

Beitrag zur Erforschung der Aggregationsvorgänge in lebenden Pflanzenzellen.

Von
Dr. Paul Klemm.

INHALT.

I.

Aggregation und deren Zusammenhang mit Löw-Bokorny's Hypothese vom aktiven Eiweiss.

II.

Mittel, äussere Bedingungen und Ort der Entstehung.

III.

Vergleichende Charakteristik der Ausscheidungen.

IV.

Die in den Ausscheidungen nachgewiesenen Stoffe und ihre Rolle.

V.

Physiologische Bedeutung der Ausscheidungen. Rückblick.

I.

Aggregation und deren Zusammenhang mit Löw-Bokorny's Hypothese vom aktiven Eiweiss.

Aggregation und aktives Albumin. — Beziehung der Silberabscheidung zur Aggregation — Voraussetzungen für die Richtigkeit der L.-B.'schen Schlüsse. — Basis dieser Voraussetzungen.

Es ist in der Zellphysiologie wohl kaum eine überraschendere Reaction bekannt, als die, für welche sich der Name Aggregation eingebürgert hat, welche man in lebenden Zellen einer Anzahl von Pflanzen dadurch hervorrufen kann, dass man sie mit verdünnten Lösungen basischer Körper, z. B. von Ammoniak, Ammonsalzen und Alkaloiden behandelt, und welche in einer fast augenblicklichen Ausscheidung zahlreicher Körnchen im Innern der Zelle besteht.

An dieser Erscheinung, zunächst von Darwin an den Drosera-tentakeln, sowie an Wurzeln einer Reihe anderer Pflanzen studirt,

dann gelegentlich von anderen Forschern (Pfeffer, De Vries, Klercker) berührt, haben besonders Löw und Bokorny in der letzten Zeit lebhaftes Interesse bethätigt. Dieses Interesse entsprang dem Gedanken, dass die Erscheinung in Zusammenhang zu bringen sei mit der Existenz des Löw'schen hypothetischen „aktiven Albumins“. Sie kommen zu dem Schluss, dass der im Innern der Zelle befindliche, die Ursache der Erscheinung bildende Körper nichts anderes sei, als eben jenes „aktive Albumin“.

Damit ist die Erscheinung mit Problemen in Zusammenhang gebracht, die zu den schwierigsten und äussersten Aufgaben der Zellphysiologie gehören, nämlich mit der Erforschung der chemischen Factoren des Lebens, der „chemischen Kraftquelle des Lebens“, also hinübergespült auf eine Frage von höchster Bedeutung für die gesammte Physiologie, nicht allein die der Pflanzen.

Der Gedanke taucht zuerst auf in der Arbeit L. und B.'s: „Ueber das Vorkommen von aktivem Albumin im Zellsaft und dessen Ausscheidung in Körnchen durch Basen“ (Bot. Ztg. 1887), ist dann an der Hand eines umfangreichen aber wenig kritischen Beobachtungsmaterials in ausgedehnter Weise von Bokorny, der sich dem Nachweis des hypothetischen aktiven Albumins in der Zelle besonders gewidmet hat, in seiner Arbeit „Ueber Aggregation“ (Prgsh. Ib. 20) des Weiteren erörtert und seither wiederholt in kleinen Aufsätzen (s. d. Zusammenstellung der Litteratur) vertheidigt worden.

Eine gedrängte Darstellung der Anschauung und ihrer Grundlagen gaben L. und B. zuletzt in dem Aufsatz: „Versuche über aktives Eiweiss für Vorlesung und Praktikum“ (Biol. Centralbl. XI. 1891).

Diese Anschauungen haben übrigens eine Wandlung erfahren, sie weichen in wichtigen Punkten von den früher aus einander gesetzten ab. Die Wandlung läuft darauf hinaus, dass für den Nachweis nur solche Objecte als „geeignet“ in Anspruch genommen werden, welche einen noch nicht organisirten Vorrath an aktivem Eiweiss besitzen¹⁾ — das sind die, welche der Aggregation fähig sind. L. und B. gestehen damit selbst zu, dass der Nachweis nur bei solchen Objecten glücke, d. h. ohne Aggregation (Granulation) keine Silberabscheidung; eine Beschränkung, welche weder mit den früheren Anschauungen L. und B.'s, noch mit der Allgemeinheit, welche der Theorie nach diesem Körper zukommen muss, vereinbar ist.

1) Versuche über aktives Eiweiss für Vorl. und Prakt. Biol. Centralbl. XI, Separatdr. S. 2.

Zudem fließen bei B. auch Beobachtungsfehler unter,¹⁾ die nur erklärlich sind, wenn der Beobachter, im Banne vorgefasster Meinung sich befindend, die nöthige Umsicht bei den Untersuchungen vernachlässigte.

