sein scheinen, und sich nur unter ganz bestimmten Bedingungen von diesem in sichtbarer Weise sondern, so wird man sie wohl als zur Konstitution desselben gehörig betrachten dürfen. Dies muß schon aus dem Umstande gefolgert werden, daß die Osmiumreaktion in der Regel nur auf gewisse, in den einzelnen Fällen aber ganz verschieden angeordnete Schuppenbezirke beschränkt bleibt, obschon ja nicht zu bezweifeln sein dürfte, daß die chemische

Zusammensetzung des Plasmas allenthalben die gleiche ist. Lipoide sind immer vorhanden, sie sind aber nicht immer reaktionsfähig. Wie der normale Muskel „maskiertes“ Fett oft reichlich enthält, welches erst nach der Verdauung durch Osmium nachweisbar wird, so scheint es sich ähnlich auch im gegebenen Falle mit den lipoïden Zellbestandteilen zu verhalten. Dabei braucht natürlich, wie es ja auch tatsächlich der Fall zu sein scheint, die Verteilung der Lipoide in einer und derselben Zelle keineswegs eine ganz gleichmäßige zu sein. Das fast regelmäßige Vorhandensein einer größeren, klumpigen Masse neben den durch Osmium gleichgefärbten Tropfen scheint dies direkt zu beweisen. Ich werde im folgenden zeigen, daß solche „Lipoïdherde“ noch in anderen Zellen derselben Pflanze in einer viel schärfer ausgeprägten Weise vorkommen. Was aber gerade die Schuppenzellen besonders auszeichnet, das ist der überraschende Reichtum derselben an derartigen Stoffen, die ja hier geradezu die Hauptmasse des Zellinhalts bilden. Man wird direkt an das Nervenmark erinnert, wenn man die Eigenschaften des Inhalts der Schuppenzellen von *Monotropa* mit irgendeinem Bestandteil tierischer Gewebselemente vergleichen wollte, um so mehr als, wie ich zeigen werde, der wesentlichste Stoff, um den es sich hier handelt, ebenfalls ein Lezithin oder doch ein Lezithin ähnlicher Körper ist.

Man durfte erwarten, daß eine wenigstens ähnliche Beschaffenheit des Zellinhalts sich wohl auch in anderen Gewebselementen derselben Pflanze finden würde und ich untersuchte daher zunächst den Stengel. Ein tangentialer Längsschnitt durch die Rinde außerhalb der Zone der Gefäßbündel zeigt ein Parenchym von ziemlich langgestreckten großen Zellen, die auffallend dünnwandig, farblos und mit einem ganz durchsichtigen homogenen Inhalt erfüllt sind, in dem man nur spärlich verbreitet kleine, stark lichtbrechende Körnchen und Tröpfchen bemerkt. Der Zellkern ist verhältnismäßig klein, rund und liegt meistens wandständig. Bringt man einen solchen nicht zu dünnen Schnitt frisch in 1%tige Osmiumsäure, so macht sich schon nach ganz kurzer Zeit ein Dunkeln bemerkbar, welches wiederum nicht alle Zellen gleichmäßig betrifft, sondern auf einzelne Zellreihen beschränkt bleibt, so daß ein solches Präparat schon bei Lupenvergrößerung in sonderbarer Weise längstreifig erscheint (Fig. 11). Bei mikroskopischer Untersuchung erscheinen einzelne der sehr großen Zellen tiefschwarz gefärbt und völlig undurchsichtig, während andere mehr oder weniger grau, und zwar meist in ganz diffuser Weise gefärbt sind und wieder andere ihr ursprüngliches Aussehen unverändert bewahrt haben. Während an den am meisten

gedunkelten Zellen weitere Einzelheiten sich nicht erkennen lassen, treten solche an vielen der grauen Zellen, die hinlänglich durchsichtig geblieben sind, sehr deutlich hervor. Der ganze Inhalt erscheint dann von zahlreichen schwarzen oder dunkelgrauen Krümeln und Flöckchen gleichmäßig dicht durchsetzt, die anscheinend eine Fällung darstellen, welche durch das Reagens in dem noch überdies diffus gefärbten Zellinhalt entstanden ist (Fig. 12). In den farblos gebliebenen Zellen ist davon nicht das Geringste zu bemerken, dagegen sieht man in diesen meist sehr deutlich den verhältnismäßig kleinen wandständigen Kern mit einem stark lichtbrechenden Kernkörperchen. Schon bei schwacher Vergrößerung bemerkt man in fast allen grauen Zellen je einen tiefschwarzen, runden Körper, dessen Größe etwa der des Zellkernes entspricht, so daß man bei flüchtiger Untersuchung den Eindruck erhält, es handle sich um nichts anderes, als die durch Osmium geschwärzten Kerne selbst (Fig. 12). Eine solche Verwechselung kann um so eher eintreten, als diese letzteren infolge ihrer wandständigen Lage und blaßgelblichen Farbe nur wenig hervortreten, während jene tiefschwarzen, meist frei im Zellraum gelegenen Körper geradezu in die Augen springen. Ein Blick auf die beistehende Figur, welche einen Teil eines derartigen Präparats bei so schwacher Vergrößerung darstellt, wird das eben Gesagte genügend rechtfertigen. Die Unsicherheit der Beurteilung wird noch dadurch gesteigert, daß es infolge der bedeutenden Größe der Zellen nicht gut angeht, die Schnitte dünn herzustellen, daß sie nur eine einzige Zellage umfaßten. So gerät man immer wieder in Zweifel ob ein ungefärbter Kern, den man neben einem etwa gleichgroßen schwarzen Körper in einer und derselben Zelle zu sehen glaubt, nicht doch einer darunter oder darüber gelegenen Zelle angehört. Es kommt noch dazu, daß an nicht osmierten Präparaten neben dem wirklichen Zellkern ein anderer Körper von ähnlicher Form und Größe niemals zu sehen ist.

Wenn ich mich trotz alledem für überzeugt halte, daß es sich bei den „Lipoïdkörpern“, wie ich die schwarzen Pseudokerne nennen möchte, um Gebilde handelt, welche erst bei der Osmiumbehandlung sichtbar werden, so sind verschiedene Gründe dafür bestimmend. Zunächst und vor allem habe ich in einzelnen Zellen mit aller Bestimmtheit neben dem dunklen Körper auch noch den Kern gesehen (Fig. 13). Dann ist die Form der Lipoïdkörper nicht immer der des Kerns entsprechend. Ganz besonders möchte ich die nicht seltenen Zwillingsformen hervorheben (Fig. 14), wo ein solcher Körper durch eine mehr



