Histochemische Untersuchungen verholzter Membranen.

Ein Beitrag zur Physiologie der Gewebe-Metamorphose

von

Robert Hegler.

(Hierzu Tafel II.)

Von chemischer sowohl als physiologischer Seite versuchte man des Oefteren der Frage über das Wesen der Verholzung pflanzlicher Gewebe näher zu treten, ohne dass es bis jetzt gelungen wäre, eine auch nur einigermassen befriedigende Erklärung des Verholzungsprocesses zu geben.

Bei dem heutigen Stand der Frage bilden, insbesonders für den Physiologen, die histochemischen Reactionen, soweit solche bei verholzten Membranen in Betracht kommen, das wichtigste Moment, und es bedarf wohl nur dieses Hinweises, um eine kurze Wiederholung der verschiedenen, allerdings schon öfter besprochenen Reactionen zu rechtfertigen, ehe ich zu einigen neuen specifisch verschiedenen übergehe.

I. Schon Hugo v. Mohl[1]) hatte aus dem Ausbleiben der Cellulosereaction mit Jod und Schwefelsäure oder Chlorzinkjod geschlossen, dass neben Cellulose noch verschiedene andere organischen Stoffe im pflanzlichen Gewebe vorkommen, welche die genannte Cellulosereaction sowie die Löslichkeit in Kupferoxydamoniak aufheben und die dann später von Payen als »inkrustirende Substanz«, als »Holzsubstanz« bezeichnet wurden. Der Nachweis eines verholzten Gewebes wurde also einerseits durch das negative Resultat der Cellulose-Reaktionen, andererseits durch Gelbfärbung mit dem aus der Praxis der Papierfabrikation herübergekommenen Kaliumhydroxyd geliefert. Da letzteres jedoch die Eigenschaft besitzt noch andere als verholzte Membranen gelb zu färben, so ist es als ein grosses Verdienst Wiesner's zu verzeichnen, in den Salzen des Anilins, Naphtalidins, Toluidins u. a., deren Eigenschaft einen Fichtenspahn gelb zu färben schon Runge und Hoffmann zur Identitätsreaktion auf dieselben benützten, und speciell im schwefelsauren Anilin vorzügliche positive Holzreagentien gefunden zu haben.

Im Jahre 1877 machte dann v. Höhnel die interessante Beobachtung, dass sich verholzte Membranen mit Phenol und Salzsäure oder mit Kirschholzextractlösung und Salzsäure in charakteristischer Weise stark färben, und zwar in ersterem Falle blau, in letzterem rothviolett. Er bezeichnete die im Kirschholzextracte wirksame Substanz, deren

---

1) Bezüglich der älteren Litteratur verweise ich auf Sachsse, die Chemie und Physiologie der Farbstoffe etc., Leipzig 1877, und Behrens, Hilfsbuch z. Ausführ. Mikroscop. Untersuch., Braunschweig 1883.

Universitätsbibliothek Regensburg

urn:nbn:de:bvb:355-ubr05168-0035-8

chemische Identificirung ihm nicht gelang, Xylophilin. Wiederum war es Wiesner, der zeigte, dass das Xylophilin Höhnel's ein Gemenge von Phloroglucin und Brenzkatechin sei, und der dann das Phloroglucin in Verbindung mit Salzsäure als sehr empfindliches Holzreagens in die botanische Mikrochemie einführte. Ausserdem wurden dann noch im Pyrrol, Scatol [1]) und Indol [2]) specifische Holzreagentien entdeckt, die sich aber, abgesehen vom hohen Preise, ihrer leichten Zersetzlichkeit und ihres schlechten Geruchs halber nicht empfehlen. Im Orcin [3]), Resorcin [4]) und Carbazol [1]) fand man ebenfalls brauchbare Holzreagentien, die weiter unten vergleichend besprochen werden.

Was die Hand in Hand gehende Förderung der rein chemischen Seite [5]) der Frage betrifft, so ist hier in erster Linie die Arbeit Singer's [6]) zu erwähnen, der den Nachweis von Vanillin und Coniferin in der Membran als zweier constanter Begleiter verholzter Gewebe führte [7]).

Mit dem Auffinden dieser beiden Stoffe in den verholzten Membranen hatte man den Schlüssel zu den verschiedenen Reactionen auf »verholzte Gewebe«, die nicht Reagentien auf das hypothetische Lignin, sondern auf die beiden oben erwähnten, constant in sämmtlichen verholzten Membranen vorkommenden Verbindungen sind, und bei deren Eintreten man rückwärts auf Vorliegen eines verholzten Gewebes zu schliessen berechtigt ist.

Während meiner im vergangenen Winter im botanischen Institute zu München ausgeführten Untersuchungen über die Verholzung pflanzlicher

---

1) O. Mattirolo; in Zeitschrift f. wiss. Mikroscop. II. p. 354 ff.

2) Ueber Indol vgl. auch Behrens l. c. p. 290.

3) cf. A. Ihl, Ueber neue empfindliche Holzstoff- u. Cellulose-Reactionen (Chem.-Ztg. 1885 p. 266); cf. hiezu auch Zeitschrift f. wiss. Microscop. II. p. 359.

4) Wiesner in Sitzungsber. der Wiener Akad. Bd. 77. Jg. 1878.

5) F. Tiemann, Ber. d. Deutsch. chem. Gesellschaft Bd. VII p. 608, Bd. VIII p. 1115, 1123, 1127, 1140, Bd. IX S. 52. — F. Bente, Ber. d. d. chem. Gesellsch. Bd. VIII p. 476. — E. Fremy, in Compt. rend. Bd. 83 p. 1136. — A. Stakmann, Studien über die Zusammensetzung des Holzes. Inaug.-Diss. Dorpat. — Th. Thomsen, in Journ. f. pract. Chem., N. F., Bd. 19 S. 146—168. — E. O. v. Lippmann, Ber. d. d. chem. Ges. Bd. XVIII p. 3335; ferner Jahrg. 1883 p. 44–48. — W. Gardiner, in Proceedings Cambridge Phil. Soc., Vol. V Part II p. 87–107. — E. Bevan, Pharm. Journ. Transact. III. p. 570—573. — N. Schuppe, Beiträge zur Chemie des Holzgewebes. Inaug.-Diss. Dorpat. — Seliwanoff, in Ber. d. russ. phys.-chem. Ges. 1887 u. 1889. — R. Sachsse, Chemie u. Physiol. d. Kohlehydrate etc. Leipzig 1877. — Kabsch, in Pringsheims Jahrbüchern Bd. III.

6) Max Singer, Beiträge zur näheren Kenntniss der Holzsubstanz etc. Sitz.-Ber. d. Wiener Akad. Bd. 85.

7) In neuester Zeit hat E. Nickel in Botan. Centralbl. Bd. XXXVIII p. 753 ff. das Vorhandensein von Vanillin in der verholzten Membran bestritten. Auf die Arbeit selbst komme ich unten zu sprechen.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05168-0036-4

Gewebe fand ich im Thallin [1]) ein neues specifisch eigenthümliches Reagens. Auf Grund dieser Untersuchungen, die sich neben der Beobachtung der Entstehungsart metamorphosirter Gewebe hauptsächlich auch auf vergleichende Erhebungen über die Art der Einwirkung der verschiedenen Reagentien sowohl auf verholzte Membranen, als auch auf Vanillin und Coniferin und Mischungen beider erstreckten, kam ich zu dem Resultate, dass die bekannten Reagentien sich in drei Hauptgruppen theilen lassen, und zwar

I. in solche, die nur mit Vanillin, nicht mit Coniferin reagiren: Thallin.

II. in solche, die nur mit Coniferin, nicht mit Vanillin reagiren: Phenolsalzsäure; Thymolsalzsäure.

III. in solche, die sowohl mit Vanillin als auch mit Coniferin Farbenreactionen liefern: sämmtliche andern Holzreagentien.

Der Umstand, dass Thallin nur mit Vanillin allein reagirt, dürfte für die entwickelungsgeschichtliche Seite der Verholzungsfrage von Bedeutung sein und ich möchte desshalb über diesen Körper sowie über die Reaction einiges vorausschicken, ehe ich zur vergleichenden Besprechung der andern Holzreactionen übergehe.

II. Thallin [2]) ein Holzreagens. Zum Nachweis verholzter Gewebe benutze ich eine conc. Lösung des schwefelsauren Salzes dieser Base in einer Mischung aus gleichen Theilen Alkohol und Wasser; die Schnitte werden zuerst in reinen Alkohol gebracht und dann in einem Uhrschälchen mit der Reagenslösung einige Zeit in Berührung gelassen. Je länger diese Einwirkung des Reagenses dauert, desto schöner und intensiver tritt die dunkelorangegelbe Färbung der verholzten Zellwände hervor, während die Cellulose- und Korkmembranen völlig ungefärbt bleiben. Hierbei ist zu bemerken, dass schon Scraup in seiner Arbeit über das Thallin [3]) sagt: ». . . . Durch Belichtung wird dieses sowie die andern Thallinsalze — wenn sie nicht absolut rein sind — schwach rosa gefärbt.« Diese Färbung nimmt in der wässrigen Lösung noch zu und es empfiehlt sich desshalb wenig Lösung (die ja bei der leichten Löslichkeit des Thallins rasch bereitet ist) vorräthig zu halten [4]), sowie dieselbe in rauchbraunen Gläsern vor Licht geschützt aufzubewahren. Der Holz-

1) R. Hegler »Thallin ein neues Holzreagens« (Vorläuf. Mitth.) in Sitzungsber. des bot. Vereins in München. Bot. Centralblatt, Bd. XXXVIII, S. 616 ff.

2) Thallin (Tetrahydro-*p*-chinanisol) = $C_9 H_6 NO CH_3 H_4$, das schwefelsaure Salz = $(C_{10} H_{13} NO)_2 . H_2 SO_4 + 2 H_2 O$. Ueber die chemische Litteratur desselben siehe Scraup, Wiener Akad. Ber., II. Abth., Bd. 92, S. 789 ff.

3) H. Scraup l. c. p. 791.

4) Bei seltenerem Gebrauch des Reagenses empfiehlt es sich, die Reagenslösung durch Auflösen einiger Körnchen Thallins in einigen Tropfen wässrigen Alkohols in einem Uhrschälchen frisch zu bereiten, und in dieses dann die zu untersuchenden Schnitte einzutragen.

Universitätsbibliothek Regensburg urn:nbn:de:bvb:355-ubr05168-0037-0

reaction thut ein derartiges Präparat keinen Eintrag, sondern es besitzt nur die Eigenschaft, die Cellulose- und Korkpartien ebenfalls schwach rosa zu färben, wogegen die verholzten Membranen sich ebenso intensiv orangegelb tingiren, wie zuvor. Bei dem Gebrauch des Thallinsulfats ist die lästige Anwendung einer freien Säure umgangen. Die mit dem Reagens behandelten Schnitte, deren verholzte Theile wie gesagt orangegelb gefärbt sind [1]), verblassen selbst bei mehrmonatlicher Aufbewahrung nicht merklich, ein Vorzug, der den andern Reactionen, zum Theil sogar vollständig, abgeht. Die tingirten Schnitte lassen sich entweder im Reagens selbst oder in Glycerin betrachten; behufs Herstellung von Dauerpräparaten benützt man am zweckmässigsten Glyceringelatine.

Das Verhalten des Thallins zu Kork- und Cellulose-Membranen wurde schon oben als ein negatives bezeichnet, und es blieb zu weiterer Untersuchung übrig, das Verhalten desselben zu andern reagirfähigen im pflanzlichen Organismus vorkommenden Körpern wie z. B. organischen Säuren, Glycosiden, Gerbstoffen etc. und insbesondere gegenüber Phloroglucin zu studiren, eine Untersuchung, deren Ergebniss zu Gunsten der Thallinreaction ausfiel, welche durch die genannten Stoffe in keiner Weise beeinträchtigt wird.

Was nun den chemischen Verlauf der Thallinreaction anlangt, so möchte ich zunächst nochmals auf das obenerwähnte, schon von Singer als constanter Bestandtheil aller verholzten Membranen angesprochene Vanillin zurückkommen. Es fragte sich nun, ob dieser im Pflanzenreiche so ausserordentlich verbreitete aromatische Aldehyd ebenso, wie von Singer rücksichtlich der Phloroglucinreaction nachgewiesen war, auch die Reaction mit Thallin bedinge und welche Einwirkung das ebenfalls in der verholzten Zellwand vorkommende Coniferin auf diese Reaction auszuüben vermag.

Zu diesem Zwecke stellte ich Versuche mit festem Vanillin und Coniferin sowie mit Lösungen beider und ausserdem mit Baumwolle an, die ich mit der betreffenden Lösung imprägnirt und getrocknet hatte [2]). Löst man krystallisirtes Vanillin in etwas verdünntem Alkohol, versetzt mit einer wässrigen Thallinsulfatlösung und schüttelt dann mit Chloroform aus, so erhält man beim Verdunsten der Chloroformschicht einen goldorangegelben ölartigen Körper, der nach einiger Zeit in krystallinischen Schüppchen erstarrt [3]). Dieselben Krystalle erhält man auch mikrochemisch durch Zusammenbringen kleiner Vanillinkryställchen, wie dieselben durch

1) cf. Tafel: Fig. 6.