Da überdies das ganze Vorgehen B.'s kein induktives ist, so ist es gekommen, dass die Erforschung von Ursache und Wesen der Aggregation durch die Verbindung mit der L.-B.'schen Hypothese mehr verwirrt, als gefördert worden ist, was natürlich dieser Hypothese selbst auch nicht zu statten kommen kann. Hypothesen gehören wohl zu den Haupthebeln naturwissenschaftlicher Forschung, aber ein solcher Versuch, wie er hier vorliegt, durch selbst noch mangelhaft bekannte Vorgänge wie es die der Aggregation sind, eine Hypothese wie die vom aktiven Albumin stützen zu wollen, ist nur geeignet, diese selbst zu discreditiren.

Um hier zum erwünschten Ziele zu kommen, hilft es doch nur, Schritt für Schritt zu gehen, streng induktiv zu verfahren sowohl bei Anstellung der Versuche, durch welche man die Natur fragt, ob es auch wirklich so ist, wie es der Hypothese nach sein müsste, als auch bei der Interpretation der Untersuchungsergebnisse.

Es wird also die nächste Aufgabe sein, die auf Abwege gerathene Frage der Aggregation durch eine Sichtung von Zweifelhaftem und Unzweifelhaftem wieder auf gesunde Bahnen zurückzuführen. Dies soll hier versucht werden.

* * *

Die Voraussetzungen, welche man machen muss, um mit L. und B. anzuerkennen, dass das hypothetische „aktive Albumin“ in der Zelle die Ursache der Ausscheidungen sei, sind folgende:

1. Silberreduction aus der L.'schen Lösung kann auch unter den besonderen in der Zelle obwaltenden Verhältnissen nur durch einen Aldehydgruppen enthaltenden Körper hervorgerufen werden;
2. dieser Körper ist durch basische Stoffe einer Polymerisation fähig, die in dem Aggregationsvorgang zum Ausdruck kommt;
3. der Stoff, welcher die Silberreduction herbeiführt und durch basische Stoffe einer Polymerisation fähig ist, ist derselbe wie der, welcher das organisirte aktive Albumin, d. i. die Theile des

1) So bei dem Studium der Ausscheidungen in Crassulaceen: „Zur Kenntniss des Cytoplasmas.“ Ber. d. deutsch. bot. Ges. 1890. Eine Berichtigung der Beobachtungen B.'s bei den hier in Frage kommenden Objecten werde ich demnächst gleichfalls in den Ber. d. deutsch. bot. Ges. geben.

Protoplasmas, zusammensetzt, welche keiner Aggregation (Polymerisation) fähig sind;

4. das Protoplasma (organisirte aktive Albumin) verursacht nur deshalb nicht die Silberabscheidung, weil es zu empfindlich ist und ehe Silberabscheidung eintrat, sich in passives Eiweiss verwandelte.

Dem gegenüber darf man wohl fragen: Wie kann ich überzeugt sein, dass das zu Organen aufgebaute aktive Albumin, das Protoplasma, Aldehydgruppen enthält, wenn das Experiment, welches den Beweis erbringen soll — die Silberabscheidung — nicht glückt? Wer kann verlangen, dass ich glaube, es glücke nur deshalb nicht, weil das Protoplasma zu empfindlich sei und dass der silberreducirende Körper trotzdem derselbe sei, wie der, welcher das Plasma zusammensetzt?

Selbst als erwiesen angenommen, dass die Silberreduction auch unter den in der Zelle obwaltenden besonderen Umständen ausschliesslich einem Aldehydgruppen enthaltenden Körper zukommen könne, so wäre doch damit eben nur erst erwiesen, dass ein solcher irgendwo in der Zelle vorhanden ist, nicht mehr. Aber so lange das Plasma selbst in seiner Gesammtheit nicht reducirt, sondern nur die durch basische Stoffe hervorgerufenen Ausscheidungen, so lange könnte überhaupt nur bei diesen die Rede davon sein.

In früheren Arbeiten L. und B.'s findet sich noch die Anschauung, dass das Protoplasma in seiner Gesammtheit Silber abzusecheiden fähig sei¹⁾ und hier und da abseide, in anderen Fällen dagegen nur einzelne mehr oder weniger zahlreiche und mehr oder weniger grosse Körnchen. Der Granulation ist übrigens bereits in der ersten Arbeit²⁾ für gewisse Fälle Erwähnung gethan, doch erst später wurde die Granulation als Voraussetzung für die Silberabscheidung in Anspruch genommen³⁾ und mit der Aggregation identificirt.

Das keiner Granulation oder Aggregation fähige Protoplasma aber für zu empfindlich und dadurch das Ausbleiben der Silberreaction zu erklären, ist eine Vorstellung ohne jegliche thatsächliche Begründung, also eine lediglich dem Glauben anheimgegebene Behauptung.