oder weniger tiefe Einschnürung in zwei gleiche oder ungleiche Hälften geteilt erscheint. Auch drei geteilte oder nierenförmige Lipoïdkörper habe ich namentlich bei *Orobanchë* im Rindenparenchym gefunden, dessen Zellen, wie gleich hier bemerkt sei, hinsichtlich ihres Baues und Verhaltens durchaus denen von *Monotropa* entsprechen. Ferner findet man den Durchmesser der Lipoïdkörper sehr häufig größer, aber auch wesentlich kleiner, als es der durchschnittlichen Kerngröße entspricht. Ich bin der Meinung, daß die vergleichsweise kleinen Lipoïdkörper der Rindenparenchymzellen von *Monotropa* und *Orobanchë* den oben erwähnten um Vieles größeren, aus der Vereinigung schwarzer Tropfen hervorgegangenen klumpigen Massen entsprechen, von denen in der Regel je eine in den Schuppenzellen der erstgenannten Pflanze liegt. Daß der Lipoïdgehalt dieser letzteren unter allen Umständen sehr viel größer ist, als der des Stengelparenchyms ergibt sich aus den mikroskopischen Bildern ohne weiteres. Niemals kommt es hier zur Differenzierung so großer und zahlreicher schwarzer Tropfen, wie dort, obschon man sich in Fällen, wo der neben dem Lipoïdkörper vorhandene kleinflockige Niederschlag durch Osmium recht scharf gefärbt erscheint, leicht überzeugt, daß die einzelnen Krümel und Flöckchen aus ganz kleinen schwarzen Tröpfchen zusammengesetzt sind und daher wohl als den großen Tropfen der Schuppenzellen analog gelten dürfen (Fig. 15a). Dafür spricht auch, daß gelegentlich, wiewohl selten, im Stengelparenchym Zellen gefunden werden, welche statt eines Lipoïdkörpers, deren eine ganze Anzahl in verschiedener Größe und Verteilung enthalten, und zwar neben zahllosen kleinsten Tröpfchen, die dann oft nicht gleichmäßig im Zellinhalt verteilt liegen, sondern zu einem dichten Haufen gesammelt sind (Fig. 13 und 14). Auch die größeren Lipoïdkörper erscheinen manchmal gruppenweise vereint (Fig. 14). Einen besonders bemerkenswerten Fall liefert die in Fig. 13 dargestellte Zelle von *Orobanchë*. Man sieht hier außer einem endständigen dichten „Körnchenhaufen“ noch eine ganze Anzahl Lipoïdkörper von verschiedener Größe, von denen einer sich durch besonders dunkle Färbung auszeichnet und offenbar dem sonst allein vorhandenen Hauptkörper entspricht. In diesem Falle konnte auch über das Vorhandensein des Kernes neben den Lipoïdkörpern kein Zweifel bestehen, da die Zelle am Rande des Präparates ganz isoliert lag. Einer Mehrzahl von mit Osmium sich schwärzenden Lipoïdkörpern begegnet man auch gelegentlich in den schmalen, langgestreckten Epidermiszellen von *Orobanchë*-Arten (Fig. 16), die für gewöhnlich nur



ganz kleine Tröpfchen, dafür aber in außerordentlich großer Zahl enthalten. Hier sieht man nun fast regelmäßig einen Teil derselben zu einem Häufchen vereint, das außerdem oft noch einige größere geschwärzte Tröpfchen umschließt, deren ganzes Aussehen nicht zweifeln läßt, daß man es mit kleinen Lipoïdkörpern zu tun hat. Daraus darf man wohl schließen, daß die immer ganz homogen erscheinenden größeren Lipoïdkörper ihrem Wesen nach nichts anderes sind, als kompakte Anhäufungen derselben Substanz, aus der auch jene kleinen Krümel und Fleckchen bestehen, die bei Behandlung mit Osmiumsäure in den Zellen sichtbar werden. Zwischen einem, ich möchte sagen staubförmigen Niederschlag, dessen einzelne Teilchen an der Grenze der Sichtbarkeit stehen und verhältnismäßig großen schwarzen Tropfen, finden sich alle denkbaren Übergänge. Ich habe auch Fälle beobachtet, wo inmitten eines größeren Haufens kleinster Granula oder Tröpfchen ein kompakter, gewissermaßen verdichteter Kern sichtbar war.

Dennoch muß man, wie ich glaube, einen Unterschied machen zwischen den über den ganzen Innenraum einer Zelle gleichmäßig verbreiteten, krümeligen Ablagerungen lipoïder Substanzen und den örtlichen Anhäufungen kleinster Tröpfchen oder kompakter Lipoïdkörper. Letzterenfalls handelt es sich sicher nicht um eine einfache Aussonderung aus dem Plasma, sondern man hat in diesen Erscheinungen den Ausdruck einer ganz bestimmten, räumlichen Verteilung der mit Osmium sich schwärzenden Substanz in den betreffenden Zellen zu erblicken. Ein Lipoïdkörper muß wenigstens in der Anlage schon präexistieren. Daß dies aber auch hinsichtlich der kleinen Tröpfchen wenigstens in gewissen Fällen gilt, dafür spricht besonders der Umstand, daß, wie ich es bei *Orobanche* mehrfach beobachtet habe, jene schwarzen Granula in manchen Epidermiszellen überaus regelmäßig angeordnet erscheinen, und zwar in schrägen Reihen, so daß solche Zellen in der zierlichsten Weise schräggestreift erscheinen (Fig. 17). Dies alles schließt natürlich keineswegs aus, daß nicht in anderen Fällen ganz ähnliche Anhäufungen lipoïder, sich mit Osmium schwärzender Substanzen erst durch Reagentienwirkung in einer Zelle entstehen können — man denke an präformierte Fetttropfen und maskiertes Fett, welches erst frei gemacht werden muß —. Zum Vergleich verweise ich auf die Abbildung einer Blattzelle von *Eloden* (Fig. 15 b). Durch Behandlung mit Eau de Javelle war es hier zunächst durch Lösung der Chloroplasten zur Bildung eines großen Tropfens gekommen, der im wesentlichen aus lipoïden Substanzen der Stromata und darin aufgelösten Farbstoff be-

steht (vgl. meine *Elodea*-Arbeit in dieser Zeitschrift, pag. 582). Durch nachfolgende Osmiumbehandlung verkleinert sich der Tropfen und bildet nunmehr eine tiefschwarze Kugel, die den Lipoïdkörpern in den Stengelzellen von *Monotropa* oder *Orobancha* täuschend ähnlich sieht.

Ein außerordentlich interessantes Verhalten zeigen die gestielten mehrzelligen Drüsen, welche den ganzen Blütenstand von *Orobancha* dicht bedecken. Das Köpfchen derselben besteht aus einer Rosette von länglichovalen Zellen, die zusammen eine Art flachen Schirm bilden und bei der genannten Spezies im frischen Zustande mit intensiv gelben Tröpfchen dicht erfüllt sind. Der Stiel wird aus gestreckten, farblos durchsichtigen Zellen gebildet, deren Plasma den Zellraum ähnlich, wie bei *Tradescantia* in verzweigten Fäden durchzieht und zahlreiche ziemlich stark lichtbrechende, teils rundliche, teils unregelmäßig geformte Körperchen enthält. Der Kern dieser Stielzellen ist ziemlich groß, länglich geformt und liegt entweder in der Mitte oder wandständig. Die das Drüsenköpfchen tragende Endzelle unterscheidet sich, abgesehen von ihrer Kürze, im frischen Zustande nicht wesentlich von den übrigen, um so mehr aber nach Behandlung mit Osmiumsäure, wobei sie ausnahmslos und oft sehr stark dunkelt, indem sich nicht nur der Kern, sondern auch das Plasma in seiner Gesamtheit mehr oder weniger schwärzlich färbt, was bei den anderen Stielzellen nur selten in gleichem Grade der Fall ist. Meist bleiben diese ungefärbt oder nehmen nur einen leicht bräunlichen Ton an. Ich bemerke aber ausdrücklich, daß es Fälle gibt, wo auch eine oder die andere der tieferen Stielzellen sich ähnlich dunkel färbt, wie sonst nur die kurze oberste Endzelle (Fig. 18 a). Tiefschwarz färben sich sofort die gelben Drüsenzellen selbst, so daß man auf einen fettigen Inhalt schließen muß.