2) Bei verdünnten Lösungen bewährt sich das Verfahren, die Reaction auf Baumwolle oder holzfreiem Filtrirpapier vorzunehmen, sehr gut und ich werde unten hierauf zurückkommen.

3) Ueber das auf andere Weise rein dargestellte Reactionsproduct sowie über den optischen Vergleich desselben und der mit Thallin behandelten Holzmembran behalte ich mir vor nach Vollendung der diesbezüglichen Arbeiten a. a. O. zu berichten.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05168-0038-5

Verdunsten eines Tropfens einer conc. alkoholischen Lösung auf dem Objectträger erzeugt werden, mit einem Tropfen einer Lösung von Thallinsulfat in wasserhaltigem Alkohol, und man sieht hierbei ganz deutlich, wie die Vanillinkrystalle zuerst von einer goldgelben Schicht umgeben werden, die dann beim Verdunsten des Lösungsmittels krystallinisch erstarrt. Mit Coniferin lässt sich dagegen weder auf makro- noch mikrochemischem Wege, weder in fester Form noch in Lösung oder auf Baumwollfaser eine Farbenreaction durch Thallin erzielen und es besitzt demnach das Thallin die Eigenschaft wohl mit Vanillin, nicht aber mit Coniferin zu reagiren.

Bei der Bestimmung der Schärfe und Intensität der Reaction folgte ich einem andern Princip als Wiesner und Singer[1]) bei der Phloroglucinreaction, da es meinen Erfahrungen nach bei mikrochemischen Reactionen nicht nur auf den procentischen Gehalt der betreffenden Lösung an Reagens als vielmehr auf den absoluten ankommt; beispielsweise ist es nicht gleich, ob zu einer Reaction 10 cc einer 0,1 procentigen Lösung mit einem Gehalte von 0,01 gr Reagens verwendet werden oder 1 cc derselben Lösung mit einem Gehalte von 0,001 gr. Aus diesem Grunde wurde 1 cc einer 0,1 procentigen Lösung enthaltend 0,001 gr Thallinsulfat in einem Uhrschälchen mit einigen Quer- und Längsschnitten von Fichtenholz zusammengebracht, die sofort die Reaction zeigten und zwar um so stärker, je länger die Einwirkung dauerte. Hiermit war aber die äusserste Grenze der Reaction keineswegs erreicht, es zeigten vielmehr 0,5 cc einer 0,01 procentigen Lösung einem Thallingehalte von 0,00005 gr entsprechend noch deutliche Reaction.

Das Thallin ist somit ein ausserordentlich empfindliches Reagens auf verholzte Gewebe, deren Membranen sich zufolge ihres Vanillin-Gehaltes intensiv orangegelb färben. Das Reagens hat den Vorzug leichter Herstellung und Haltbarkeit mikroskopischer Präparate ohne Anwendung einer Säure und ist durch die Eigenschaft, mit Coniferin keine Farbenreaction zu geben, ausgezeichnet, eine Eigenschaft, die, wie sich unten zeigen wird, von hervorragender Bedeutung ist für die entwicklungsgeschichtliche Forschung auf dem Gebiete der Verholzung pflanzlicher Gewebe.

III. Toluilendiamin ein zweites neues Reagens. Anlässlich meiner Holzuntersuchungen suchte ich durch Vergleich der verschiedenen Reagentien neue Anhaltspunkte über den Gang der Holzreactionen, insbesonders theoretischer Art, zu gewinnen; dass ich hierbei nicht bei den bisher gekannten Reactionen stehen blieb, sondern auch noch andere Stoffe, von denen ich voraussetzte, dass dieselben mit gewissen Atomcom-

1) Wiesner, Ueber das Verhalten des Phloroglucins etc. l. c. S. 5. — Singer, l. c. S. 358 (S. 14 des S.-A.)

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05168-0039-4

plexen in Reaction treten, mit in die Untersuchung hineinzog, war naheliegend. So waren die Versuche insofern von Erfolg gekrönt, als eben im Thallin ein neues, von den bisher gekannten specifisch verschiedenes Reagens gefunden wurde. Wenn ich nun ein zweites Reagens zu mikrochemischen Zwecken empfehle, so gehe ich dabei nicht von dem Gesichtspunkte aus, als ob eine numerische Bereicherung der ohnedies zahlreichen Holzreagentien ein besonderes Verdienst wäre, sondern werde hierbei vielmehr von der Anschauung geleitet, dass jedes neue Holzreagens durch sein Verhalten zu chemischen Individuen ausserhalb der Membran Rückschlüsse auf den Vorgang innerhalb der Membran und die Zusammensetzung der Membranbestandtheile und Zellhauteinschlüsse erlaubt und dass hieraus für weitere Untersuchungen Vortheile praktischer wie theoretischer Art gewonnen werden.

Schon Wiesner hat auf die Salze des Naphtalidins und Toluidins aufmerksam gemacht, und es wurden, was ersteres anlangt, im α- und β-Naphtylamin [1]) zwei Reagentien gefunden, von denen insbesonders die β-Verbindung ein ausgezeichnetes, schon öfter angewandtes [2]) Reagens bildet; als Repräsentant des letzteren und zugleich der Diamine möchte ich dem Toluilendiamin [$C_6H_3(CH_3)(NH_2)_2$] einen Platz unter den Ligninreagentien eingeräumt wissen. Das Reagens [3]) wird in conc. wässriger Lösung mit etwas Salzsäure versetzt angewandt. Es färbt die verholzte Membran dunkelorangefarben, eine Reaction, die diejenige des Anilins und Naphtylamins an Farbenintensität und Haltbarkeit weit übertrifft. Die Reaction tritt auch bei ganz schwacher Verholzung mit Sicherheit auf und hält sich auch bei längerer Belichtung sehr gut. Bei Anfertigung von Dauerpräparaten verwendet man hier ebenfalls am zweckmässigsten Glyceringelatine oder Glycerin, doch muss man die Schnitte vorher längere Zeit mit dem Reagens in einem Uhrschälchen in Berührung lassen und dann vor dem Einlegen in Glycerin oder die Gelatine durch Betupfen mit Fliesspapier von dem anhängenden Reagens befreien. Das Toluilendiamin reagirt sowohl mit Vanillin als mit Coniferin.

IV. Behufs Erproben der beiden neuen Reactionen wurde eine Anzahl Schnitte aus verschiedenen Pflanzenfamilien mit den Reagentien behandelt, von denen einige auszugsweise folgen; hauptsächlich handelte es sich dabei um Feststellung eines etwaigen Unterschiedes zwischen den mit Thallin und den mit Toluilendiamin oder Phloroglucin und Salzsäure hergestellten Präparaten.

---

1) $C_{10}H_7.NH_2$.

2) C. O. Harz (Bot. Centralblatt Bd. XXIV. 1885): »Ueber das Vorkommen von Lignin in Pilzen etc.

3) Die gewöhnlich käufliche μ-Verbindung.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05168-0040-5

A. Pteridophyta [1]):

1. *Polypod. crassifol.* Sw.: Hypoderm, Xylem, äusserster Theil des Grundgewebes verholzt [2]).
2. *Polypod. aureum*: Hypoderm, Xylem, Grundgewebe (nach innen abnehmend) verholzt.
3. *Aspidium molle* Sw.: Epiderm [3]), Hypoderm verh., Xylem stark verh.
4. *Aspidium trifoliat.* Sw.: Hypoderm verh., Grundgewebe sehr schwach, Xylem stark verh.
5. *Davallia canariens.* Sw.: (Rhizom) nur Xylem verh.

B. Gymnospermae:

6. *Cycas revoluta*: Epiderm mit Hypoderm [4]), sclerenchymatische Elemente, Xylem stark verh., Grundgewebe schwach verh.[5]).
7. *Dioon edule Ldl.*: Epiderm, Sclerenchym, Hypoderm, Xylem stark, Grundgewebe schwach verh.
8. *Ceratozamia robusta*: wie 6 und 7, nur schwächer.
9. *Pinus Pinea L.* 5jähr.: Xylem mit Ausnahme der um die Harzgänge liegenden Zellschichten verh., Mark sehr stark verh.[6]).
10. *Pinus Mughus Scop.* 3jähr.: wie Nr. 9, nur Mark schwächer, stellenweise sogar gar nicht verholzt.
11. *Pinus excelsa* Wall. 8jähr.: wie Nr. 9. Mark überall verholzt.
12. *Pinus Cedrus L.* 9jähr.: im Phloëm zerstreut grosse runde stark verholzte Sclerenchymzellen, deren Verdickungsschichten mit Thallin sehr deutlich sind [7]), Xylem stark verh., Mark nicht, stellenweise schwach verh. (äusserste Borkenlage mit Phlorogl. stellenweise deutlich verholzt).

---

1) Es sind im Folgenden, wenn nicht ausdrücklich anders bemerkt, stets Quer- und Längsschnitte von Stamm resp. Stengel oder Zweig verstanden, die je mit Thallin, Toluilendiamin und Phloroglucin-Salzsäure behandelt wurden.

2) cf. Burgerstein, Untersuch. über das Vorkommen und die Entstehung des Holzstoffes etc. Sitzungsber. der Wiener Akad. Bd. LXX. I. Abth. (S. 14 des S.-A.)

3) Burgerstein gibt an, dass nach Dippel (das Mikroscop. Bd. II. S. 168 u. 169) das Hautgewebe »niemals« verholze. Dippel spricht an der citirten Stelle nur von Epiblem und Epithel, nicht aber von Epidermis, von welcher auch Niggl eine Verholzung nachweist. S. 175 sagt Dippel: »Bei denjenigen Pflanzen, wo die Zellstoffhüllen der Oberhautzellen zwar alle oder theilweise verholzen (Monocotylen, Cycadeen, Farn.), aber nicht alle vollständig verkorken, lässt man etc. . . .«

4) Cf. hierüber auch M. Niggl »Indol ein Reagens auf verholzte Membranen« in Flora Jahrg. 1881 (S. 10 des S.-A.).

5) Dippel (Das Mikroscop etc. 1869 II. Bd. S. 107) fand das Markparenchym der Cycasarten ebenfalls verholzt.

6) Dippel l. c. S. 107 fand das Holzparenchym und Mark der Gymnospermen und mehrjährigen Dicotyledonen ebenfalls verholzt.

7) Durch Thallin wird die Mittellamelle sowie die secundäre und tertiäre Membran sehr deutlich. cf. Tafel Fig. 6.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05168-0041-1

13. *Pinus Cembra L.* 10jähr.: Die im Rindenparenchym liegenden Balsamgänge nicht verholzt, ebenso die im Xylem liegenden Harzgänge. Xylem und Mark stark verh.
14. *Pinus Pumilio* Hahnke 5jähr.: Holz und Mark, nebst Bastfasern [1]) stark verholzt.
15. *Abies Engelmanni* Parr. 3jähr.: Holz und Mark sehr stark verholzt.
16. *Taxus baccata* 6jähr.: die unterhalb des äussersten Korkringes liegende Zelllage stellenweise deutlich verholzt, Xylem stark, Mark nicht verholzt.
17. *Taxus adpressa* Knight 5jähr.: Xylem stark, Mark nicht verholzt.
18. *Sciadopitys verticillata* Veitsch. 4jähr.: subepidermiale Rinde deutlich verholzt, Verdickungsring radial plattgedrückter ziemlich stark verholzter Zellen. Xylem stark, Mark nicht oder nur spurenweise verholzt.
19. *Wellingtonia gigantea* Lindl. 5jähr.: Verholzte Epidermis mit gleichfalls verholzter subepidermialer Sclerenchymschicht, Rindenparenchym nicht verholzt, aber mit stellenweise eingestreuten stark verholzten Sclerenchymzellen. Verdickungsring radial zusammengedrückter Zellen und Xylem verholzt. Mark sehr stark verholzt und ausserdem sehr verdickt.
20. *Thuja gigantea* 6jähr.: Verholzt primäre Rinde, im Phloëm die charakteristischen tangential gestreckten Zellen, Xylem und Mark sehr stark.
21. *Juniperus Sabina L.* 5jähr.: Verholzt sind Aussenrinde schwach, dann die reihenweise angeordneten verdickten Elemente sowie die Sclerenchymringe, Xylem und Mark stark.

C. Monocotyledones.

22. *Cyperus Papyrus L.*: verholzt Epidermis, Hypoderm [2]), Xylem, Hartbast, Schwammparenchym (insbesonders an den zusammenstossenden Ecken).
23. *Bambusa Simonii* Willd.: Grund- und Stranggewebe verholzt (Gefässe und Sclerenchym sehr stark).
24. *Chamaerops humilis L.* (Blattstiel quer): In allen Theilen mit Ausnahme des Weichbastes schwach, Xylem stark verholzt.
25. *Sobralia macrantha* Lindl: Alles verholzt mit Ausnahme des Weichbastes und der Epidermis.

---

1) Cf. Schacht, Lehrb. der Anatomie etc. Bd. II. S. 73.

2) Schacht sagt l. c. Bd. II. p. 43: »Die Rinde der Monocotyledonen besteht in der Regel aus Parenchym, das bisweilen hie und da, oft regelmässig, einen Kreis bildend oder in Gruppen geordnet, verholzt ist.«

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05168-0042-6

26. *Dendrobium chrysanthum* Wallich: Epidermis stark verholzt, dann nach innen abnehmend. Gefässbündel mit Ausnahme des Weichbastes stark verholzt.