1) L. und B., Chemische Kraftquelle S. 52 und B. o. k., Neue Unters. über d. Vorgang der Silberabsch. Prgsh. Ib. 18. 1887.

2) L. und B., Chemische Kraftquelle S. 74.

3) L. und B., Ueber d. Verhalten v. Pflanzenzellen zu stark verd. alkal. Silberl., Bot. Centralbl. 1889, S. 614; ferner: B. o. k., Ueber d. Einwirkung bas. Stoffe auf das lebende Protopl. Prgsh. Ib. 19, 1888, S. 209.

Die Gründe, welche gegen den Einwand, dass die Reaction keine allgemeine sei, von L. und B. ins Feld geführt werden,¹⁾ wie die unbestrittene verschiedene Widerstandsfähigkeit gegen verschiedene Einflüsse, machen es kaum wahrscheinlicher, dass die Objecte, wenn sie nicht so empfindlich wären, Silber reduciren würden. Dies wäre nur glaubhaft, wenn die meisten lebenden Zellen Silber reducirten und jene, bei denen die Silberabscheidung nicht eintritt, schon dadurch als Ausnahmefälle charakterisirt wären. Es müssten da jedenfalls ausgedehntere Untersuchungen über die Verbreitung des Silberabscheidungsvermögens vorliegen, als dies bisher der Fall ist. Nach dem, was L. und B. selbst neuerdings anführen,²⁾ würde man in den meisten pflanzlichen Zellen keine Aggregation und keine Silberabscheidung zu erwarten haben. Für „ungünstig“ werden nämlich erklärt: „1. Zellen mit sehr raschem Wachstum, welche ihr Eiweiss rasch zur Organbildung verbrauchen; 2. Zellen, welche sehr langsam Eiweiss bilden und infolge dessen nie einen grösseren Ueberschuss an nichtorganisirtem Eiweiss haben; 3. ausgewachsene Zellen, welche ihren Eiweissvorrath ganz organisirt oder zum Aufbau von Idioplasma verwandt haben und kein neues Eiweiss mehr bilden.“

Dass bei einigen Objecten unter gewissen Verhältnissen — die bei dem Experiment mit der Hefe, welche erst Silber reducirte „nach Züchtung bei sehr niederer Temperatur in einer zuckerfreien Nährlösung“, übrigens ganz abnorm sind — spricht eher dafür, dass unter diesen Verhältnissen Stoffwechselprodukte gebildet wurden, welche normaler Weise nicht entstehen.

Nach alledem stehen von jenen S. 397 dieser Arbeit angeführten Voraussetzungen 3. und 4. vollständig in der Luft. 2. ist ein Schluss nach Analogien, für dessen Berechtigung mindestens erst das Vorkommen von Aldehydgruppen enthaltenden Körpern erwiesen sein müsste. Mag es immerhin möglich, ja wahrscheinlich sein, dass ein solcher Körper, wenn er vorhanden wäre, sich durch die Aggregationsreagentien polymerisiren würde, mit einer solchen Möglichkeit als mit einer feststehenden Thatsache zu operiren oder gar Rückschlüsse darauf zu bauen heisst nicht mehr sich bestreben, die Wahrheit auf Grund von Thatsachen zu ergründen — das ist blosse Speculation.

1) L. und B., Ueber d. Verh. v. Pflanzenzellen zu stark verd. alkal. Silberl. Bot. Centralbl. 1889 S. 612.

2) L. und B., Versuche über akt. Eiweiss für Vorlesung und Praktikum. Biol. Centralbl. XI, 1891, Separatabdr. S. 2.

Was aber die an erster Stelle (S. 397) erwähnte Voraussetzung anlangt, so erfordert diese ein näheres Eingehen und wir werden mehrfach auf dieselbe zurückkommen. Hier nur so viel: L. und B. tragen in den frühesten Arbeiten überhaupt nicht, in den neueren zu wenig dem Umstande Rechnung, dass die Zelle ein Organismus ist, sie beachten zu wenig, dass wir in der Zelle nicht nur ein kleines Gefäss und in deren Inhalt nicht eine einheitliche Lösung, ja nicht einmal ein einziges Stoffgemisch vor uns haben, gewissermaassen ein Reagirglas im kleinen Maassstabe mit einem Gemisch von colloidalen und flüssigen Körpern, sondern eine Summe von Stoffen unter complicirten Verhältnissen, von denen besonders die Trennung des Zellsaftes vom plasmatischen Wandbelag, welche von der Vacuolenwand aufrecht erhalten wird, berücksichtigt werden muss. Sollte es deshalb unmöglich sein, dass unter diesen in der Zelle obwaltenden besonderen Verhältnissen geschieht, was im Reagensrohr nicht geschieht, dass eine Reduction des Silbersalzes aus einer so verdünnten Lösung stattfinden kann, wie sie unter den Verhältnissen im Reagensrohr unmöglich ist? Silber reducirende Körper kommen ja in den Zellen vor, es brauchte also durch die besonderen Verhältnisse in der Zelle schliesslich weiter nichts, als eine Verschiebung der Reactionsgrenze stattzufinden. Das ist wohl zu bedenken, unsomehr als jetzt bekannt ist, dass die Silberreaction keine unmittelbare ist, sondern dass ihr eine Aggregation (Granulation) vorausgeht und vorausgehen muss und erst eine ganz allmähliche Anhäufung verbunden mit Reduction des Silbers in diesen durch Aggregation ausgeschiedenen Massen stattfindet.¹⁾