Könnte noch ein Zweifel bestehen, daß die oben besprochenen schwarzen Pseudokerne der Rindenzellen von *Monotropa* und *Orobancha* nichts mit dem eigentlichen Zellkern zu tun haben, so würde er durch den Befund der gleichen schwarzen Kugeln in einzelnen Stielzellen der Drüsen beseitigt, wo die Verhältnisse infolge der Durchsichtigkeit, und da es sich nur um eine einzige Reihe von Zellen handelt, überaus klar liegen (Fig. 18). Man erkennt in jedem solchen Falle neben dem Lipoïdkörper den wirklichen, ganz anders gestalteten Kern immer sehr deutlich. Er erscheint manchmal blaßgelblich gefärbt, zuweilen aber auch ziemlich stark gedunkelt und manchmal selbst schwärzlich, ist aber immer durch seine Spindelform leicht zu unterscheiden. Ich habe in den Stielzellen der Drüsen oft zwei schwarze Lipoïdkörper oder

auch eine noch größere Zahl gesehen (bis zu 8; Fig. 18 c), neben denen dann noch zahlreiche kleine schwarze Tröpfchen oder Körnchen im Zellinhalt zerstreut liegen. Da solche mit Osmium sich schwärzende Tropfen auch den Schließzellen der Spaltöffnungen nicht fehlen, so kann man wohl sagen, daß fast alle Zellen der genannten parasitischen Pflanzen ungewöhnlich reich an Lipoïdsubstanzen sind. Da dieselben als nahezu chlorophyllfrei gelten können — *Orobanche* enthält im Stengelparenchym spärliche blaßgrünlichgelb gefärbte Chloroplasten und ziemlich reichlich große Stärkekörner — und bei den grünen Pflanzen es hauptsächlich die Chlorophyllkörner sind, welche sich durch ihren Reichtum an Lipoïden (Lezithin) auszeichnen, so macht es fast den Eindruck, als ob in Fällen, wo das Chlorophyll fehlt, das Plasma dementsprechend reicher an solchen Substanzen wird. Ob dem wirklich so ist, müssen weitere Untersuchungen zeigen.

Soweit es das von mir gesammelte Material zuließ, habe ich mich bemüht, auch makrochemisch wenigstens das Vorhandensein von Lezithin, als dem zur Zeit best charakterisierten Phosphatid nachzuweisen. Es standen mir dazu 50 g trockener Pflanzen (*Monotropa*) zur Verfügung. Die möglichst fein zerkleinerte Masse stellt ein ganz schwarzes Pulver dar, welches etwa drei Monate unter Alkohol stand, der sich dabei allmählich dunkelbraun gefärbt hatte. Es wurde dann nochmals mit heißem Alkohol ausgezogen und die alkoholische Lösung auf dem Wasserbad bei 40° C bis zur Sirupkonzistenz eingeeengt. Es bildeten sich an der Oberfläche bräunliche Krusten und auch in der Flüssigkeit entstand ein trübender Niederschlag. Bei der mikroskopischen Untersuchung fanden sich zahllose stark lichtbrechende Kugeln, sowie typische Myelinformen nebst Rosetten von Kristallnadeln, die wie Fettsäuren aussahen und sich wie die Tropfenbildungen mit Osmium sofort schwärzten. Der ganze Rückstand wurde nun mit einem Gemische von Alkohol und Äther ausgezogen, wobei ein unlöslicher dunkelbrauner Rest zurückblieb. Das Filtrat wurde wieder bei mäßiger Temperatur verdampft, der Rückstand abermals mit Äther aufgenommen, zur weiteren Reinigung mit Wasser und Kochsalzkristallen mehrmals stark ausgeschüttelt (vgl. Zeitschr. f. physiol. Chem. 1891, XV, pag. 405), im Scheidetrichter vom braungefärbten Wasser getrennt und die ätherische Lösung wieder verdampft. Dabei kam es dann zu reichlicher Ausscheidung stark lichtbrechender, meist warziger Kugeln und Kugelaggregate, die sich mit Osmium intensiv schwärzten. Eine Probe davon wird mit Salpetermischung verrieben und in der Platinschale verbrannt, der Rückstand in verdünnter  $\text{HNO}_3$  gelöst, gekocht und mit Ammonium-



molybdat auf  $H_3PO_4$  geprüft: Reichlicher gelber Niederschlag. Zur weiteren Identifizierung wurde nach dem von Hoppe-Seyler angegebenen Verfahren die Lezithinmasse eine Stunde mit gesättigtem Barytwasser gekocht, wobei ein dunkelbrauner unlöslicher Rückstand zurückblieb. Die noch immer bräunlich gefärbte Lösung wurde abfiltriert und durch Kohlensäure gefällt. Das Filtrat, auf dem Wasserbad eingedampft, enthält nun das Cholin und die Glycerinphosphorsäure. Das erstere wird mit Alkohol aufgenommen und mit Platinchlorid in alkoholischer Lösung gefällt. Dabei schied sich das Doppelsalz in Form kleiner hellgelber Oktaeder (z. T. auch als gelbe Tröpfchen) ab. Der Rückstand, welcher die in Alkohol unlösliche Glycerinphosphorsäure enthält, wurde in Wasser gelöst, filtriert und auf dem Wasserbad eingedampft. Der noch etwas feuchte Rückstand mit Salpetermischung verbrannt, in verdünnter Salpetersäure gelöst und mit Ammoniummolybdat versetzt, lieferte reichlichen gelben Niederschlag. Es kann also nicht bezweifelt werden, daß die Gewebe von *Monotropa* reichlich Lezithin oder, wie man bei der noch sehr mangelhaften Kenntnis pflanzlicher Phosphatide wohl richtiger sagen müßte, lezithinartige Substanzen enthalten. 50 g des trockenen Ausgangsmaterials hatten nicht weniger als 2,5 g noch unreines Rohlezithin geliefert. Dabei muß aber berücksichtigt werden, daß die mit Alkohol erschöpfte Pflanzenmasse bei längerem (4 Wochen) Stehen unter Äther an diesen noch reichlich Stoffe von gleichem Charakter abgab. Im Rückstand des ätherischen Extraktes fanden sich neben den charakteristisch stark lichtbrechenden Kugeln auch noch blaßgelbe feinfaserige Rosetten einer offenbar anderen ätherlöslichen Substanz, ferner gelblichgraue Kristalldrüsen von spießig blättrigem Bau. Aber auch jetzt enthielt die mit Alkohol und Äther extrahierte Pflanzenmasse noch immer reichlich Lipoide. Um diese zu gewinnen, wurde nach einem für Bakterien erprobten Verfahren (vgl. Zeitsch. f. phys. Chem. 1913, 87, pag. 91) eine völlige Zerstörung der Struktur auf chemischem Wege bewirkt. Die schwarzbraune Masse von Pflanzenteilen wurde zunächst mit einer Mischung von zwei Teilen konzentrierter Schwefelsäure und einem Teil Wasser in einer Reibschale gut verrieben, wobei eine schwarze salbenartige Masse entstand, die mit Wasser ausgewaschen und dann mit 25%iger Schwefelsäure 12 Stunden gekocht wurde. Der beim Filtrieren verbleibende Rückstand wurde am Filter mit Wasser bis zum Verschwinden der sauren Reaktion ausgewaschen und abgepreßt und mit Alkohol übergossen. Dieser färbte sich sehr bald bräunlich und hinterließ



beim Abdunsten einen Rückstand aus stark lichtbrechenden Tropfen und Fäden, die vielfach zu Häutchen verbunden waren und sich mit Osmium sofort intensiv schwärzten. Auch dieser Rückstand ergab beim Verbrennen mit Salpetermischung Phosphorsäurereaktion und bestand demnach wohl in der Hauptsache aus Phosphatiden.

Wenn diese Ergebnisse auch dringend einer weiteren eingehenderen Untersuchung bedürfen, so dürfen sie doch immerhin als eine erwünschte Bestätigung der Schlußfolgerungen gelten, zu denen das auffallende mikrochemische Verhalten der Gewebszellen von *Orobancha* und *Monotropa* führt.