D. Dicotyledones.

27. *Salix daphnoides* Will. 1jähr.: Hypoderm schwach, Sclerenchymzellen, Xylem mit stark verholzter Markscheide[1]) und Mark[2]) stark verholzt.
28. *Quercus robur L.* 3jähr.: Sclerenchym[3]), Bastfasern[4]), Xylem, Mark verholzt.
29. *Querc. penduncul.* Willd. 4jähr.: wie Querc. robur.
30. *Corylus Avellana L.* 2jähr.: Sclerenchym, Xylem, Mark verholzt[5]).
31. *Betula Alba L.* 7jähr.: Sclerenchym[3]), Xylem, Mark verholzt.
32. *Betula pubescens* Ehrh. 2jähr.: Sclerenchym und Xylem stark verh.
33. *Betula acuminata* 5jähr.: Sclerenchym und Mark stark, Xylem schwach verholzt.
34. *Alnus glutinosa L.* × *incana L.* 2jähr.: Sclerenchymring stark, Xylem und Mark schwach verholzt.
35. *Casuarina equisetifol.* Forst. 6jähr. Zweig: Sclerenchymat. Elemente stark, Holz schwach, Markparenchym schwach verholzt. — Blatt: schwach verholzte Epidermis, primäres Rindenparenchym schwach, Sclerenchym und Xylem stark verholzt.
36. *Maclura aurantiaca* Nutt. 2jähr.: Mark, Xylem stark verholzt.
37. *Buxus sempervirens L. arborescens* 4jähr.: Aussenrinde, Xylem, Mark stark verholzt.
38. *Phyllanthus epiphyllanthus L.*: Xylem stark verholzt, Bast nicht oder nur spurenweise (primäre Zellwand).
39. *Tetranthera javanica* Sw. 3jähr.: Sclerenchymring stark, Xylem und Mark schwach, die mehrzelligen Haare[6]) ebenfalls stark verholzt.
40. *Syringa vulgaris var. albiflor. L.* 2jähr.: Sclerenchym, Xylem stark, Mark schwach verholzt.
41. *Sambucus racemos. L.* 2jähr.: Aussenrinde schwach, Xylem, Hartbast, Mark stark verholzt.
42. *Sambucus niger L.* 2jähr.: wie racemosus.

---

1) Der Theil des Xylems, welcher das centrale Mark umgibt und welchen man als Markscheide bezeichnet, ist in vielen Fällen auffallend stark verholzt.

2) Schacht sagt l. c. p. 51: »Die Parenchymzellen des Mark sind nicht selten in älteren Pflanzentheilen dickwandig und verholzt.

3) Cf. Dippel l. c. Bd. II. p. 111 und Burgerstein l. c. S. 14.

4) Cf. ibidem p. 120 ff.; Burgerstein l. c. p. 11 u. 12.

5) Cf. Burgerstein l. c. p. 13.

6) Ueber die Verholzung von Trichomen siehe Niggl l. c. S. 8 ff.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05168-0043-2

43. *Eucalyptus globulus* 1jähr.: Xylem und die innerhalb desselben liegenden sclerenchymatösen Partien mit deutlich verholzten Mittellamellen, Hartbast verholzt, Epidermis schwach verholzt.
44. *Ribes rubrum L.* 2jähr.: Nur Xylem verholzt, Mark nicht verholzt.
45. *Prunus spinosa L.* 5jähr: Sclerenchymatische Elemente und Xylem stark, Mark schwach verholzt.
46. *Prunus sibirica L.* 6jähr.: wie Prunus spinosa, nur das Sclerenchym schwach verholzt.
47. *Acacia falcata* Willd. 4jähr.: Verholzt der im Rindenparenchym liegende Sclerenchymmantel, Xylem und Mark stark.
48. *Acacia longifolia* Willd. 5jähr.: ebenso, nur in allen Theilen schwächer.
49. *Serjania cuspidata*: Sclerenchymring schwach, Xylem stark, Mark nicht verholzt, die an drei Ecken stehenden Trichome[1]) stark verholzt.
50. *Serjania grammatophora* Rdlk.: Sclerenchym, Xylem, Mark stark verholzt, Trichome stellenweise schwach.

Aus dem Umstande, dass Toluilendiamin sowie Phloroglucin HCl mit Coniferin und Vanillin, das Thallin hingegen nur mit letzterem reagirt, erklären sich auch verschiedene Unterschiede zwischen Schnitten gleicher Stammhöhe, die einerseits mit Phloroglucin und Toluilendiamin, andererseits mit Thallin behandelt wurden. Der Unterschied kommt dadurch zu Stande, dass Zellpartien, welche Coniferin in hervorragender Menge enthalten, bei der Thallinreaction zufolge ihres relativ geringeren Vanillingehaltes als »schwach verholzt« angesprochen werden müssen, während man bei der Phloroglucin- oder Toluilendiamin-Reaction, bei der sich zur Reaction des Vanillins noch die des Coniferins addirt, gezwungen sein wird, die betreffende Gewebepartie als mehr oder weniger »stark verholzt« zu bezeichnen. Bei denjenigen Pflanzen, deren Gewebe eine relativ grössere Quantität Vanillin enthält, ist die Reaction mit Thallin so intensiv, dass ein Unterschied zwischen diesem und den anderen Reagentien, die ausserdem noch mit dem vorhandenen Coniferin reagiren, nicht mehr so stark auffällt.

Auf die Unterschiede im Speciellen, von denen ich als besonders deutlich ausser den Coniferen, Betula pubescens, Bet. alba, Quercus robur, Querc. pedunculata, Corylus Avellana aufführen möchte, komme ich nach Abschluss der diesbezüglichen Untersuchungen a. a. O. zurück und gehe nun über zur

V. Vergleichung der Holzreagentien. Schon oben wurde der Beweis erbracht, dass das krystallisirte Vanillin die Fähigkeit besitzt, mit Thallin eine Reaction hervorzurufen, die mit der durch dasselbe Reagens innerhalb der Membran erzielten, was Farbe anlangt, vollständig

1) Cf. Anmerk. zu Nr. 39.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05168-0044-8

übereinstimmt, wobei also ein Unterschied, wie er in der That von Singer rücksichtlich der Reaction mit Phloroglucin resp. Resorcin H_2SO_4 beobachtet worden ist, nicht zu bemerken war. Singer[1]) sagt darüber: »Doch kann nicht verschwiegen werden, dass die Färbungen, welche die Vereinigung des reinen Vanillins mit den Holzstoffreagentien zur Folge hat, nicht immer genau mit jenen übereinstimmen, welche diese Reagentien in der verholzten Membran, oder in dem wässerigen Holzextracte erzeugen. So gibt Vanillin mit Phloroglucin und Schwefelsäure eine ziegelrothe, mit Resorcin und derselben Säure eine zinnoberrothe Färbung, während verholzte Gewebe von dem ersteren Reagens roth bis violett von dem letzteren, je nach dem die Säure in geringerer oder grösserer Menge vorhanden, bald violett, bald violettroth gefärbt werden. Die Reactionen aber, welche Phloroglucin und Salzsäure, Anilin, Pyrol, Indol unter Assistenz der zugehörigen Säuren hervorrufen, sind sowohl beim reinen Vanillin als in den verholzten Geweben identisch.« Aus dem Umstande, dass die Färbungen derjenigen Reactionen, die für Vanillin und Coniferin ähnlich oder gleich sind, wie Phloroglucin HCl, Anilin, Pyrol und Indol, auch bei Vanillin und verholzten Membranen gleich ausfallen, sowie aus der Thatsache, dass die Färbungen des nur mit Vanillin reagirenden Thallins bei der Reaction mit krystallisirtem Vanillin und Holzmembranen ebenfalls gleich sind, glaubte ich ableiten zu dürfen, dass, abgesehen von andern Zellhauteinschlüssen, insbesondere das Coniferin es ist, das die Färbungen der betreffenden Reactionen zu modificiren vermag. Gestützt wird diese Anschauung, dass das Coniferin die wesentliche Ursache der Veränderung beider Reactionen sei, durch zwei einfache Versuche, die aus folgender Tabelle ersichtlich sind:

	Vanillin-Watte.	Vanillin-Coniferin-Watte [2]).	Coniferin-Watte.	Verholzte Membranen.
Phloroglucin + H_2SO_4	orangeroth mit schwachem Stich ins rothviolett.	rothviolett bis violettpurpur.	violett bis violettpurpur.	roth bis violett.
Resorcin + H_2SO_4	zinnoberroth.	rothviolett bis violettroth.	violett bis violettroth.	violettroth bis violett [3]).

1) Sitzungsber. der Wiener Akademie Bd. LXXXV. p. 351 (S. 7 des S.-A.).

2) Baumwolle, die mit einer Mischung gleicher Theile Coniferin und Vanillin getränkt und getrocknet wurde (im folgenden als »Normalwatte ε« bezeichnet).

3) Bei der Bezeichnungsweise der Mischfarben setze ich denjenigen Theil voran, welcher die Art der Färbung mehr bestimmt, z. B. heisst »rothviolett bis violettroth, dass die Färbung von einem »roth«, das einige »violette Strahlen besitzt, zu einem »violett« mit einigen »rothen« Strahlen, also von einem »rothviolett« (mit vorherrschend rother Farbennuance) zu einem »violettroth« (mit vorherrschend violetter Färbung) geht.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05168-0045-4

Wie man sieht, entspricht also die Färbung der Coniferin-Vanillin-Watte derjenigen, wie sie die verholzte Membran zeigt. Bezüglich der letzteren ist es ja bekannt, dass die Farbennuance nicht nur bei verschiedenen Pflanzen verschieden ist, sondern dass selbst an ein und derselben Pflanze Schnitte verschiedener Stammhöhe und Verholzungsgrades auch untereinander abweichende Reactionen liefern, die allerdings nur innerhalb gewisser Grenzen variiren, was wiederum ein Wahrscheinlichkeitsbeweis für den Einfluss des Coniferins auf die Ligninreactionen sein dürfte [1]). Ausserdem ist nicht ausgeschlossen, dass neben Coniferin auch noch andere Bestandtheile verholzter Membranen eine Modification der Farbenreactionen des Vanillins herbeiführen können; ob diese Substanzen nun ihrerseits mit Vanillin in einem gewissen Verwandtschaftsgrade stehen [2]), oder etwa zufolge ihrer Natur als aromatische Aldehyde ähnliche Beziehungen ergeben, bleibt bis jetzt noch dahingestellt.

Jedenfalls scheint es mir nicht gerechtfertigt, wegen verschiedener Färbung der Reactionen mit krystallisirtem Vanillin und mit verholzter Membran bei zwei Reagentien überhaupt an der Identität beider Reactionen und dem Vorkommen von Vanillin in der verholzten Membran zu zweifeln und aus den Ligninreactionen nur das Vorhandensein eines aromatischen Aldehyd's im Allgemeinen ableiten zu wollen. Nickel sagt hierüber [3]): »Ich glaube, ich bin der Erste gewesen [4]), welcher auf Grund umfassender Studien über die Farbenreactionen der organischen Verbindungen die Ansicht ausgesprochen hat, dass es gegenwärtig noch nicht gerechtfertigt sei, die sog. Ligninreactionen einer bestimmten chemischen Verbindung zuzuschreiben, dass man sie aber bereits sehr wohl allgemein auf aldehydartige Bestandtheile des Holzes beziehen dürfe. Meine Auffassung unterscheidet sich eben dadurch von der älteren, von Singer ausgesprochenen Anschauung, nach welcher bekanntlich die Ligninreactionen mit Hülfe von Anilinsulfat, Phloroglucin, Indol u. s. w. auf einem Vanillingehalt des Holzes beruhen sollen.«

Eine Hauptstütze für seine Anschauung findet Nickel ausser in dem von mir schon oben klar gelegten Punkte von der Verschiedenheit der Reactionen innerhalb und ausserhalb der Membran, in der »geringen Empfindlichkeit des Vanillins gegen die Ligninreagentien im Gegensatz zu

---

1) Hierbei ist von dem Umstande noch ganz abgesehen, dass bei jeder Farbenreaction das Substrat, auf welchem dieselbe vorgenommen wird, immerhin einen Einfluss auf den Ton der Farbe ausübt und denselben beispielsweise durch theilweise Absorbtion von Strahlen bestimmter Brechbarkeit zu modificiren vermag.

2) In neuerer Zeit will Ihl (Chemiker-Ztg. 1889, Nr. 27 p. 432) das Eugenol als Bestandtheil verholzter Zellmembranen angenommeu wissen, da dasselbe mit Phloroglucin und Anilin ähnliche Reactionen liefert.

3) E. Nickel, l. c. S. 754.

4) Nickel, Chemiker-Ztg. 1887. IX. 1520.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05168-0046-0

der Singer'schen Deutung der Ligninreactionen, die gerade das Gegentheil vermuthen liesse.« Nickel fand als Empfindlichkeitsgrenze zwischen Vanillin und Anilin eine Lösung von 1/8 % Vanillin, während Phenole (Phloroglucin etc.) noch weniger empfindlich seien.