II.

Mittel, äussere Bedingungen und Ort der Entstehung.

Die zur Erzeugung tauglichen Stoffe (Aggregationsreagentien). — Die möglichen Reactionsweisen derselben. — Abhängigkeit der Entstehung vom Leben. — Ort der Entstehung.

Welche Stoffe der äussere Anlass zur Bildung der Ausscheidungen sein können, ist wohl ausreichend bekannt. Löw²⁾ fasst in kurzer Weise den Kreis der zur Erzeugung fähigen Stoffe folgendermaassen zusammen: Der Niederschlag wird hervorgebracht, durch

1) Pfeffer, Löw und Bokorny's Silberreduction in Pflanzenzellen. Flora 1889 S. 47.

2) Löw und Bokorny, Ueber d. Vorkommen v. akt. Alb. im Zellsaft und dessen Ausscheidung in Körnchen durch Basen. Bot. Ztg. 1887 S. 849.

kohlensaures Ammon, Ammoniak, Kali, Natron und organische Basen, ferner mit neutral reagirenden Salzen des Ammoniak und der organischen Basen, nicht aber mit den Neutralsalzen der unorganischen Basen. Eine Aufzählung der Stoffe, welche aggregirend wirken im Einzelnen, findet sich, gestützt auf frühere Untersuchungen,¹⁾ bei Bokorny, Aggregation (S. 463).

Auf die Aggregation durch mechanische Ursachen bei Drosera kommen wir noch später zu sprechen.

Was die Quantität der Stoffe betrifft, so weiss man, dass schon bei sehr niederer Concentration die Ausscheidungen erfolgen und dass dies bei manchen Körpern, wie z. B. Ammoniak, Kali, Natron, bei höherer Concentration überhaupt nicht geschieht, auch wenn die Zelle durch diese Concentrationen noch nicht getödtet wird. Bereits vorhandene Ausscheidungen verschwinden bei Behandlung mit höher concentrirten Lösungen dieser Körper, auch z. B. die mit Coffein erzeugten. Auf die Ursache dieser Erscheinungen, ferner darauf, in wie fern niedere Concentrationen mehr körnchenbildend wirken, wie höhere, worauf B. so viel Gewicht legt, werden wir später bei Betrachtung der Ballungen zu berücksichtigen haben.

Welche Stoffe aber im Innern der Zelle die Reaction verursachen, ebense die im engsten Zusammenhange damit stehende Frage, wie dies zugeht: ob wir es mit einer Fällung mit stofflicher Betheiligung der aussen zugeführten Körper, oder ob wir es mit der Auslösung eines chemischen Vorgangs ohne oder doch ohne nothwendige stoffliche Betheiligung dieser Körper -- was auch wieder auf mehrerlei Weise denkbar ist -- zu thun haben, dieser Kernpunkt der Sache ist noch nicht aufgeklärt.

Wäre das erstere der Fall, d. h. entstände eine chemische Verbindung des aussen zugeführten Körpers mit einem Unbekannten innerhalb der Zelle, so ist klar, dass durch die Bekanntschaft mit dem Kreise dieser Aggregationsreagentien die in Frage kommenden Körper sich auf gewisse Gruppen beschränken müssten. Freilich ist dabei zu bedenken, dass der Zellinhalt keine einheitliche Lösung ist und dass die den reagirenden begleitenden Stoffe recht wohl in irgend einer Richtung auf das Ausfallen Einfluss haben können. Ferner darf dabei nicht ausser Acht gelassen werden, dass in kleinen und bis zu einem gewissen Grade abgeschlossenen Capillarräumen noch Fällungen erfolgen, welche man im Reagensrohr zu erhalten sich vergeblich

1) Bokorny, Ueber d. Einwirkung bas. St. auf d. leb. Protopl. Prgsh. Ib. 19, 1888.

bemüht, wie Klercker¹⁾ für die in einer mit Gerbstoff gefüllten Capillare durch Eindringen von kohlensaurem Ammon entstehenden Ausscheidungen fand. Das gleiche geschieht übrigens auch beim Eindringen von sehr verdünntem Ammoniak. Es ist demnach die Aeusserung L. und B.'s,²⁾ „eine verdünnte Gerbstofflösung mit Ammoniak zu fällen, ist ganz unmöglich,“ in dieser Allgemeinheit nicht richtig.