### Erklärung der Figuren auf Tafel IV u. V.

- Fig. 1. Zellen aus einer Stengelschuppe von *Monotropa* nach Plasmolyse durch Kochsalzlösung. Der eine der gelbgefärbten stark lichtbrechenden Plasmaballen beginnt sich zu vakuolisieren.
- Fig. 2. Eine plasmolysierte Zelle nach dem Eintauchen in heiße Kochsalzlösung. Man sieht stark lichtbrechende Myelinfiguren und einen dunkelgelben, wahrscheinlich den Kern einschließenden Pfropfen.
- Fig. 3 *a, b* u. *c*. Plasmolysierte Zellen nach 24stündiger Einwirkung der Kochsalzlösung (vgl. Textbeschreibung).
- Fig. 4. Eine mit Glyzerin plasmolysierte Zelle nach 48 Stunden. Die stark lichtbrechende gelb gefärbte Substanz hat sich teils um den Kern gesammelt, teils bildet sie eine dünne Rindenschicht der vakuolisierten Plasmamasse.
- Fig. 5. (*a*) Schuppenzelle nach kurzer Behandlung mit Eau de Javelle. Der gesamte Zellinhalt hat sich zu einer großen gelben stark lichtbrechenden Kugel zusammengezogen. (*b*) Eine ebensolche Zelle mit Ausscheidung von zwei gelben Tropfen aus dem z. T. noch erhaltenen Inhalt.
- Fig. 6. Schuppenzelle mit Eau de Javelle behandelt. Bildung eines klumpigen Inthaltkörpers, der vom Rande her sich zu vakuolisieren beginnt.
- Fig. 7. Zwei Schuppenzellen nach Behandlung mit Eau de Javelle. (*a*) zeigt den zentralen Tropfen von einer Plasmahülle mit Kern umschlossen. (*b*) die letztere nach Verschwinden des Tropfens.
- Fig. 8. Zwei Schuppenzellen nach Einwirkung einer Chloroformlösung. Bildung stark lichtbrechender Tropfen im Zellinhalt, die sich zu „Myelinfiguren“ verbinden.
- Fig. 9. Eine Stengelschuppe von *Monotropa* nach Osmiumbehandlung bei Lupenvergrößerung.
- Fig. 10 *a, b, c, d*. Schuppenzellen mit Osmiumsäure behandelt.
- Fig. 11. Tangentialer Längsschnitt durch das Rindenparenchym des Stengels von *Monotropa* mit Osmium behandelt.
- Fig. 12. Ein Teil der Fig. 11 stärker vergrößert.

- Fig. 13. Eine mit Osmium behandelte Bindeparchymzelle von *Orobanch*e mit mehreren Lipoïdkörpern und daneben einem deutlichen Zellkern (*n*).
- Fig. 14. Eine ebensolche Zelle mit 2—3 und 4 geteilten Lipoïdkörpern und einem Körnerhaufen.
- Fig. 15. (*a*) Eine ebensolche Zelle mit einem größeren Lipoïdkörper und sehr zahlreichen kleinen schwarzen Tröpfchen. (*b*) Eine Blattzelle von *Elodea*, Eau de Javelle-Osmium.
- Fig. 16. Epidermiszellen des Stengels von *Orobanch*e nach Behandlung mit Osmium (vgl. Textbeschreibung).
- Fig. 17. Ebensolche Zellen mit in schrägen Reihen geordneten geschwärzten Granulis- und Körnchenhaufen.
- Fig. 18. (*a*) Eine gestielte Drüse von *Orobanch*e mit Osmium behandelt. Das Köpfchen tief schwarz, außerdem ist auch die Halszelle sowie deren Kern stark gedunkelt und ebenso die mittlere Stielzelle, die neben dem Kern einen Lipoïdkörper enthält. (*b*) Eine Stielzelle mit drei Lipoïdkörpern und einem deutlichen Kern, der, wie auch das Plasmanetzwerk, stark gedunkelt erscheint. (*c*) Stielzelle mit mehreren Lipoïdkörpern.
-

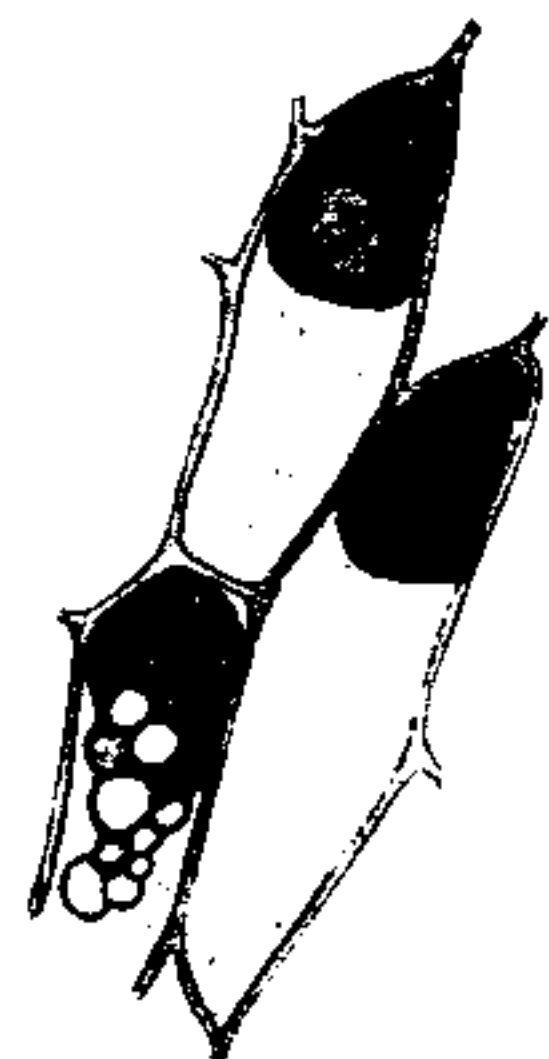


Fig. 1.