Nach meinen Versuchsresultaten lässt sich Vanillin in einer Lösung von 1/12 % durch Phloroglucin noch mit aller Bestimmtheit nachweisen. Hiermit ist aber die Reactionsgrenze keineswegs erreicht und ich werde zeigen, dass es nur auf die eingeschlagene Methode ankommt. Einen Hauptpunkt bildet die Herstellung solcher oder wenigstens möglichst ähnlicher Reactionsbedingungen, wie sie die verholzte Membran zeigt. Vorgreifend habe ich schon oben bemerkt, dass ich mich bei histochemischen Reactionen zu diesem Zwecke der Substrate bediene. Als solche benützte ich früher Wolle, Seide und besonders Baumwolle, später verschaffte ich mir jedoch sog. »Holzstoff« aus verschiedenen Fabriken und in verschiedenen Graden der Verarbeitung mit genauem Nachweis der betreffenden Stammpflanze. Einige Sorten zeigten noch die intensivste Vanillinreaction, andere nur noch ganz schwach und fünf Sorten derselben, dünne, durch hydraulische Pressen hergestellte, verfilzte Platten, zeigten keine Spur einer Vanillinreaction mehr.

Bringt man nun auf eine Probe jeder dieser fünf Sorten einen Tropfen einer 1 %igen Vanillinlösung (= 0,0004 gr Vanillin cr.), lässt abtrocknen, fügt einen Tropfen Phloroglucinlösung und nach dem Verdunsten einen Tropfen Salzsäure zu und vergleicht dann diese Reaction mit einer solchen ohne Substrat oder einer solchen auf Baumwolle ausgeführten, so findet man, dass die Reaction auf Holzstoff um ein mehrfaches intensiver auftritt. Besonders geeignet hierzu waren zwei Sorten, die eine mit der Fabrikbezeichnung »Natron-Cellulose« von Weiss- und Rothtanne abstammend, die andere sog. »Leinen« von Hanf und Flachs. Erstere Sorte zeigte mit einer Mischung gleicher Theile Vanillin und Coniferin gekocht nach Zusatz von Phloroglucin und Salzsäure eine Farbennuance, die vollständig mit der durch Phloroglucin an Stammquerschnitten hervorgebrachten übereinstimmt.

Auf diese Weise lassen sich, wenn der Versuch mit aller Vorsicht auf möglichst wenig Substrat im Uhrschälchen ausgeführt wird, sogar Hundertstelsmilligramme noch mit Sicherheit nachweisen[1]), während es sich an den einzelnen Punkten, wo die Reaction noch mikroskopisch sichtbar ist, ja nur um die geringsten Spuren handeln kann.

Ob die Verstärkung der Reaction durch die pflanzliche Faser und die Anhäufung des Farbstoffes auf Flächenattraction, wie z. B. beim Ent-

1) Ein mit zwei Tropfen einer 1/10 procentigen Lösung [= 8/100 Milligramme Vanillin] imprägnirter Holzstoff zeigt mit Phloroglucin-Salzsäure eine rosenrothe, mit einem Körnchen Anilinsulfat und einem Tropfen derselben Säure eine gelbe Farbe.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05168-0047-5

färben gefärbter Flüssigkeiten durch poröse Holzkohle, oder auf eigenthümliche capillare Spannungsverhältnisse innerhalb derselben zurückzuführen ist, bleibt dahingestellt; jedenfalls besitzen, wie dies schon Wigand[1]) und v. Höhnel[2]) beobachtet haben, unter den pflanzlichen Membranen gerade die verholzten die stärkste Anziehung zu gelösten Stoffen aller Art, die ihnen höchst schwer wieder entzogen werden können, wovon man sich durch ein einfaches Experiment überzeugen kann:

Bringt man einige Längs- oder Querschnitte eines beliebigen Zweiges in einem Reagensrohr mit einigen Tropfen einer conc. Lösung eines Anilinfarbstoffes[3]) zusammen, fügt nun viel Wasser zu und kocht einige Male auf, so löst sich der Farbstoff, der zuvor von dem Schnitt ganz gleichmässig aufgenommen war, in den nicht verholzten Gewebetheilen heraus und nur die verholzten sowie die verkorkten Partien bleiben intensiv gefärbt, während die Cellulosemembranen völlig farblos erscheinen. Das gleiche Verhalten der Kork- und Holzmembranen gegen Pigmentlösungen ist um so bemerkenswerther, als sich auch beide gegen Jod gleich verhalten. Da durch Processe der erneuten Ein- und Zwischenlagerung die Abstände der einzelnen die ursprüngliche, nicht metamorphosirte Cellulosemembran zusammensetzenden Molekülgruppen (Tagmen)[4]) von einander bedeutend verringert werden, so muss auch nothwendig eine der geringeren Entfernung entsprechende stärkere Attractionskraft auf alle diese Zwischenräume passirenden Körper ausgeübt werden. Vielleicht liesse sich durch diese Erwägung das eigenthümliche Verhalten metamorphosirter Gewebe zu Stoffen wie Jod oder Anilinfarben, die mit so bedeutender Kraft eingelagert und festgehalten werden, erklären. Ein weiteres Beispiel für das Aufspeicherungsvermögen der Holzmembranen ist die grosse Kraft, mit welcher das in der Membran eingeschlossene Coniferin und Vanillin[5]) von derselben beim Kochen mit Wasser festgehalten werden, so dass dieselben sogar bei der Papierfabrikation durch den umständlichen Process des Kochens, Aufschlämmens, Waschens und Mahlens nicht vollständig herausgelöst werden.

An der Hand der beistehenden Tabelle kann man sich ein Bild von der Einwirkung der gebräuchlichsten Holzreagentien auf Vanillin und Coniferin machen; bezüglich der Farbe der Reaction ist zu bemerken, dass

---

1) Wigand »Ueber das Verhalten der Zellmembranen zu Pigmenten« (Bot. Ztg. 1862, Jg. 20, Nr. 17 p. 129 ff.) sagt: »Es ergibt sich, dass von allen Geweben die Bastzellen das stärkste Färbungsvermögen besitzen.

2) v. Höhnel, Histochemische Untersuchungen über das Xylophilin und das Coniferin. Wiener Berichte Bd. LXXVI, Jg. 1877 (S. 49 des S.-A.).

3) Am besten wird der Farbstoff in einer Mischung gleicher Theile Alkohol und Glycerin gelöst.

4) cf. Pfeffer, Osmotische Untersuchungen. p. 32 ff.

5) v. Höhnel l. c. p. 47 ff.; Singer l. c. p. 354.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05168-0048-1

Universitätsbibliothek Regensburg

	Coniferin.						
	a. trocken.	b. in Lösung.	c. trocken (krystall.)	d. in 1% Lösung (alkoh.)[1]).	e. in 10% Lösung.	f. Baumwolle mit 1% Lös. getränkt.	g. Baumwolle mit 10% Lös. getränkt.
1. Phloroglucin + HCl	roth gefärbt und sofort purpurroth gelöst.	weinroth.	ziegelroth, dann purpurroth mit Stich ins Violette.	schwach gelbroth.	hellroth mit Stich ins Violette.	schwach gelbroth.	violettroth mit Stich ins Rothgelbe.
2. Phloroglucin + H_2SO_4	violett bis violettpurpur.	violettpurpur.	orangeroth mit Stich in Rothviolett.	rothviolett.	rothviolett.	rothviolett.	rothviolett.
3. Anilinsulfat + HCl	sattgelb.	dunkelgelb.	hellgelb.	goldgelb.	sattes goldgelb.	gelb.	goldgelb.
4. α-Naphtylamin HCl	schwach gelb.	schmutzig graugelb.	schmutziggelb.	hellgelb (nach einiger Zeit).	goldgelb.	gelb.	goldgelb.
5. β-Naphtylamin HCl	gelb.	hellgelb.	goldgelb.	hellgelb.	goldgelb.	gelb.	goldgelb.
6. Resorcin + H_2SO_4	violett bis violettroth.	violettroth.	zinnoberroth.	gelbroth.	hellroth.	gelbroth.	hellroth.
7. Resorcin + HCl	nach 24 St. ganz schwach rosa.	—	violettroth.	schwachrosa.	violettroth.	schwach rosa.	violettroth.
8. Toluilendiamin HCl	hellgelb.	lichtgelb.	sattgelb.	hellgelb.	hellgelb.	gelb.	sattgelb.
9. Carbazol + HCl	nach 15 St. auf Watte nach dem Eintrocknen rein hellblau.	beim Eintrocknen grün bis schiefergrau.	schwach violettroth.	fleischrosa.	violettrosa.	hellrosa.	violettroth.
10. Orcin + HCl	nach 24 Stunden schwach rosa.	—	dunkelroth.	schwachrosa.	stark violettroth.	rosa.	violettroth.
11. Phenol + HCl (Sonnenlicht)	blau bis grünblau.	keine Reaction, dagegen mit Lösung auf Watte: blau.	keine React.	keine React.	keine React.	keine React.	keine React.
12. Thymol + HCl (Sonnenlicht)	blau bis blaugrün.	auf Watte blau bis grünblau.	keine React.	keine React.	keine React.	keine React.	keine React.
13. Thallinsulfat	keine React.	keine React.	goldgelb.	orangegelb.	orangegelb.	orangegelb.	orangegelb.

1) Zu den Versuchen d, e, f, g wurden stets 8 Tropfen einer alkoholischen 1- resp. 10-proc. Lösung mit einem Gehalte von ca. 0,0028 resp. 0,028 gr Vanillin verwendet.

urn:nbn:de:bvb:355-ubr05168-0049-9

dieselbe häufig von der Art und Menge der assistirenden Säure innerhalb der angegebenen kleinen Grenzen abhängig ist. Aus der Tabelle ist ferner ersichtlich, dass auf Baumwolle (Versuchsreihe *f* und *g*) die Reactionen durchweg stärker auftreten, als wenn nur Lösungen auf einander wirken; besonders deutlich sind die Unterschiede von 1*g*, 8*g*, 9*f* und *g*, 10*f*; und der zugehörigen Lösungen ohne Substrat 1*e*, 8*e*, 9*d* und *e*, 10*d*. Dass vanillinfreier Holzstoff sich hierzu noch besser eignet, wurde schon oben gezeigt.

Was die Reaction mit Thymol anlangt, so ist hier entgegen den Versuchen Molisch's [1]) zu bemerken, dass es bei chemisch reinem Vanillin selbst bei Zuhilfenahme des directen Sonnenlichtes nicht gelingt, eine Reaction zu erhalten.

Bezüglich des Phenols ist es interessant, dass die Nitrophenole (*o*- und *p*-Verbindung) keine Reaction geben. [2])

VI. Coniferin als constanter Begleiter verholzter Membranen. Was das Vorkommen von Coniferin in verholzten Membranen anlangt, so kann darüber nach den Untersuchungen von Thiemann und Haarmann [3]) kein Zweifel mehr herrschen. Diese beiden Forscher haben gezeigt, dass die Reaction auf Phenol mittelst eines mit Salzsäure benetzten Fichtenspahnes durch das Vorkommen des schon von Hartig [4]) aus dem Cambialsafte der Coniferen gewonnenen Coniferins im Fichtenholze bedingt sei. Sie zeigten, dass das rein dargestellte Coniferin beim Befeuchten mit Phenol und Salzsäure im direkten Sonnenlicht sich blau färbt. E. Tangl [5]), der die Reaction an anderen pflanzlichen Objecten versuchte, fand, dass dem Coniferin eine weit grössere Verbreitung zukomme. v. Höhnel [6]) vervollständigte dann diese Untersuchungen noch und gelangte zu dem Resultate, dass sich verholzte Membranen mit Phenol und Salzsäure unter Beihilfe des directen Sonnenlichtes stets blau oder blaugrün färben. Singer [7]) hat schliesslich gezeigt, dass durch achtzehn-

1) H. Molisch, Ein neues Coniferinreagens (Ber. der deutsch. bot. Ges. Bd. IV. S. 302) sagt: »Es zeigt, soweit meine Erfahrungen reichen, nur das Coniferin diese merkwürdige Beziehung zum Thymol, andere verwandte oder dem Coniferin fernstehende Körper aber nicht. Um nur ein Beispiel zu nennen, giebt das dem Coniferin so nahe stehende Vanillin die Reaction nicht, wohl aber giebt das letztere mit Thymol-HCl eine prachtvoll karminrothe Färbung.« cf. dagegen Tabelle Reihe 12.

2) Zum Zwecke mikrochemischer Reactionen untersuchte ich Ende des vorigen Jahres (1888) das Verhalten einer Reihe von Körpern zu verholzten Membranen, von denen anzunehmen war, dass sie mit gewissen Atomcomplexen in Reaction treten würden (Hydrochinon, Chinon, Chinolin, Nitrophenol, Phenylhydrazin, Antipyrin, Methyloxychinizin, Amarin, Chloranilin), ohne jedoch zu einem abgeschlossenen Resultate zu kommen.

3) Ueber diese Arbeiten siehe die Aufzählung der chemischen Literatur (S. 32.).

4) Hartig, Jahrbuch f. Förster. Jg. 1861, p. 264.

5) Vorläufige Mittheilung über das Coniferin. Flora 1874, p. 239.

6) v. Höhnel, l. c.

7) Singer, l. c. p. 354 und 360.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05168-0050-1

tägiges Kochen aus feingehobelten Fichtenspähnen alles Coniferin aus der Membran herausgelöst wird und in dem durch Abdampfen der Lösungen gewonnenen Extracte nachgewiesen werden kann.