Ganz abgesehen davon, ob in den vorliegenden Fällen die folgende Erklärung zutreffend sei, so ist eine derartige Erscheinung doch auf sehr einfache Weise zu erklären: Verbindungen, die durch geringen Ueberschuss nicht nur eines, sondern beider reagirender Stoffe im Wasser leicht löslich werden, können nur bei vollständiger gegenseitiger Bindung ausgefällt werden. Diese Vorbedingung wird durch Zusammengiessen der Lösungen im Reagenrohr nur unter ganz bestimmten, ohne Absicht kaum zu erhaltenden Voraussetzungen verwirklicht sein, während im Capillarrohr, welches, mit der einen Lösung gefüllt, in die andere gelegt wird, nur eine langsame Diffusion stattfindet und infolge dessen eine Zone vollständiger gegenseitiger Bindung ohne Ueberschuss des einen oder andern bestehen und dadurch eine Fällung erfolgen kann, wenn nur das Produkt in Wasser allein nicht löslich ist, oder wenn das Wasser mit dem Produkt übersättigt ist.

Es ist also nicht zu behaupten, dass, wenn im Reagenrohr eine Fällung ausbleibt, dieselbe auch unbedingt im Capillarrohr ausbleiben müsse.

In vieler Beziehung ähnliche Verhältnisse liegen bei der Behandlung von Zellen mit den Aggregationsreagentien vor und ich glaube, dass dem bei den Schlüssen über die Möglichkeit der oder jener Ausscheidungsweise Rechnung zu tragen ist.

Es brauchen aber die Ausscheidungen gar nicht chemische Verbindungen der aussen zugeführten Körper mit dem oder den unbekanntem im Innern der Zelle zu sein, es ist denkbar, dass von jenen nur der Anstoss zu Umsetzungen im Zellraum ausgeht, dass sie auslösend wirken. Es würde dies bei der früher von Pfeffer³⁾ erörterten aber in Anbetracht einer Reihe von entgegenstehenden Thatsachen als nicht zutreffend anerkannten Ausfällung durch Neutralisation der Fall gewesen sein.

1) l. c. S. 42.

2) L. und B., Ueber d. Verh. v. Pflanzenz. zu stark verd. alkal. Silberlösung. Bot. Centrallbl. 1889 S. 615.

3) Pfeffer, Ueber Aufnahme v. Anilinfarben in lebende Zellen. Tübinger Unters. II, S. 239 f.

Es könnte aber auch, und auf diese Eventualität gründen L. und B. ihre Anschauungen, eine Auslösung durch chemische Contactwirkung, wie sie die Chemie kennen gelernt hat, sein. Dafür lassen sich, wie dies von L. und B. auch geschieht, die ausserordentlich geringen Concentrationen geltend machen, welche die Ausscheidungen veranlassen und welche in gar keinem Verhältnisse zu stehen scheinen zu der Wirkung, welche sie hervorrufen. Es wird von B. wiederholt das Beispiel von *Drosera* erwähnt, bei welcher nach Darwin schon 0,000482 mg kohlen-saures Ammon genügen, „um, durch eine Drüse aufgesaugt, in allen Zellen desselben Tentakels Zusammenballung zu verursachen“ (Aggregation S. 463 und auch 471). Nun verursacht aber bereits Contact bei *Drosera* Aggregation, was bei anderen als fleischfressenden Pflanzen nicht der Fall ist. Darwin äussert sich (Fleischfressende Pfl., Uebers. S. 39) folgendermaassen darüber: „Aber da die Zellen eine unter der anderen einer Zusammenballung des Inhalts unterliegen, wenn unorganische und unauflöslche Theilchen auf die Drüsen gelegt werden, so muss der Process wenigstens in diesen Fällen in einer von den Drüsen übermittelten molecularen Veränderung, unabhängig von der Aufsaugung irgend welcher Substanz, bestehen. Dasselbe kann auch möglicher Weise bei der Wirkung des kohlen-sauren Ammoniaks der Fall sein.“ So bei *Drosera*.