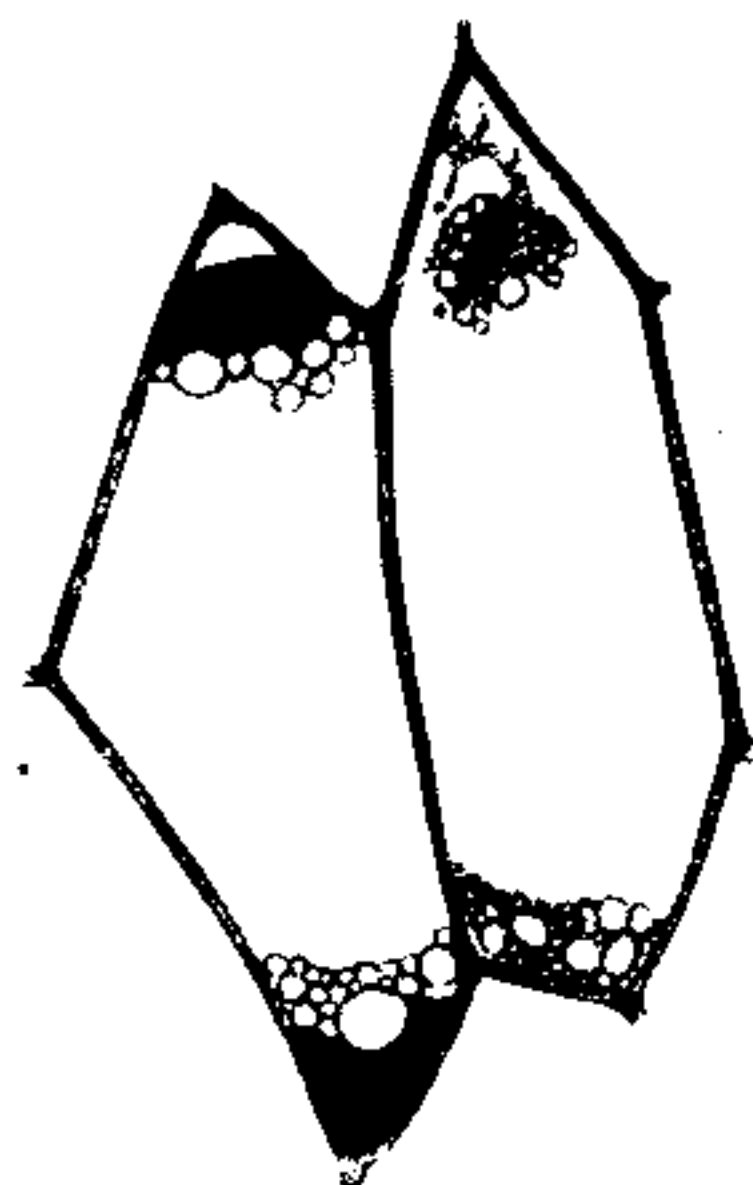


Fig. 3a.

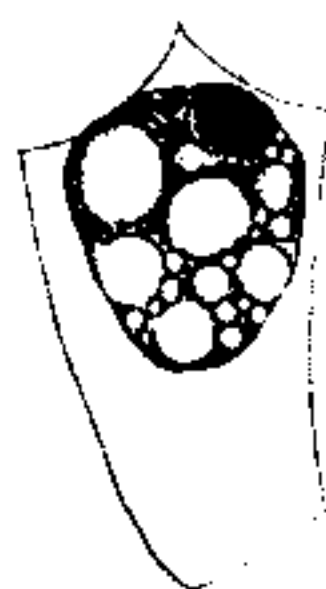


Fig. 4.

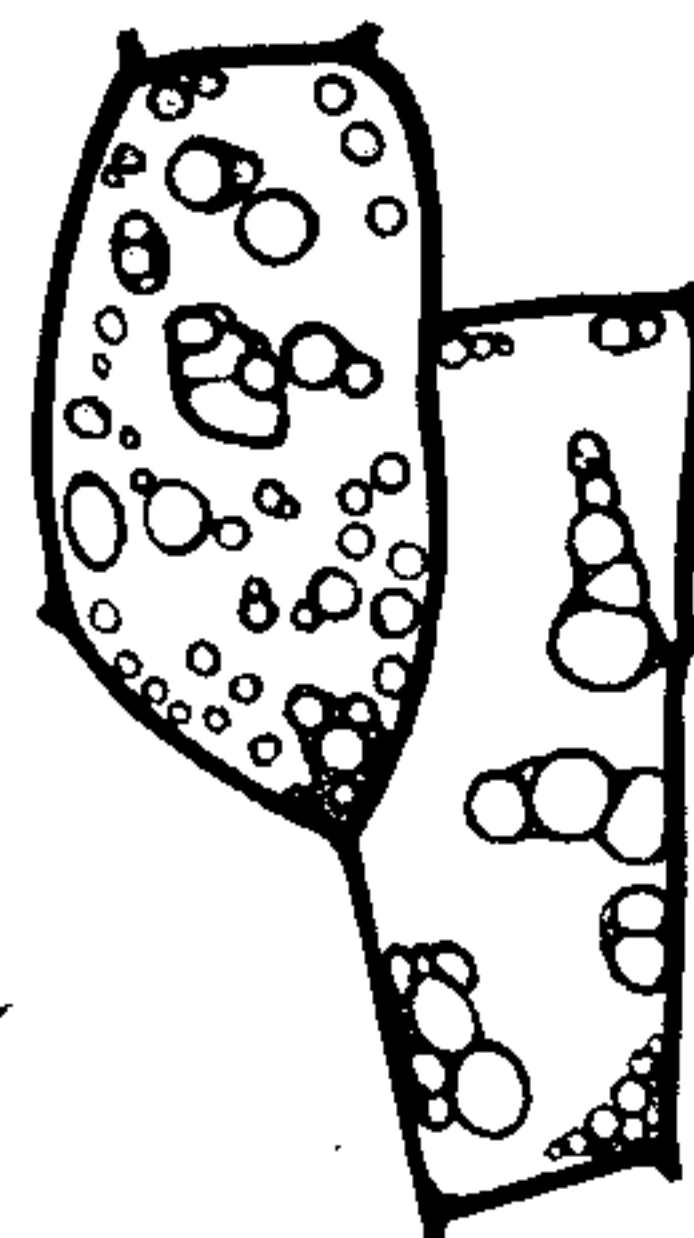


Fig. 8a.



Fig. 8b.



Fig. 9.



Fig. 2.



Fig. 3b.



Fig. 3c.

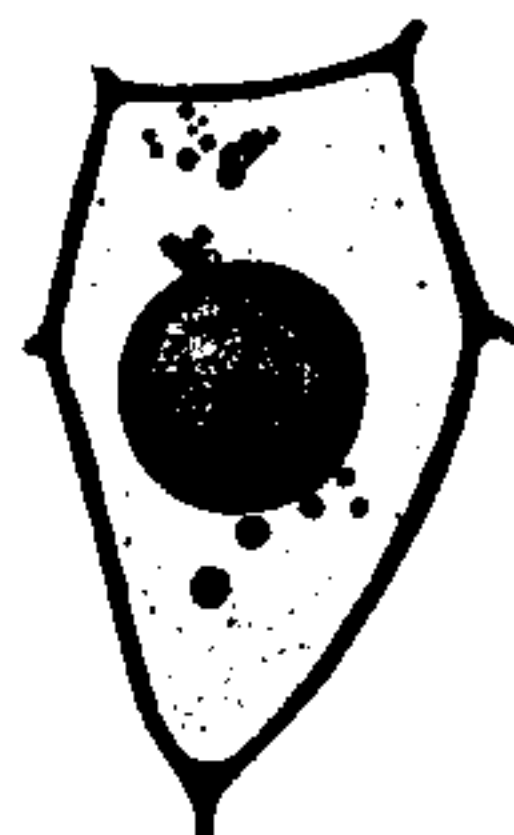


Fig. 5a.



Fig. 5b.



Fig. 10c.