Zwei Punkte allerdings fehlen in der Kette des stricten Beweises für das Vorkommen von Coniferin in der Membran; einmal, dass gerade das Cambium, diejenige Gewebepartie, aus welchem das Coniferin gewonnen wird und welches mithin dasselbe nachgewiesenermassen in grösserer Menge enthält, die so charakteristische Reaction mit Phenol- oder Thymol-Salzsäure nicht eingeht, und zweitens, dass es bis jetzt nicht gelang (oder vielleicht auch nicht versucht wurde), das Coniferin aus dem Holzgewebe chemisch rein darzustellen.

Bezüglich des ersteren Punktes ist zu bemerken, dass die analytische Chemie für das Verhalten des Cambiums eine zahlreiche Anzahl Analogien zeigt, alles Fälle, in denen ein Nachweis durch gleichzeitig vorhandene andere Körper unmöglich gemacht wird und speciell die verholzte Membran, deren bekanntermassen etwa die Hälfte betragender Celluloseantheil durch Jodreagentien erst nach Wegschaffung des verholzenden Princips, der »inkrustirenden Substanzen» Payen's, nachgewiesen werden kann, ist hierfür das schlagendste Beispiel [1]).

Es wird also die Reaction des im Cambialgewebe aufgespeicherten Coniferins entweder durch andere Körper (Eiweiss) verhindert oder aber könnte als zweite Möglichkeit das Coniferin im Bildungsgewebe, das höchstwahrscheinlich auch die Entstehungsstätte desselben ist, in anderer, die charakteristischen Reactionen des gewöhnlichen Coniferins nicht besitzender etwa polymerisirter Form vorhanden sein.

Für beide Anschauungsweisen sprechen eine Reihe von Versuchen, die ich im folgenden Abschnitte kritisch beleuchten möchte.

VII. Einfluss infiltrirter Stoffe auf die Reactionen normaler Zellwandbestandtheile. Versuch 1: Kocht man reine Baumwolle mit einer conc. Lösung gleicher Theile Vanillin und Coniferin und trocknet dieselbe, so färbt sich die so präparirte Watte auf dem Objectträger mit Jod und Schwefelsäure [2]) benetzt gelb bis hellbräunlich (an manchen Stellen sogar garnicht) und verändert diese Farbe selbst nach viermal 24 Stunden nicht (Fig. VIIa.), wogegen gewöhnliche Baumwolle, mit demselben Reagens ebenso behandelt, anfangs eine rothbraune bis violette Farbe annimmt, die später in Violettroth und nach

1) Cf. auch Sachsse l. c. p. 147.

2) Da es hier darauf ankommt, alle Objecte mit gleichen Mengen Jod und Schwefelsäure zu behandeln, so habe ich hier wie bei den folgenden Versuchen eine Reagenslösung angewandt, die durch Vermischen von 3 Vol. einer schwachen, hellbraunen Jodjodkaliumlösung mit 1 Vol. Schwefelsäure unter Abkühlen frisch hergestellt wurde. Gewöhnliche Baumwolle wird durch dieses Reagens anfangs tiefrothbraun, mit Stich ins rothviolett, später rothviolett, zuletzt violett gefärbt (Fig. VII *e*, *f*, *g*).

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05168-0051-6

Verlauf von 24 Stuuden in Violett mit Stich in Rothviolett übergeht. (Fig. VII *e*, *f*, *g*).

Versuch 2: Tränkt man Baumwolle mit 1 %iger Vanillinlösung, kocht auf, trocknet und infiltrirt dieselbe dann mit Eiweisslösung [1]), so zeigt die so behandelte Watte auf Zusatz von wässriger Phloroglucinlösung und Salzsäure, gegenüber einer gleichbehandelten Watte ohne Eiweiss, die charakteristische Vanillinreaction in schwächerem Maasse. Manche Fäden bleiben sogar farblos oder färben sich nur gelblich. Roth färbt sich meist nur das herausgelöste Vanillin; zu bemerken ist, dass der Farbenton sich von dem reiner Vanillinwatte unterscheidet, indem derselbe in Violettroth überspielt.

Mit Jod und Schwefelsäure färbt sich die so präparirte Vanillin-Eiweiss-Watte hellgelblich bis gelbbräunlich (Fig. VII *b*).

Versuch 3: Baumwolle mit kaltgesättigter Coniferinlösung (0,51 %) getränkt, aufgekocht und getrocknet und dann mit Eiweisslösung imbibirt [2]), zeigt nach abermaligem Trocknen auf Zusatz von Thymol-Salzsäure eine violette bis blaue Farbe, doch schienen die einzelnen Fäden unter dem Mikroskope an vielen Stellen farblos, was bei gewöhnlicher mit Coniferin getränkter Baumwolle nicht der Fall war. Mit Jodschwefelsäure färbte sich dieselbe gelbbräunlich bis hellbraun. (Fig. VII *c*).

Versuch 4: Baumwolle mit Eiweiss getränkt und ohne Anwendung von Wärme getrocknet, färbt sich durch Jodschwefelsäure dunkelbraun (Fig. VII *d*), während gewöhnliche Baumwolle sich sofort tief rothbraun bis violettroth, zuletzt violett färbt (Fig. VII *e*, *f*, *g*).

Versuch 5: Chlorzinkjod färbte die mit Eiweisslösung infiltrirte und getrocknete Normalwatte ε sofort gelb bis bräunlich-gelb (Fig. VII *b*), nach Verlauf von 4 Stunden gelbbraun, stellenweise rothbraun, wogegen gewöhnliche Baumwolle durch das gleiche Reagens sofort schwarzbraun mit Stich in Violett, nach 4 Stunden intensiv violett gefärbt wurde.

Diese Versuche wurden zu dem Zwecke angestellt, den Einfluss von Körpern, wie Vanillin, Coniferin, Eiweiss auf die Cellulosereaction mit Jodpräparaten kennen zu lernen. Auf dem Wege des Experiments ergab sich der Beweis, dass in der That die genannten Körper, welche mehr oder weniger ja auch als Attribute der Zellwände angesehen werden müssen, die Eigenschaft der Cellulose, sich mit Jodreagentien violett oder blau zu färben, aufheben, so dass sich diese Membranen nur gelb bis braun zu färben vermögen, eine Färbung, die auch dem metamorphosirten Cellulosegewebe, der verholzten Membran, zukommt. Es soll damit jedoch nicht gesagt sein, dass es gerade nur diese Stoffe seien, welche das veränderte Verhalten der bekanntermassen annähernd zur Hälfte aus gewöhn-

1) Hühnereiweiss im doppelten Volum Wasser gelöst und filtrirt.

2) Das Imprägniren der Membranen ist bei allen Versuchen äusserst sorgfältig auszuführen.

Universitätsbibliothek Regensburg urn:nbn:de:bvb:355-ubr05168-0052-2

licher Cellulose bestehenden verholzten Membranen zu Jodpräparaten und Lösungsmitteln [1]) bedingen, vielmehr mag der die andere Hälfte der Faser ausmachende kohlenstoffreichere und sauerstoffärmere Körper auch dazu beitragen. Was nun die Reaction des reichlich Proteïnstoffe enthaltenden Cambiumgewebes mit den Jodreagentien anlangt, so existiren über diesen Punkt in der Literatur verschiedentlich widersprechende Angaben.

Dippel sagt[2]): «Bringt man ganz junge, sog. cambiale Zellhüllen geschlossener Gewebe mit Chlorzinkjodlösung oder Jod und Schwefelsäure in Berührung, so bleibt dieselbe ungefärbt« und an anderer Stelle[3]): »In der Regel sind es nur wenige, oft nur eine oder zwei Zellreihen, welche im Cambialzustande verharren, während die diesen zunächst gelegenen Zellreihen eine Umbildung erleiden, die in Bezug auf die Verdickung der Zellstoffhülle, sowie auf die räumliche Ausdehnung des Lumens meistens nur unbedeutend ist. So gleichen die dem Cambium zunächst gelegenen Zellen diesem noch fast vollkommen, zeichnen sich aber nach der Anwendung von Chlorzinkjodlösung sofort vor ihnen aus, indem ihre jüngsten Ablagerungsschichten Zellstoffreaction zeigen, während die wahren Cambiumzellen ungefärbt bleiben«[4]). Schacht[5]) dagegen bemerkt: »Die Zellen des Cambiums bestehen in allen Fällen aus Zellstoff, Jod und Schwefelsäure färben sie hellblau.« Vom Cambium von Pinus Pumilio und anderen Coniferen sagt er: »Chlorzinkjodlösung, sowie Jod und Schwefelsäure färben die Cambiumzellen der Coniferen violett oder blau«, und an anderer Stelle (l. c. p. 353): »Das Cambium der dicotylen Gefässbündel bleibt in allen Fällen gleich den Zellen des Cambiumringes unverholzt (Jod und Schwefelsäure bewirken jederzeit eine blaue Färbung, beide sind reich an stickstoffhaltigen Substanzen, (Zucker und H_2SO_4 erzeugen eine rosenrothe Färbung«).

Dennoch finden sich auch bei Schacht einige Angaben, die den Schluss gestatten, dass auch Schacht in gewissen Fällen bei Cambiumzellen die Jodreaction schwach oder gar nicht auftreten sah; wenigstens kann dies l. c. p. 439 aus Tafel II Figur 11 und deren Erklärung geschlossen werden. Ebenso ist schon von anderen Autoren insbesonders von Wiesner[6]) nachgewiesen, dass die stark eiweisshaltigen, aber bereits Cellulose enthaltenden meristematischen Zellhäute die Cellulosereaction mit Chlorzinkjod erst nach langer Einwirkung des Reagenses geben.

Das beste Beispiel dürfte jedoch die Pilzmembran bieten, von welcher durch die Untersuchungen Richters nachgewiesen ist, dass keine besondere,

1) vergl. hierüber Kabsch l. c.
2) l. c. Bd. II p. 8.
3) l. c. Bd. II p. 230.
4) Vergleiche auch Dippel l. c. p. 49 und Tafel V Fig. 32 und 33 mit Erklärung.
5) Schacht, l. c. Bd. I p. 210, 213, 353.
6) Wiesner, l. c. p. 42 des S. A.

Regensburg Botanische
Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05168-0053-8

die Reactionen der gewöhnlichen Cellulose nicht besitzende »Pilzcellulose« existirt, sondern dass nach dem Kochen der Hyphen mit Kali auf Zusatz von Chlorzinkjod die charakteristische Cellulosereaction auftritt und dass es speciell Eiweisskörper sind, welche die Cellulosereaction der Pilzmembran verhindern. Schacht sagt (l. c. p. 230) von den Cambiumzellen der Coniferen: »Zucker und Schwefelsäure bewirken eine rosenrothe Färbung ihres Inhalts; auch die Verdickungsmasse der jungen Holzzellen färbt sich bisweilen rosenroth (Pinus Pumilio), es scheint demnach, als ob der stickstoffhaltige Inhalt der Cambiumzellen in die Wandung der jungen Holzzellen aufgenommen wird; ob er jedoch darin verbleibt, ist eine andere Frage«.

Im Laufe der vorliegenden Untersuchungen war mir nun ebenfalls des Oeftern Gelegenheit geboten, das Verhalten des Cambiums zu den Jodreagentien zu prüfen. Wählt man hierzu ganz dünne Schnitte, so lässt sich thatsächlich constatiren, dass die jüngste in Theilung begriffene Partie des Cambiums die Chlorzinkjodreaction sehr schwer und erst nach sehr langer Einwirkungsdauer oder überhaupt nicht zeigt; hierbei glaubte ich beobachtet zu haben, dass die Jahreszeit einen gewissen Einfluss auf die Reaction ausübe, derart, dass die geringste Cellulosereaction mit der grössten Vegetationsperiode (Frühjahr) zusammenfällt. Der sich nicht blau färbende Theil des cambialen Gewebes betrug in allen Fällen nur 1 bis 2, höchstens 3 Zelllagen, während die übrigen Cambiumzellen je nach der Schnittdicke und der Menge des angewandten Reagenses mehr oder weniger stark blau oder blauviolett gefärbt wurden. Es wäre dies also ein mit den Versuchsergebnissen Dippels und Wiesners übereinstimmendes Resultat, aus dem abgeleitet werden darf, dass unter den Bedingungen, wie sie die cambiale Zellwand zeigt, eben mikrochemische Reactionen mit besonderen Schwierigkeiten zu kämpfen haben.

Wie es sich bei den Versuchen 1, 4, 5 um die Frage handelte, ob Körper, wie Vanillin, Coniferin, Eiweiss, in eine Cellulosemembran infiltrirt, das charakteristische Verhalten zu Jodreagentien zu alteriren vermögen[1]), so beschäftigen sich die Versuche 2 und 3 mit der Frage: Welchen Einfluss übt infiltrirtes Eiweiss auf den Nachweis von Vanillin und Coniferin mittelst Phloroglucin resp. Thymol und Salzsäure aus?

Es existirt nun thatsächlich unter den Bedingungen, mit denen die genannten Versuche ausgeführt wurden, ein solcher Einfluss; derselbe ist jedoch viel geringer, als bei den Jodreactionen, bei denen auch makro-

1) Vielleicht liesse sich auf Grund weiterer Experimente entscheiden, dass nicht nur den genannten Stoffen diese Eigenschaften zukommen, sondern dass auch noch andere Körper bei der Infiltration in eine Membran die mikrochemischen Reactionen derselben in mehr oder weniger starkem Grade zu beeinflussen vermögen oder inwieweit von der Menge und Art dieser Substanzen diese Reactionen, sowie die Löslichkeit der Membran in Kupferoxydamoniak abhängig sind.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05168-0054-4

skopisch ein Unterschied sofort auffällt; jedenfalls aber ist unter den Versuchsbedingungen der Einfluss nicht so gross, dass Coniferin und Vanillin in der mit Eiweiss imbibirten Membran nicht mehr hätten nachgewiesen werden können. Da nun aber der Versuch mit thierischem Eiweiss ausgeführt wurde, so bleibt allerdings noch die Annahme übrig, dass pflanzliche Proteïnstoffe, wie sie z. B. im Cambium vorkommen, in dieser Beziehung energischer sind und einen Nachweis der genannten Stoffe in eiweissführendem Gewebe schlechtweg verhindern.