Bei *Spirogyra* aber und anderen Objecten kommt bei so geringer Concentration wie sie Darwin in den Droserazellen wirken sah, keine Aggregation zu Stande. B. gibt hier nur an (Aggregation S. 471), dass eine Ammoniaklösung von 1 : 100 000 genüge, um den Spirogyren-inhalt zur Zusammenballung zu zwingen. Ich habe mich bemüht, die Reactions-grenze für Coffein bei einer *Spirogyra* festzustellen und Folgendes gefunden: Mit einer Lösung von 1 : 2000 trat auf dem Objectträger noch starke Aggregation ein, ja selbst noch bei 1 : 10000. Bei einer Concentration von 1 : 100000 konnte ich nach einer Stunde auf dem Objectträger noch keine Ausscheidungen beobachten, wohl aber waren solche erschienen bei solchen Spirogyren, die ich in eine grössere Quantität (etwa 20 ccm) der Lösung gebracht hatte. Die Körnchen waren äusserst fein und verliehen den Zellen ein trübes Aussehen. In Lösungen von 1 : 500 000 und 1 : 1 000 000 konnte ich weder nach zwei Stunden noch nach Tagen eine Einwirkung beobachten.

Für *Azolla* liegt nach Pfeffer die Reactions-grenze oberhalb 0,003% Ammoncarbonat.¹⁾

1) Pfeffer, Ueber Aufn. von Anilinfarben etc. Tüb. Unters. II. S. 241.

Aus diesen Thatsachen geht hervor, dass die Reagentien bei *Drosera* eine andere Rolle spielen, wie bei *Spirogyra*, *Azolla* etc., bei welchen der Gehalt nicht unter eine gewisse Concentration sinken darf, um noch eine Wirkung hervorzubringen.¹⁾

Jedenfalls wäre es erwünscht, in ausgedehnterer Weise die Reactions-grenze der verschiedenen Stoffe zu wissen, wie das bisher der Fall ist, sowie ob und welche Verschiedenheiten sich bei verschiedenen Concentrationsgraden zeigen. Was man bis jetzt davon weiss, ist unzureichend.

Wenn B. behauptet (Aggregation S. 471), „dass es für den Effect gleichgiltig ist, welche Menge von Ammoniak man verwendet“ und fortfährt „die Ballung tritt mit gleicher Stärke ein, ob man Lösung 1 : 20000 oder 1 : 5000 anwendet (ein pro mille oder einprocentige Lösungen sind mitunter schon weniger günstig, weil durch sie der reagirende Stoff schon theilweise jene Umwandlung zu erleiden scheint, welche er auch durch andere Mittel, Zellen zu tödten, erfährt)“, so liegt darin ein so offener Widerspruch, wie er in zwei auf einanderfolgenden Sätzen kaum verständlich ist. Fünf Seiten vorher (S. 466) wird übrigens, um die gleiche Sache — nicht Fällung, sondern Contactwirkung — wahrscheinlich zu machen, das Gegentheil als Grund angeführt: „Man könnte glauben, dass die in Rede stehende Kugelbildung ein gewöhnlicher Fällungsvorgang sei; doch spricht dagegen die Thatsache, dass die Kugelbildung um so reichlicher eintritt, je geringer die Concentration der alkalischen Lösung ist. Ammoniak-Lösung 1 : 5000 wirkt günstiger als Lösung 1 : 1000, letztere günstiger als einprocentige.“²⁾ Das, was B. hier zuletzt sagt, ist richtig. Zwar sind gerade bei Ammoniak die Unterschiede erst innerhalb grösserer Stufen deutlich, sie treten aber bei Coffein z. B. sehr deutlich hervor. Das scheint mir aber gegen eine Contactwirkung und für eine Fällung zu sprechen, da doch bekannt genug ist, dass je nach der Concentration, in der man ein Reagens der Lösung eines mit diesem reagirenden Körpers zusetzt, der Niederschlag nach Consistenz und Vertheilung verschieden ausfällt.

Inwiefern der Umstand, dass Aldehyde unter Umständen einer Polymerisation fähig sind, hier eine Analogie finden könnte, wurde bereits berührt. Es kann nicht energisch genug dagegen protestirt werden, dass mit dem, was B. selbst an einer Stelle, wo es sich um

1) Pfeffer, ebenda S. 244.

2) Vgl. auch Bot. Centralbl. 1889 S. 614.

genaue Präcisirung des Ergebnisses handelt, nur für „wahrscheinlich“ zu erklären sich veranlasst sieht (Aggregation S. 465), allgemein wie mit einem ausser Zweifel stehenden Factor gerechnet wird.

* * *

L. und B. haben die Aggregation für eine „echte Lebensreaction“ erklärt.¹⁾ Thatsächlich ist sie bei zuvor getödteten Objecten nicht mehr zu erhalten. Es fragt sich: inwiefern ist das Leben bei dem Zustandekommen nothwendig? Wir wollen dies zunächst für die Ausscheidungen im Zellsaft festzustellen versuchen.