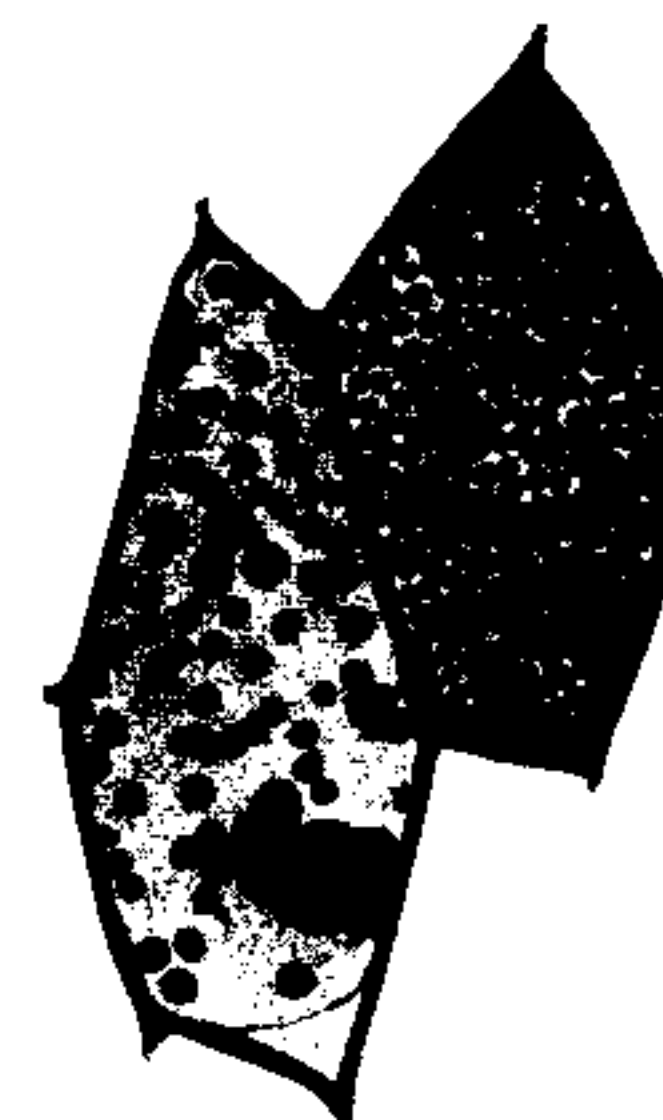


Fig. 10b.



Fig. 10a.



Fig. 6.



Fig. 7.

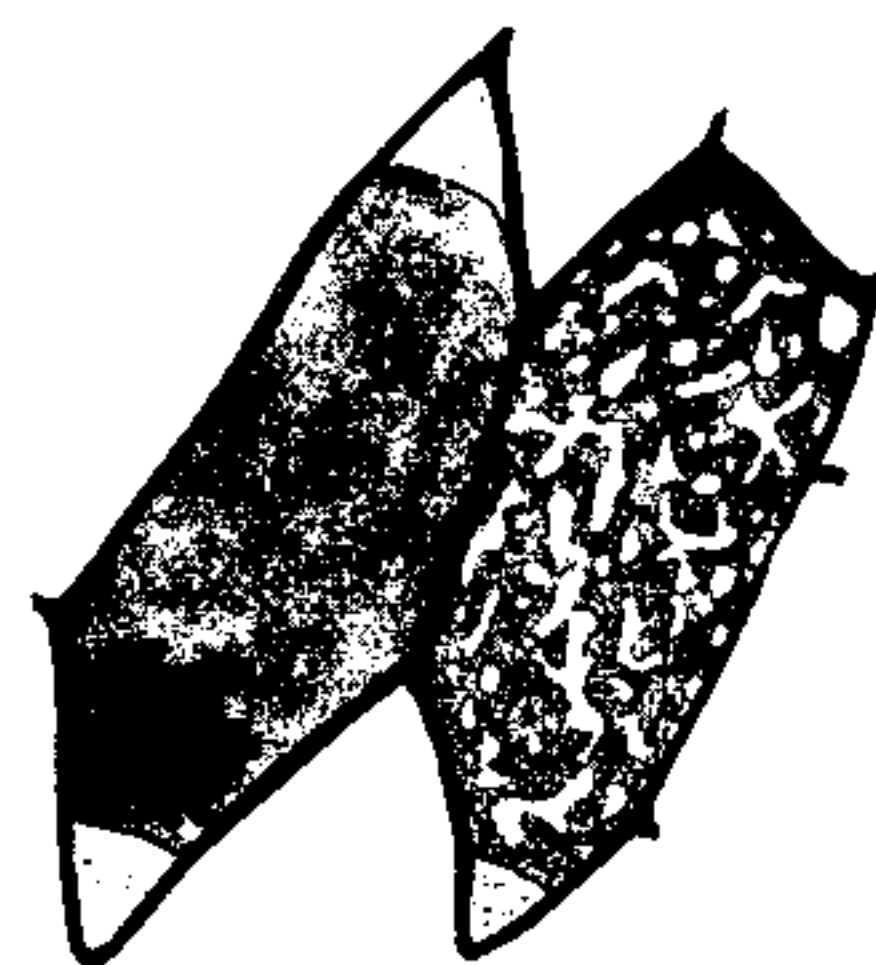


Fig. 10d.



Fig. 11.

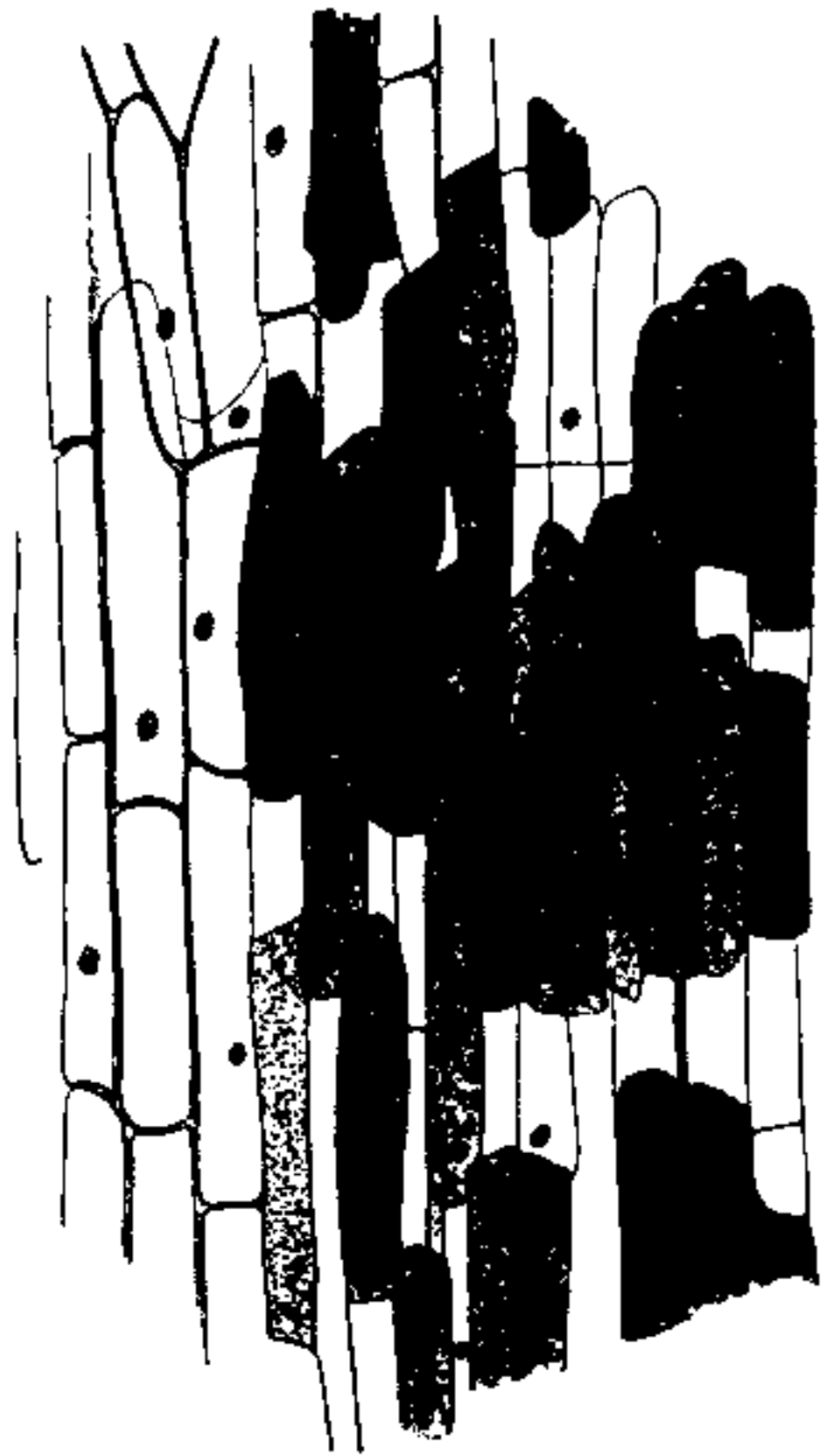


Fig. 12.