Würde sich durch Versuche in dieser Richtung herausstellen, dass den pflanzlichen Proteïnstoffen eine solche Fähigkeit nicht zukommt, so würde allerdings die zweite oben erwähnte Annahme an Wahrscheinlichkeit gewinnen, dass das Coniferin im Cambium in anderer die charakteristische Coniferinreaction nicht besitzender (polymerisirter) Form vorhanden sei.

Jedenfalls muss aus allen angeführten Gründen, insbesondere durch das gleiche Verhalten der verholzten Membran und des reinen Coniferins gegen Phenol und Thymol, aus der Förderung beider Reactionen durch directes Sonnenlicht und Kaliumchlorat, sowie auf Grund der Thatsache, dass chemisch reines Coniferin aus gewissen pflanzlichen Geweben dargestellt wird, das Vorkommen von Coniferin in der verholzten Membran als erwiesen erachtet werden.

VIII. Die Bildung des Vanillin aus Coniferin, das Product einer protoplasmatischen Thätigkeit. Mit dem Existenzbeweise des Coniferins, als eines constanten Bestandtheiles verholzter Membranen, sind auch gleichzeitig alle Vorbedingungen für das Vorkommen des so leicht aus diesem Glycosid abspaltbaren und demselben so nahe verwandten Vanillin gegeben. Da nun die verholzte Membran die Reactionen eines aromatischen Aldehyds zeigt, so ist wirklich nicht einzusehen, warum gerade der dem Coniferin nächst verwandte Aldehyd sich nicht bilden soll, sondern nach Ansicht Nickel's ein anderer; denn auch Nickel kann sich der Thatsache nicht entschlagen, dass die verschiedenen Holzreactionen durch »aldehydartige Bestandtheile« der Membranen bedingt sind [1]). Einerseits stellt Nickel nun zwar die Behauptung auf, der in der Holzmembran vorkommende aromatische Aldehyd sei nicht identisch mit Vanillin, vermag aber andererseits nicht, denselben mit einem andern von bekannter chemischer Constitution zu identifiziren.

Ich glaube deshalb, dass man, solange dieser Beweis für die Anschauung Nickels nicht geliefert ist, berechtigt ist, auf Grund der früheren Untersuchungen das Vorkommen von Vanillin in den verholzten Membranen anzunehmen. v. Lippmann [2]) ist es in der That auch gelungen,

1) cf. das Citat aus Nickel p. 42.

2) Edm. v. Lippmann. Vorkommen von Vanillin und Coniferin im Spargel. Ber. d d. Chem. Ges. z. Berlin. XVIII. Bd. p. 3335 ff.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05168-0055-9

nach einer schon vorher von ihm eingeschlagenen Methode[1]) geringe Mengen Vanillin neben beträchtlichen Quantitäten Coniferin aus dem Spargel darzustellen.

Abgesehen von dem bei der Holzstofffabrikation auftretenden intensiven Vanillingeruch bildet ja auch das oben ausgeführte Verhältniss von Coniferin zu den sog. Ligninreactionen und die Zurückführung der mit dem Vanillin nicht übereinstimmenden Reactionen auf den Einfluss des Coniferins wiederum eine weitere Stütze entgegen den Behauptungen Nickel's für die Annahme des Vorkommens von Vanillin in der verholzten Membran.

Was nun die Umsetzung des Coniferins in Vanillin anlangt, so fand schon Thiemann[2]) bei seinen Untersuchungen, dass Coniferin auch durch Digestion mit Enzymen wie z. B. Emulsin bei 30° in Zucker und Coniferylalcohol gespalten werde; durch Oxydation des letzteren erhielt Thiemann als zweites Product Vanillin.

Da nun für diese Frage von höchster Wichtigkeit sein musste, ob Eiweisskörpern von so unzweifelhaft protoplasmatischer Abstammung, wie die ungeformten Fermente es sind, in der That dieses Spaltungsvermögen zukomme, oder ob es sich bei den Versuchen Thiemanns, was mir nicht ausgeschlossen schien (es digerirte 6 Tage lang bei 30°), um das Resultat gleichzeitiger Spaltpilzwirkung handle, so wiederholte ich die Versuche im Sinne Thiemanns und ausserdem so, dass eine Entwicklung geformter Fermente in der Versuchsflüssigkeit unmöglich gemacht war. Zu diesem Zwecke wurden 100 cc einer 0,51 %igen wässrigen Coniferinlösung mit Emulsin versetzt und darauf ungefähr 2 cc Chloroform zugegeben, das bekanntermassen für geformte Fermente ein absolutes Gift ist, ohne jedoch die Wirkung der ungeformten zu hindern. Durch diesen Versuch, bei dem somit durch Zusatz von Chloroform den geformten Fermenten die Existenzbedingungen entzogen und eine Spaltpilzwirkung absolut ausgeschlossen war, musste entschieden werden, ob den Enzymen eine glycosidspaltende Wirkung zukomme. Schon ohne Anwendung einer erhöhten Temperatur, inbesonders aber bei 40 °C., liess sich nach 24stündigem Stehen durch Fehling'sche Lösung ein beträchtlicher Gehalt der Versuchsflüssigkeit an Zucker nachweisen[3]). Der Versuch beweisst also die Richtigkeit von Thiemanns Behauptung, dass ungeformte Fermente die Fähigkeit besitzen, Coniferin zu spalten. Die gleiche Fähigkeit

1) id. Ueber das Vorkommen von Coniferin in den verholzten Geweben der Zuckerrübe. Bericht. d. d. Chem. Ges. Jg. 1883. p. 44—48.

2) Thiemann l. c.

3) Die Zuckerprüfung muss in der Weise vorgenommen werden, dass zuerst die Fehling'sche Lösung für sich allein zum Kochen erhitzt und dann die Versuchsflüssigkeit zugegeben wird; hierbei muss, wenn Zucker vorhanden, momentan ein ziegelrother Niederschlag entstehen; ein Kochen der Versuchsflüssigkeit mit der alkalischen Kupferlösung ist des *KOH* halber unstatthaft.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05168-0056-5

kommt den Spaltpilzen allerdings ebenfalls zu. Bei Wiederholung des Versuchs mit Sprosspilzen (Saccharomyces) findet man dasselbe Spaltungsvermögen, wenn auch in beschränkterem Maasse [1]).

Bei der Gummi- und Schleimbildung aus Cellulosemembranen ist von Wiesner bekanntermassen ein diastatisches (der Klasse der Stärke umbildenden Enzyme angehöriges) ungeformtes Ferment als wirksames Princip erkannt worden. Ein Hauptergebniss der Untersuchungen Wiesner's ist es, durch eine diesem Ferment eigenthümliche Reaction mit Orcin und Salzsäure zu zeigen, dass das Gummiferment im Protoplasma entsteht, aus diesem in die Zellwände übertritt und hier die Umwandlung von Cellulose in Gummi oder Schleim bewirkt.

Durch die Thatsache, dass diese chemische Veränderung der Gewebe auf einen aus dem Protoplasma entstandenen Eiweisskörper zurückzuführen ist, sowie aus dem Umstande, dass auch bei andersartiger Metamorphose, wie der Verholzung als constante Bestandttheile der entstehenden Membranen, Gummiarten nachgewiesen sind (Singer, Thomson), glaube ich schliessen zu dürfen, dass, insbesondere bei diesem Process, die Mitwirkung des Protoplasmas oder der aus diesem, nach dem Principe der Arbeitstheilung entstehenden, mit ganz bestimmten Funktionen begabten Eiweisskörper hoher chemischer Energie, der »Enzyme«, eine weit ausgedehntere sei, als bisher angenommen wurde, und dass auch die Entstehung des Vanillins aus Coniferin innerhalb der verholzenden, noch eiweissführenden Membran auf einen fermentativen Spaltungsprocess, auf Beihilfe ungeformter Eiweisskörper protoplasmatischer Abstammung und secundäre Oxydation des entstehenden Productes zu Vanillin zurückzuführen sei:

$$\underset{\text{Coniferin}}{C_{16}H_{22}O_8} + H_2O = \underset{\text{Coniferylalkohol}}{C_{10}H_{12}O_3} + \underset{\text{Zucker}}{C_6H_{12}O_6}$$

$$\underset{\text{Coniferylalkohol}}{C_6H_3\begin{matrix}OH\\OCH_3\\C_3H_4OH\end{matrix}} + 6O = \underset{\text{Vanillin}}{C_6H_3\begin{matrix}OH\\OCH_3\\COH\end{matrix}} + 2H_2O + \underset{\text{Kohlensäure.}}{2CO_2}$$

Es ist also ausserordentlich wahrscheinlich, dass das Coniferin durch ein ungeformtes Ferment unter Wasseraufnahme in Coniferylalkohol und Zucker zerfällt, ersterer wird dann durch Oxydation glatt in Vanillin und Kohlensäure [2]) übergeführt. Wie man sich also die Bildung von Holzgummi und Vanillin unter Beihilfe von Eiweisskörpern (Protoplasma, Enzymen) erklären kann, so könnte auch der aromatische Kern selbst protoplasmatischer Abstammung sein.

1) Bei diesem Versuche muss selbstverständlich eine spaltpilzfreie Hefe-reinkultur verwandt werden; besitzt man keine solche, so kann die Nährlösung durch Zusatz von 1% salzsaurem Chinolin oder von Hopfenbitter, beides für Spaltpilze starke Gifte, ohne Sprosspilze in ihrer Vegetation zu hindern, für die Entwicklung von Spaltpilzen untauglich gemacht werden.

2) cf. Chem. Centralblatt. Jg. 1866. p. 40.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05168-0057-1

Dass die Coniferinbildung in der verholzenden Membran in einem bestimmten Zusammenhang mit der Veränderung der Cellulosemembran und den hiebei statthabenden chemischen Vorgängen steht, dürfte für Niemand bei näherer Beobachtung der Thatsachen, insbesondere des constanten Vorkommens dieses Körpers überall da, wo eine solche Metamorphose stattgefunden hat, ein Zweifel sein. Für diese Beziehungen zum gesammten Verholzungsprocess findet man zwei Erklärungen, indem man entweder die Entstehung desselben als ein Nebenproduct aus Cellulose annimmt, oder indem man seine Existenz als Resultat protoplasmatischer, der lebenden die Metamorphose eingehenden Zellwand angehöriger Proteïnstoffe ansieht. Bekanntermassen ist diese Metamorphose der Cellulosemembranen keine vollständige, sondern es bleibt stets, nach Entfernung aller fremdartiger Körper, ein zwischen 48 und 58% schwankender Rest reiner Cellulose zurück. Diese ist in der von allen Beimengungen befreiten verholzten Faser mit der sog. »Ligninsubstanz« verbunden. Bei der Verbrennung der gereinigten Holzfaser fand man, nach Abzug der Cellulose 55,55% *C*; 5,83% *H*; 38,62% *O*, Werthe, die sich etwa durch die Formel $C_{18} H_{24} O_{10}$ ausdrücken lassen. Sachsse[1]) vergleicht diese für das »Lignin« aufgestellte Formel mit der der Cellulose, er sagt darüber: »Um also Cellulose in Lignin überzuführen, müssen Reduction und Wasseraustritt erfolgen. So leicht nun auch im Protoplasma reine Reductionsprocesse verlaufen können, so schwer hält es doch, sich in einer fertig gebildeten verholzten Membran, die mit Sauerstoff in Berührung sein kann, sich einen solchen zu denken und vorzustellen. Um diese Schwierigkeiten zu beseitigen, bleibt nur die Annahme einer durch Abspaltung einer sauerstoffreicheren Atomgruppe erfolgenden Reduction übrig, wobei der Uebergang von Cellulose in Lignin etwa durch folgende Gleichung sich ausdrücken liesse:

$$\underset{\text{Cellulose}}{C_{24} H_{40} O_{20}} - C_6 H_6 O_5 - 5 H_2 O = \underset{\text{Lignin.}}{C_{18} H_{24} O_{10}}$$

Die abgespaltene sauerstoffreichere Verbindung könnte dann durch den Sauerstoff der Luft vollständig zu Kohlensäure und Wasser verbrennen oder in andere Verbindungen (Gerbsäuren) übergehen«.

Würde man Coniferin als Nebenproduct aus der Cellulose entstehend auffassen, so wäre der von Sachsse angenommene Austritt einer sauerstoffreicheren Atomgruppe nicht nöthig[2]).

1) Sachsse l. c. p. 145. f.