Die Vacuolenwand spielt bekanntlich für viele Stoffe die Rolle einer trennenden Schranke, während sie für andere Stoffe durchlässig ist. Es braucht die Reaction also nur insofern die Erhaltung dieser Schranke vom Leben abhängig ist, also nur mittelbar vom Leben der Zelle abzuhängen und es ist nicht gesagt, dass, wenn wir nur diese Schranke zu erhalten oder durch irgend eine andere zu ersetzen vermöchten, die Ausscheidung nicht ungehindert eintreten würde. Das Leben würde in diesem Falle also nur aus rein mechanischen Ursachen für das Zustandekommen der Ausscheidungen maassgebend sein.

Ist der reagirende Stoff im Augenblicke des Fallens der Schranke schon da, so darf man alsdann erwarten, dass die Reaction im Zellsaft auch noch zu Stande kommt; ist er aber nicht da, so wird es ganz auf die Diffusionsfähigkeit der im Zellsaft vorhandenen Körper ankommen, wie lange noch Reaction eintritt. Diffundiren die Körper rasch nach aussen, so können schon nach wenigen Augenblicken die früher im Zellsaft vorhandenen Stoffe das coagulirte Protoplasma imprägniren oder bereits je nach Eigenschaften und Menge auch in Zellwand und umgebendes Medium eingedrungen sein. Ob dann noch das zugeführte Aggregationsreagens Ausscheidungen hervorzubringen vermag, ist sehr zweifelhaft und von Umständen abhängig, welche mit dem Leben schlechterdings nichts zu thun haben. Wir dürfen also behaupten: Jeder im Zellsaft gelöste Körper, der rasch in die Umgebung (Plasma etc.) diffundirt oder wohl gar mit Stoffen in der Umgebung Verbindungen eingeht, wird, sobald die trennende Schranke — die innere Hautschicht des Protoplasmas — gefallen ist, nur dann noch nachzuweisen sein, wenn das zum Nachweis dienende Reagens im Augenblicke des Absterbens zugegen ist, was bei den selbst

1) L. und B., Ueber d. Verh. v. Pflanz. zu stark verd. alkal. Silberlös. Bot. Centralbl. 1889 S. 614.

Tödtung herbeiführenden Reagentien ja stets der Fall ist, aber nicht mehr, wenn die Zelle vorher abgetödtet wurde.¹⁾

Mithin ist auch aus dem Umstande, dass die Aggregation in der todten Zelle ausbleibt, noch kein Grund für eine ausserordentliche Labilität des im Leben in Reaction tretenden Körpers herzuleiten.

Dass bei den im Zellsaft erzeugbaren Ausscheidungen das Leben der Zelle in der That nur insofern im Spiele ist, als während des Lebens die innere Hautschicht die Stoffmischung im Zellsaft aufrecht erhält, lässt sich daraus erkennen, dass sie beim plötzlichen Tödtten im Augenblicke des Absterbens thatsächlich noch erzeugbar sind. Plasmolysirt man nämlich (z. B. bei *Spirogyra*, *Echeveria* etc.) mit einer Coffeïn (1%) enthaltenden Salpeterlösung (10%), so tritt zunächst keine Aggregation ein. Es geschieht dies erst nach längerer Zeit, wenn nämlich das osmotische Gleichgewicht erreicht ist, weil erst dann ein Diffusionsstrom von aussen nach innen möglich ist. Macht man aber die Plasmolyse plötzlich rückgängig — es genügt schon ein geringer Wasserzusatz —, so platzt in vielen Zellen der Plasmaschlauch, oder wenn dieser bereits bis auf die innere Hautschicht abgestorben war, diese, und in demselben Maasse, als sich jetzt der Zellsaft mit der Aussenflüssigkeit mischt, sieht man die Ausscheidungen auftreten!

Für etwaige Ausscheidungen im Plasma aber ist es noch viel verständlicher, dass dieselben nach dem Tödtten und der damit verbundenen Coagulation desselben ausbleiben.

Nach alledem ist der Werth des Umstandes, dass die Aggregation eine Lebensreaction ist, für den Nachweis, dass der reagirende Körper ein durch ausserordentliche Labilität ausgezeichnete Stoff sein müsse, entschieden in Abrede zu stellen.

Für die Silberabscheidung aus stark verdünnter alkalischer Lösung aber folgt daraus, dass, da dieselbe nur erfolgt, insofern durch die Alkalien der Lösung Aggregation verursacht wurde, diese mit dem Leben unmittelbar nichts zu thun hat.