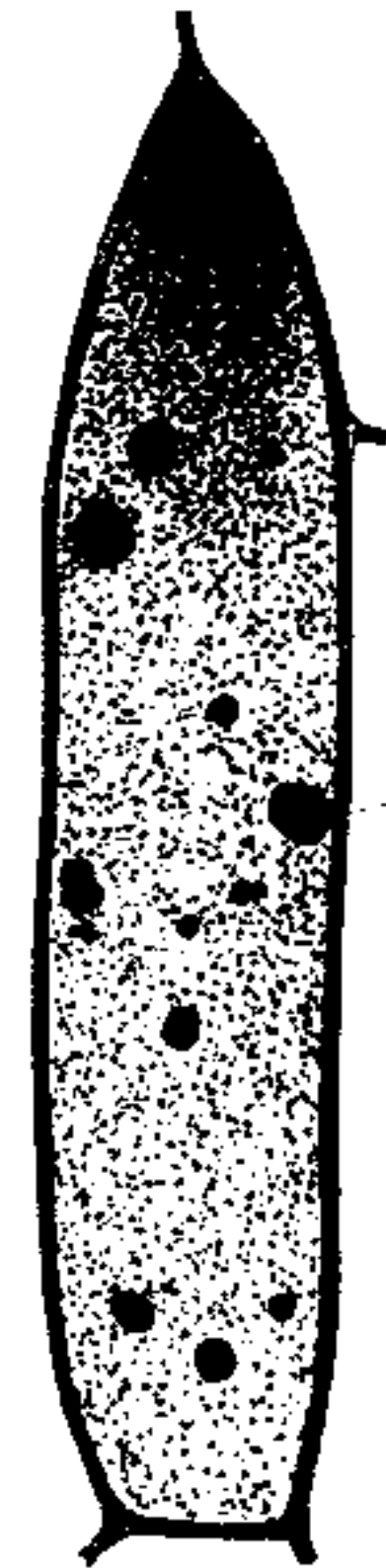


Fig. 13.

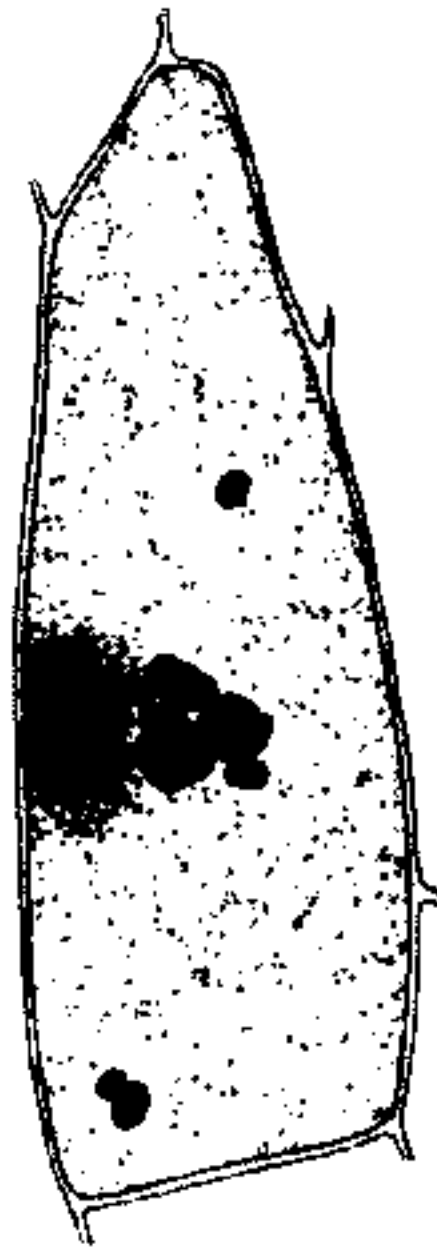


Fig. 14.

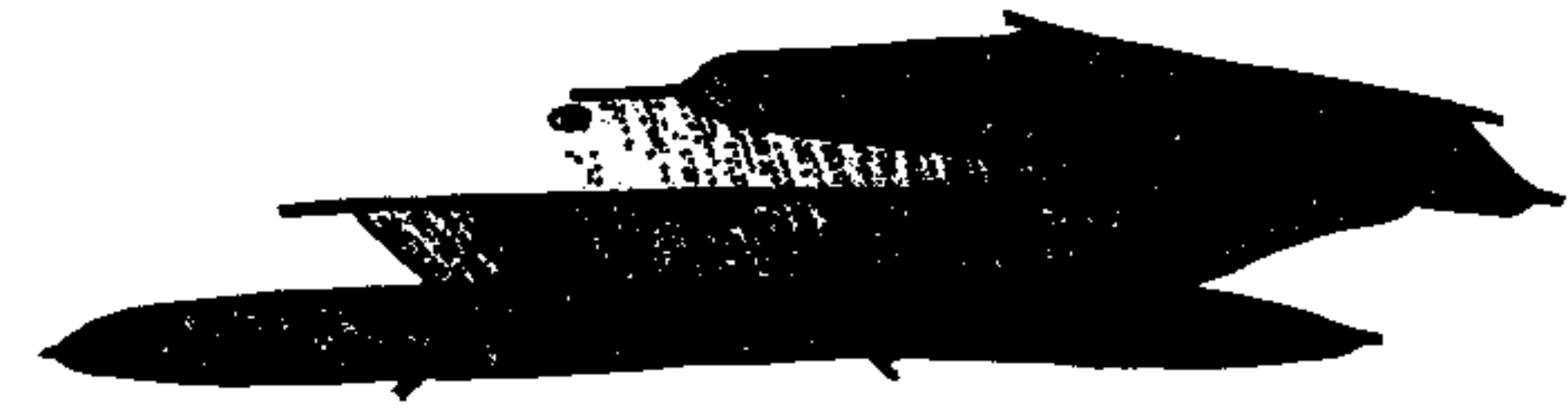


Fig. 17.



Fig. 15a.

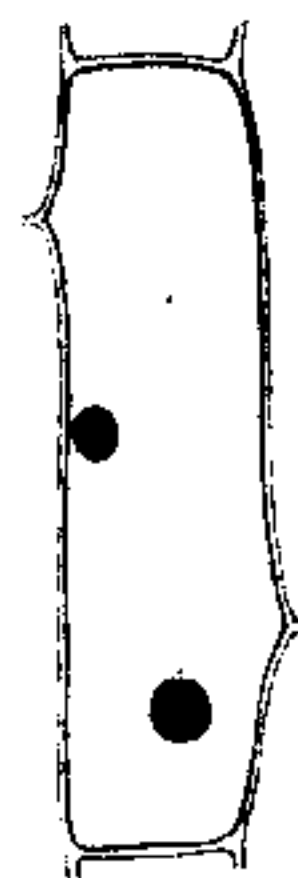


Fig. 15b.



Fig. 16.