2) Ohne Annahme einer Beihilfe des Plasmas ist diese Entstehungsweise mit dem heutigen Stande der Chemie, wenn auch nicht unmöglich, so doch ziemlich schwer vereinbar, demnach wäre der Process etwa folgender:

$$\underset{\text{3 Cellulose}}{3 (C_{12} H_{20} O_{10})} = \underset{\text{Lignin}}{C_{18} H_{24} O_{10}} + \underset{\text{Coniferin}}{C_{16} H_{22} O_8} + 2 CO_2 + 7 H_2 O + O$$

oder

$$6 (C_{12} H_{20} O_{10}) = 3 (C_{18} H_{24} O_{10}) + C_{16} H_{22} O_8 + 2 CO_2 + 13 H_2 O + 5 O.$$

Der bei dieser Umsetzung frei werdende Sauerstoff könnte zur theilweisen Oxydation des Coniferylalkohols zu Vanillin verwandt werden.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05168-0058-7

Die zweite Erklärungsweise, das in der Membran vorkommende Coniferin sei protoplasmatischen Ursprungs, findet in den Untersuchungen Wiesners[1]) eine Hauptstütze, die das Vorkommen von Protoplasma in der lebenden Zellwand höchstwahrscheinlich erscheinen lassen. Dieser Forscher kommt zu dem Resultate, dass sich durch die Annahme eines konstanten Vorkommens von Eiweisskörpern in der lebenden Membran die statthabenden chemischen Vorgänge am leichtesten erklären lassen. Das Vorkommen von Verbindungen mit aromatischem Kern in der Zellwand lässt sich jedenfalls durch diese Annahme weit leichter erklären, als wenn man dieselben als Umwandlungsproducte der Cellulosemembran auffasst. Wiesner sagt über diesen Punkt: »Ich glaube, dass die hier vorgetragene Ansicht, dass stets Protoplasma in der lebenden Zellwand vorhanden ist, das Verständniss der in der Zellwand statthabenden chemischen Vorgänge mehr fördern wird, als die bisherige Lehre, derzufolge alle sogenannten Umwandlungsproducte der Zellwand aus Cellulose sich ableiten sollen«. Bezüglich des Nachweises eines solchen Vorkommens von Eiweiss in den verholzenden und verholzten Zellhäuten ist zu bemerken, dass Krasser[2]) zu dem Ergebniss kam, es lasse sich mittelst Millon'schem Reagens unter Zuziehung der Alloxan-Reaction in den verholzten Membranen des Hypoderms, in Xylem und Bastzellen verschiedener Pflanzen ein Eiweissgehalt mit Sicherheit constatiren.

Immerhin bemerkenswerth ist, dass mehr oder weniger die meisten Forscher, die sich mit dieser Aufgabe beschäftigt haben, immer zu derselben Ueberzeugung gekommen sind, dass die mit dem Namen der »Verholzung« bezeichnete Metamorphose der Cellulosemembran in gewissem Verhältniss zu protoplasmatischer Thätigkeit stehen müsse.

Schon 1874 gelangte Burgerstein[3]) zu dem Resultate, dass der »Holzstoff« stets zuerst in den Gefässwänden und zwar überraschend früh, gewöhnlich schon am dritten Tage nach dem Sichtbarwerden des Keimes auftritt. Wenn Burgerstein am Schlusse seiner Abhandlung sagt: »Freilich bleibt es noch fraglich, ob die Holzsubstanz ein einfaches Spaltungsproduct der Cellulose ist, oder ob nicht zur Entstehung des Holzstoffes aus der Cellulose auf letztere chemische Individuen einwirken müssen, welche im Zellinhalte auftreten. Dieses bleibt um so mehr fraglich, als ich eine Verholzung niemals an Geweben constatiren konnte, welche keinen Zellsaft mehr führten«, so glaube ich, dass schon er hier sicher an protoplasmatische Einwirkungen dachte.

Untersucht man statt der Keimlinge Vegetationsspitzen entwickelter Pflanzen vom Scheitel rückwärts mit Phloroglucin oder Indol-Salzsäure,

1) Wiesner l. c. p. 40 ff. des S. A.

2) Fr. Krasser im Sitzungsber. d. K. Acad. d. Wiss. z. Wien Bd. XCIV., Jg. 1886, p. 118.

3) Burgerstein ibidem Bd. LXX, Jg. 1874.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05168-0059-5

z. B. Coleus, so findet man auf den Längsschnitten zuoberst die ring- und spiralförmig verdickten länglichen Zellen, während sie noch von einander durch Zwischenwände getrennt sind, bereits verholzt, wobei die obersten Zellen noch deutlich Zellkern und Plasma enthalten, die beide an den weiter rückwärts gelegenen mit gleichzeitiger weiterer Ausbildung der Spiralen und Resorption der Querwände[1]) also mit Bildung des eigentlichen Spiralgefässes unter Zunahme der Verholzung verschwinden. Es ist dies ein Beispiel, welches zeigt, dass die Verholzung der Membran an Vegetationsspitzen Hand in Hand mit der Bildung der Gefässe geht, und dass mit dem Schwinden des protoplasmatischen Inhalts der Zellzüge eine Zunahme des »Verholzungsgrades« verbunden ist. In vielen Fällen schien mir das eben angelegte Spiralband junger Zellen auch bei Berücksichtigung der relativen Dickenverhältnisse stärker verholzt, als die anliegende Zellmembran.

IX. Das Verhältniss von Coniferin zu Vanillin. Werden Querschnitte[2]) verschiedener Stammhöhen derselben Pflanze vom Vegetationspunkte rückwärts mit Thallin untersucht, so findet man, dass die Reaktion um so schwächer auftritt, je näher die untersuchten Partien dem Sprossende liegen, je jünger also die metamorphosirten Gewebe sind. Es erhellt aus diesem Verhalten, dass die Menge des Vanillins nach oben geringer wird und dass diese Abnahme in bestimmtem Verhältniss zum Alter dieses Gewebes steht.

Behandelt man zur Vergleichung Schnitte der entsprechenden Stammhöhen mit Thymol-Salzsäure, so findet man, dass da, wo die Thallinreaktion nur noch schwach vorhanden war, also bei ganz jungen dem Vegetationsgipfel nahe liegenden Querschnitten, nichts desto weniger die Thymol-Reaction noch mit ziemlicher Stärke auftritt, dass mithin in diesen eben verholzenden Membranen ein ungleich grösserer Procentsatz Coniferin als Vanillin enthalten oder dass mit andern Worten nur ein geringer Theil des beim Verholzungsprocess der Membran entstandenen Coniferins in Vanillin umgebildet ist. Ist nun die Ansicht richtig, dass je jünger die verholzte Zelle sei, um so weniger enthalte dieselbe Vanillin, um so mehr Coniferin, so müssen nothwendigerweise nicht nur die den Vegetationsgipfeln zunächstliegenden, sondern auch die dem Cambium, dem Bildungsgewebe benachbarten verholzenden Zellen schwache Vanillinreaction mit Thallin, starke Coniferinreaction mit Thymol geben, es müsste also, wenn die oben aufgestellte Behauptung richtig wäre, die Thallinreaction einmal nach oben und ausserdem dann auch nach der Peripherie, d. h. nach dem Cambium zu ab-, die Thymol-Reaction nach den beiden Richtungen dagegen zunehmen. Fig. II der angehefteten Tafel, ein Querschnitt 1 cm

1) Die später der Resorption anheimfallenden Querwände schienen mir in allen Fällen nur schwach, meistens aber gar nicht verholzt.

2) Zu diesem und allen folgenden Versuchen wurden stets mit dem Mikrotom hergestellte Querschnitte von constanter Dicke benutzt.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05168-0060-6

unterhalb des Vegetationsgipfels von Nerium Oleander, zeigt auf der linken Seite die entstehenden Holzgefässe nach Behandlung mit Thymol-Salzsäure, auf der rechten Seite der Figur nach Behandlung mit Thallinsulfat. Die dem Cambium *cb* zunächst liegenden eben verholzenden Zellen *y* und y^1 färben sich, wie dies selbstverständlich ist, mit beiden Reactionen nur schwach, da eben erst während des Verlaufs des Verholzungsprocesses successive Coniferin gebildet wird. Die darauf folgende Schichte *z* zeigt bei der Thymol-Reaction die stärkste Färbung, es ist also hier der Höhepunkt für dieselbe erreicht, indem einerseits die Verholzung unter reichlicher Coniferinbildung soweit vorgeschritten ist, um die intensivste Blaufärbung zu zeigen, andererseits aber, wie dies aus der rechtsseitigen Figur bei z^1 erhellt, relativ noch wenig Vanillin abgespalten ist. Die ältesten, dem Marke zunächstliegenden Zellen *r* sind durch Thymol weniger intensiv blau gefärbt, da hier mit der zunehmenden Verholzung ein grosser Theil des gebildeten Coniferins in Vanillin umgewandelt ist, wie dies die Reaction mit Thallin bei r^1 zeigt, deren intensives Eintreten einen relativ hohen Gehalt der Membran an Vanillin bekundet. Da nun die Wirkung der beiden Reagentien, wie schon oben erwähnt wurde, in der Art verschieden ist, dass Thallin nur mit Vanillin, Thymol nur mit Coniferin reagirt, das Vanillin aber gleichzeitig mit der Zunahme der Verholzung der Membran successive aus Coniferin entsteht, so erlaubt eine Combination dieser zwei Reagentien eine Bestimmung der relativen Mengenverhältnisse beider Stoffe und zeigt mithin gewisse Grade der Verholzung an. Da reine Coniferinwatte mit Thymol-Salzsäure blau, Vanillinwatte mit Thallin goldgelb reagirt, so muss bei gleichzeitiger Anwendung beider Reagentien die Reactionsfarbe einer mit einer Mischung von Coniferin und Vanillin imprägnirten Watte umsomehr gelb erscheinen, je mehr sie Vanillin enthält, um so mehr blau, je grösser ihr Coniferingehalt ist, d. h. es werden verschiedene Deckfarben zwischen gelb und blau entstehen, die sich vom dunkelsten blaugrün bis zum hellsten gelbgrün bewegen. Da nun die Thymolreaction von einer Summe nicht absolut bestimmbarer Factoren abhängig ist, so wählt man, um die Reaction mehr zu beherrschen, am besten ein bestimmtes Verhältniss beider Reagentien, das bei richtiger Anwendung und einiger Uebung eine bequeme Anschauung der Verholzungsgrade liefert.

X. Thymol-Thallin. Wie jede auf einer Farbenreaction beruhende quantitative Bestimmungsmethode der analytischen Chemie und Mikrochemie mehr oder weniger schon durch den einen Umstand ungenau ist, dass die Art der Färbung und deren Bezeichnungsweise an sich in hohem Grade dem subjectiven Ermessen anheimgegeben werden muss, und wie durch diese bekannte Thatsache der theilweisen Farbenblindheit jede derartige auf Farbenunterschieden beruhende Reaction mehr oder weniger zu leiden hat, so soll und kann auch die jetzt zu beschreibende

Universitätsbibliothek Regensburg urn:nbn:de:bvb:355-ubr05168-0061-2

Methode keine absoluten Zahlenwerthe für Verholzungsgrade geben, sondern bietet allgemeine Anhaltspunkte, die hauptsächlich nur da von Werth sind, wo es sich um entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen der bezeichneten Gewebemetamorphose handelt. Ausser den genannten für die absolute Genauigkeit hinderlichen Factoren kommen bei der Thymol-Thallinreaction auch noch zwei andere hinzu, nämlich die Abhängigkeit der Färbungsintensität bei Thymol von der direkten Beleuchtung und der Dauer der Einwirkung, von denen allerdings der erstere Umstand durch Zusatz von chlorsaurem Kali nahezu vollständig vermieden ist. Als Reagenz von constanter Zusammensetzung benutze ich folgende Lösung:

5% Thymol-Thallin[1]):

0,5 gr Thallinsulfat
1,0 gr Thymol
2 cc destill. Wasser
26,5 cc Alkohol.

Dieser Lösung fügt man noch 0,5 gr. Kaliumchlorat hinzu. Beim Gebrauche mischt man entweder 1 cc dieser Lösung mit 1 cc Salzsäure vom sp. G. 1,124 und behandelt die Schnitte je mit gleichen Mengen dieser Mischung, oder man lässt obige Lösung auf die unter einem Deckglase auf dem Objektträger befindlichen Schnitte 1 bis 2 Minuten einwirken, saugt mittelst Löschpapier die Lösung ab und fügt nun vom Rande her ebensoviel Salzsäure zu.

Von der Art der Reaction kann man sich eine Vorstellung verschaffen, wenn man den schon oben angeführten vanillinfreien Holzstoff mit Mischungen von Vanillin und Coniferin in wechselnden Mengen etwa in folgenden Verhältnissen imprägnirt:

	Vanillin.	Coniferin.		
Lösung α	0,05	0,45	= 1 : 9	
» β	0,10	0,40	= 2 : 8	
» γ	0,15	0,35	= 3 : 7	
» δ	0,20	0,30	= 4 : 6	
» ε	0,25	0,25	= 5 : 5	(Normallösung)
» ζ	0,30	0,20	= 6 : 4	
» η	0,35	0,15	= 7 : 3	
» ϑ	0,40	0,10	= 8 : 2	
» ι	0,45	0,05	= 9 : 1	

1) Bei jungen sehr Coniferinreichen Gewebspartien empfiehlt es sich manchmal, um die Unterschiede in den einzelnen Zellschichten zu vergrössern, die folgende Thallinreichere Mischung zu verwenden:

1,0 gr Thymol
1,0 gr Thallin
30 cc Alkohol
8 cc Wasser
0,5 gr Kaliumchlorat.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05168-0062-8

[Die betreffenden Vanillin- und Coniferin-Mengen werden in einer Mischung aus 1 cc Alkohol und 1 cc Wasser durch Erwärmen gelöst und in dieser Lösung der Holzstoff gekocht, dann leicht ausgepresst und getrocknet. Diese Operation wird so oft wiederholt, bis ein ganz gleichmässig durchtränktes Product erhalten wird].