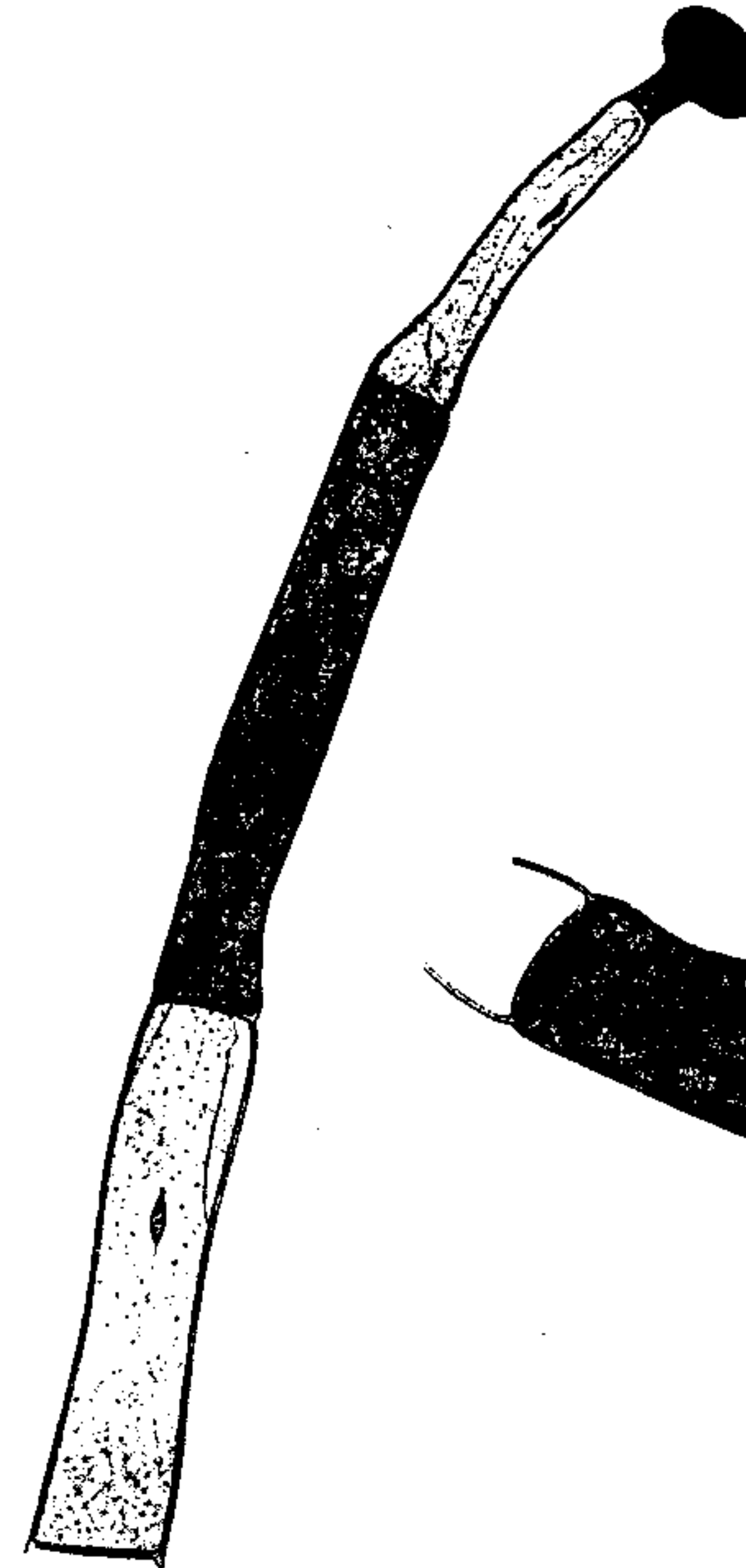


Fig. 18a.

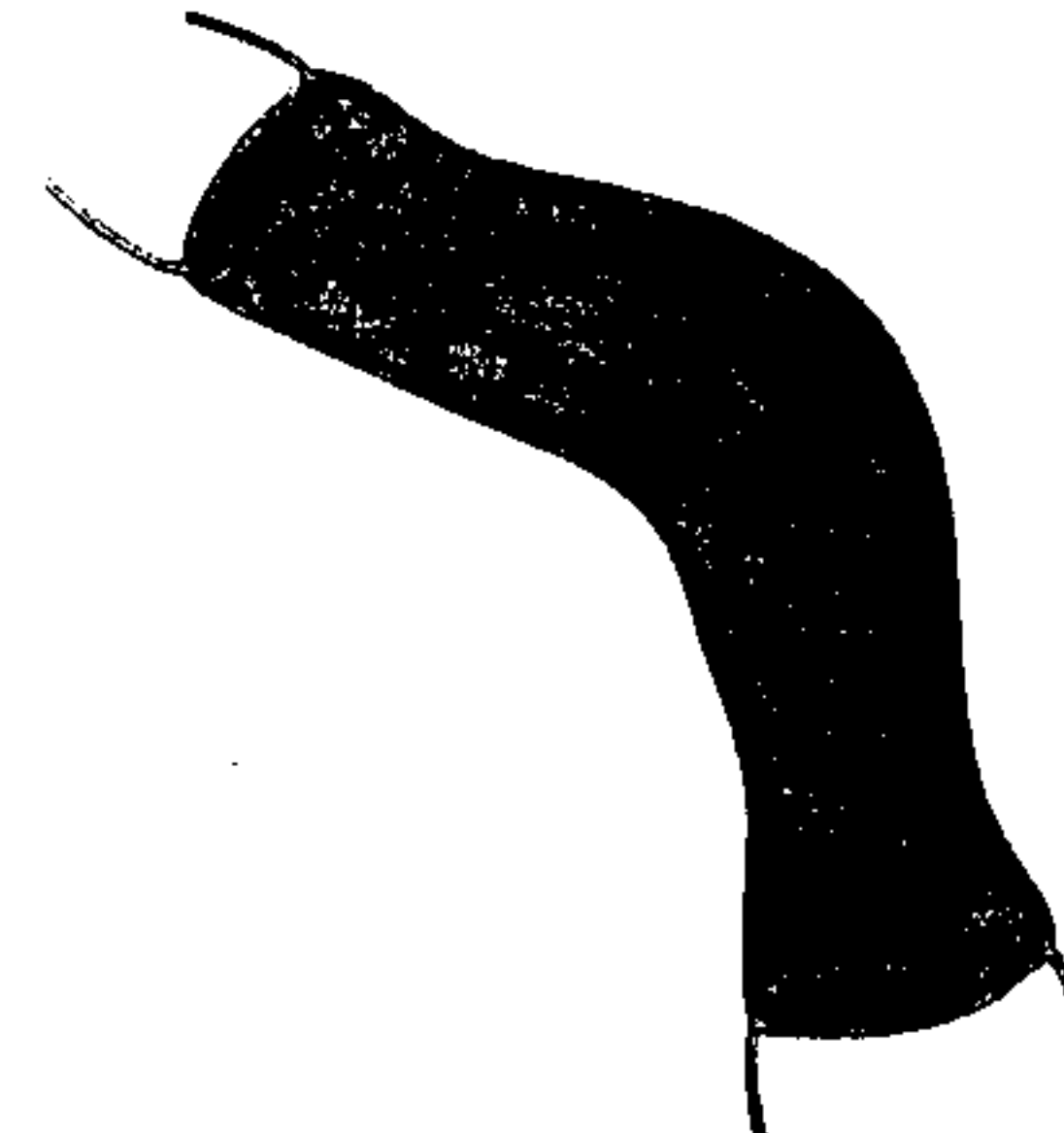


Fig. 18b.



Fig. 18c.



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

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Flora oder Allgemeine Botanische Zeitung](#)

Jahr/Year: 1920

Band/Volume: [113](#)

Autor(en)/Author(s): Biedermann Wilhelm

Artikel/Article: [Der Lipoidgehalt des Plasmas bei Monotropa hypopitys und Orobanche \(speciosa\) 133-154](#)