Bei gleichen Mengen des angewandten Reagenses schwankt dann die Farbennuance der Proben zwischen blau und gelb, bewegt sich also vom dunkelsten blaugrün bis zum hellsten gelbgrün.

Befeuchtet man einen an einem ganz jungen Spross von Nerium Oleander 1 cm unterhalb des Vegetationsgipfels ausgeführten Querschnitt mit Phloroglucin-Salzsäure (Fig. I), so findet man den Xylemtheil *x* ziemlich gleichmässig gefärbt, mit Ausnahme der eben aus dem Cambium *cb* entstandenen äussersten Holzzellen *y*, die noch ganz wenig Coniferin und Vanillin enthalten, und sich braungelb bis ziegelroth färben. Behandelt man einen gleichen Schnitt mit Thallin (s. Fig. II rechts), so findet man, dass ausser den erwähnten eben entstehenden Holzzellen y^1 auch die jüngeren dem Cambium nahe liegenden Zellen z^1 überhaupt schwach gefärbt sind, während die innern dem Marke zu gelegenen r^1 intensiv goldgelb erscheinen. Da nach dem oben Gesagten Vanillin die Vorbedingung für das Eintreten der Thallin-Reaction ist, so muss in diesem Falle in den jüngeren Zellen weniger von diesem Stoffe gebildet sein. Behandelt man endlich einen dritten Schnitt aus gleicher Stammhöhe (Fig. II links) mit Thymol-Salzsäure, so färben sich hier diejenigen Zellen *z* am intensivsten, die mit Thallin sich schwach färbten, während die älteren Zellen *r* nur wenig tingirt sind. Daraus! geht hervor, dass die eben aus dem Cambium entstehenden Zellen *y* und y^1 sehr wenig Vanillin und Coniferin enthalten, dass die jüngeren Xylemzellen *z* und z^1 mehr Coniferin als Vanillin besitzen und dass die älteren Holzzellen *r* und r^1 reich an Vanillin und weniger reich an Coniferin sind.

Behandelt man nun einen ebensolchen Schnitt mit Thymol-Thallin (Fig. III), so findet man wiederum die aus dem Cambium eben entstehenden Xylemzellen *y* schwach blau gefärbt, also schwach verholzend, die darauf folgenden Zellpartien *z* sind stark blau bis blaugrün, es ist also hier viel Coniferin neben wenig Vanillin, endlich sind die dem Marke zunächst befindlichen Zellen *r* grün mit Stich in grüngelb und deuten neben Coniferin auf grössere Mengen Vanillin hin.

Untersucht man jetzt einen Querschnitt, der 2 cm weiter rückwärts als der letzte durch denselben Spross geführt wird (Fig. IV), so findet man auch hier ganz genau wieder dasselbe Bild. Fig. V zeigt dann einen mit Thymol-Thallin behandelten Querschnitt 6 cm rückwärts der Vegetationsspitze; wiederum tingirt sich die dem Cambium zunächst liegende, eben den Verholzungsprocess eingehende Holzschicht *y* nur schwach, während

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05168-0063-4

die darauf folgenden Partien x^1 stark und zwar dunkel- grünblau gefärbt sind, die also mehr Coniferin enthält als Vanillin; auf diese folgt dann x^2 eine dunkelgrüne Zellschicht, bei der die Vanillin- und Coniferinreaction etwa gleich ist, und zuletzt x^3, die dem Marke zunächst liegenden Zellen, die sich durch auffallend gelbgrüne bis grüngelbe Farbe auszeichnen und bei denen die Vanillinreaction somit vorherrscht.

Wie bei den verschiedenen Zellpartien eines einjährigen Triebes eine Verschiedenheit des gegenseitigen Verhältnisses von Vanillin und Coniferin je nach dem Alter der betreffenden Zellen zu constatiren ist, so bietet auch wieder jede einzelne Zelle ein Beispiel hierfür, ein Umstand, auf den schon Dippel, Schacht u. a. beim Studium der Intercellularsubstanz, der primären, secundären und tertiären Membran aufmerksam gemacht haben. Schliesslich seien noch einige weitere Beispiele angeführt.

Der Holztheil eines Ende Juli durch einen jungen Spross von Vitis vinifera 5 cm unterhalb des Vegetationsgipfels ausgeführten Querschnitts nahm auf Zusatz von Thymol-Thallin eine blaugrünliche Färbung an. 5 cm rückwärts dieses Schnittes war die Färbung blaugrün, 10 cm weiter zurück trat der Vanillingehalt schon derart hervor, dass die Färbung eine dunkelgrüne mit Stich ins blaugrüne war und 10 cm von diesem färbte sich die Holzmembran vollständig grün.

Ein 3 cm unterhalb der Vegetationsspitze von Prunus domestica ausgeführter Querschnitt zeigte bei Behandlung mit Thymol-Thallin eine rein blaue Farbe der verholzten Membran. 3 cm rückwärts dieses Schnittes färbte sich ein gleichbehandelter Schnitt hellblau mit Stich in grünblau, während die Holzmembran eines um weitere 10 cm entfernten Schnittes eine grünblaue Färbung annahmen. Für die Beobachtung etwas störend ist der Phloroglucingehalt mancher Querschnitte, indem derselbe an und für sich mit der Salzsäure des Reagenses eine schwach violettrothe Färbung der Holzmembran bewirkt.

Dieser Umstand wirkt, wie schon Molisch angibt, auch bei der Thymolreaction störend, kann jedoch durch Entfernen der den Hauptsitz des Phloroglucins bildenden Rinde des betreffenden Querschnittes aufgehoben werden, abgesehen davon, dass er bei einiger Uebung die Reaction kaum beeinflusst, so dass mit derselben die verschiedenen Verholzungsstufen mit Sicherheit unterschieden werden können. Beispiele hierfür bilden z. B. Ampelopsis hederac., Betula alb., Rubus, Prunus u. a., bei denen durch gleichzeitige Untersuchung mit Salzsäure die Stärke der durch Phloroglucin bewirkten schwachen Rothviolettfärbung genau bekannt wird.

Bevor ich zum zusammenfassenden Ergebnisse der combinirten Reaction gehe, möchte ich an dieser Stelle Herrn Professor Dr. Dingler,

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05168-0064-9

durch dessen liebenswürdige wie hilfreiche Unterstützung mir ein grosses Versuchsmaterial zugänglich wurde, meinen herzlichsten Dank aussprechen.

Durch die Thatsache, dass bei den dem Marke zu liegenden Partien, also den ältesten Holzzellen, die Coniferinreaction ab, die Vanillinreaction dagegen zunimmt, dürfte noch ein letzter Beweis dafür erbracht sein, dass das Vanillin aus dem Coniferin entsteht. Bemerkenswerth ist nun, dass aber nicht etwa die ganze in der verholzenden Membran vorhandene Coniferinmenge in Vanillin umgewandelt wird, sondern dass immer nur ein bestimmter Theil desselben in den aromatischen Aldehyd übergeht, so dass selbst die ältesten Holzzellen noch die Coniferinreaction mit Phenol- oder Thymolsalzsäure in schönster Weise zeigen, was ein Beweis dafür ist, dass in einer gewissen Altersperiode bei der Verholzung die Abspaltung von Vanillin aus Coniferin aufhört und der dann noch restirende Coniferingehalt der Membran constant bleibt.

Erklärung der Abbildungen.

Fig. I. Querschnitt 1 cm unterhalb der Vegetationsspitze von Nerium Oleander nach Behandlung mit Phloroglucin. *ph* = Phloëm, *cb* = Cambium, *x* = Xylem, *m* = Mark. *y* = die eben verholzenden Zellen. Vergr. = 240/1.

Fig. II. Querschnitt durch Nerium Oleander 1 cm unterhalb des Gipfels, auf der linken Seite mit Thymol-Salzsäure, auf der rechten mit Thallin behandelt. Bezeichnung wie bei Fig. I.

Fig. III. Querschnitt durch Nerium Oleander 1 cm unterhalb des Gipfels, mit Thymol-Thallin behandelt. Bezeichnungsweise wie bei Fig. I.

Fig. IV. Querschnitt durch Nerium 3 cm unterhalb des Gipfels, links mit Thymol-Thallin, rechts mit Thymolsalzsäure (schematisch).

Fig. V. Querschnitt durch Nerium Oleander 6 cm rückwärts der Vegetationsspitze mit Thymol-Thallin.

Fig. VI. Querschnitt durch Nerium Oleander 1jähr. Trieb, mit Thallinsulfat behandelt. *b* = Bastfasern. Figurenbezeichnung wie bei Fig. 1 (schematisch).

Fig. VII. Baumwollfäden nach Behandlung mit Jod und Schwefelsäure. *a*, *b*, *c*, *d* nach Infiltration von Vanillin resp. Coniferin und Eiweiss. *e*, *f*, *g* ohne Infiltration. cf. S. 47.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05168-0065-5

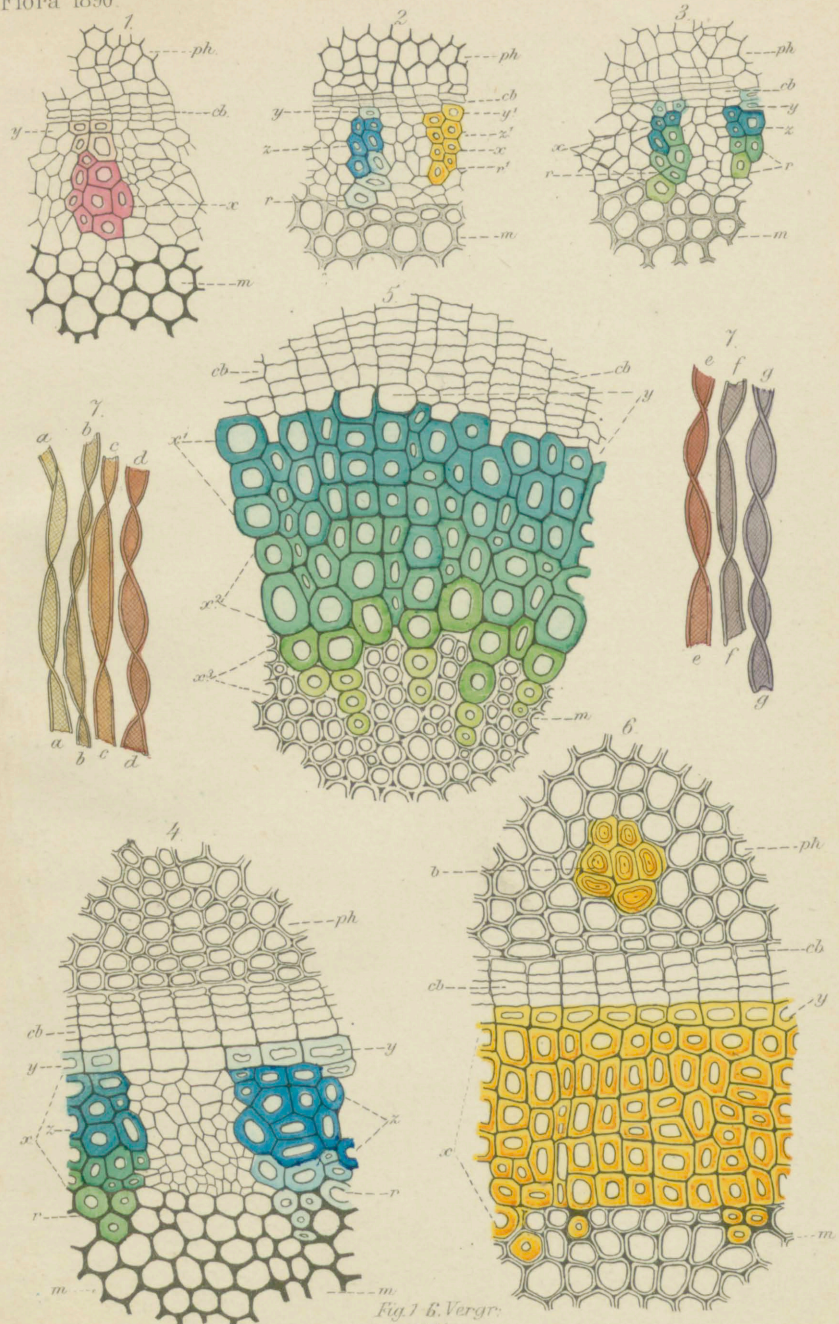

Fig. 1 E. Vergr: 240/1

Fig. 2. Vergr: 125/1

Robert Hegler ad nat. del. et pinx.

W.A. Meyn lith.

Universitätsbibliothek Regensburg
urn:nbn:de:bvb:355-ubr05168-0512-7

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Flora oder Allgemeine Botanische Zeitung

Jahr/Year: 1890

Band/Volume: 73

Autor(en)/Author(s): Hegler Robert

Artikel/Article: Histochemische Untersuchungen verholzter Membranen. Ein Beitrag zur Physiologie der Gewebe-Metamorphose. 31-61