Wie Bokorny²⁾ selbst beschreibt, tritt auch die Silberreduktion

1) Ein Beispiel hierfür finde ich bei L. und B. selbst in „Die chem. Kraftquelle im lebenden Protoplasma“, wo es S. 44 heisst: „Es ist nun bei dieser Eisen- vitriolreaction bemerkenswerth, dass sie bei geringen Gerbstoffmengen nicht mehr eintritt, wenn der Gerbstoff bereits mit dem Eiweiss der Zelle sich verbunden hat, wie es bei todten Zellen der Fall ist“ etc.

2) Pringsh. Ib. Bd. 18 S. 197, 199, wo es heisst: „Man kann also nicht sagen, die lebenden Zellen scheiden das Silber ab; denn die Functionen, aus denen sich das Leben zusammensetzt, sind grösstentheils schon zerstört, wenn die Silberabscheidung noch fortgeht.“

erst längere Zeit nach dem Einlegen in die alkalische verdünnte Silberlösung ein, wenn das Protoplasma bereits abgestorben ist. Alles das weist darauf hin, dass die Ausscheidungen zur Reduktion befähigt sind, nicht, weil in ihnen besondere chemische Spannkraft, wie sie nur im Leben in der Zelle vorhanden sind, aufrecht erhalten geblieben wären, sondern deshalb, weil sie durch den Ausscheidungsvorgang in concentrirtem und localisirtem Zustande erhalten, an der Diffusion verhindert werden.

* * *

Was die Lage der Ausscheidungen in den Einzelfällen anbetrifft, so sind wir über dieselbe durchaus noch nicht so genau unterrichtet, wie es wünschenswerth wäre. Die Angaben B.'s in dieser Beziehung bedürfen einer Controle, sie beruhen auf zu unkritisch angestellten Beobachtungen. Jedenfalls ist die Entscheidung über den Ort der Entstehung nicht methodisch getroffen, in den meisten Fällen wohl nur nach dem Augenschein, allerdings bei einigen Objecten wenigstens unter Berücksichtigung gewisser Kriterien. Es ist dies für die Lagerung im Plasma (Aggregation, Prgsh. Jahrb. 20, S. 442/43): „1. Unbeweglichkeit eines Theils der Granulationen, 2. Vertheilung dieser in der Fläche eines Cylindermantels, 3. die Erscheinung, als ob die Körnchen an den senkrecht stehenden Wänden besonders dicht lägen“. Alle diese Momente sind indessen für eine objective Lösung der Frage nach dem Orte zu unsicher. Denn wenn die Ausscheidungen des Zellsaftes der Vacuolenwand anliegen, so lassen sofort alle drei im Stich, wie man an Objecten, bei denen nachweislich ausschließlich im Zellsaft Ausscheidungen entstehen, wahrnehmen kann. Für einige Fälle kann ich mit Bestimmtheit behaupten, dass B. sich geirrt, so bei den Crassulaceen, wie bereits erwähnt.

Ich halte es auch nicht für unmöglich, dass es sich bei genauer Untersuchung herausstellen könnte, dass die Ausscheidungen noch in manchen anderen Fällen ausschliesslich im Zellsaft entstehen und nicht im Plasma oder in beiden zugleich.

Der Weg, welcher für die Ermittlung der Lage sicher zum Ziele führt, ist sehr einfach der, Aggregation zu erzeugen und dann die Präparate mit stark plasmolytisch wirkenden Lösungen zu behandeln. Es tritt dann bekanntlich je nach Concentration und mancherlei Neben Umständen früher oder später bei manchen Zellen ein Absterben des Plasmas bis auf die innere Hautschicht (Vacuolenwand) ein, wie

De Vries zuerst zeigte. Man kann alsdann deutlich unterscheiden, was in dem destruirten Plasma liegt und was in der noch geschlossenen Vacuole. Zu beobachten ist dabei, dass man sich vergewissert, dass nicht etwa kleinere Theilvacuolen geplatzt sind und ihren Inhalt dem absterbenden Plasma zugesellt haben.¹⁾

Diesen Weg hat B. bei *Spirogyra* verfolgt (Aggregation S. 443) und kommt zu dem Ergebniss, dass hier sowohl im Plasma wie im Zellsaft Ausscheidungen gelegen sind, was ich bei den daraufhin angestellten Versuchen bestätigt fand.

Ausschliesslich im Zellsaft liegen die Ausscheidungen bei den Crassulaceen, *Nymphaea*, *Rosa*, *Quercus*, den Wurzeln von *Azolla*, *Euphorbia peplus*.

III.

Vergleichende Charakteristik der Ausscheidungen.

Gemeinsames. -- Besonderheiten bei den fleischfressenden Pflanzen. -- Unterschiede der Ausscheidungen bei anderen Pflanzen. — Nichtberechtigung der Identificirung.

Eine der Hauptaufgaben auf dem Wege zur Erforschung von Ursache und Wesen der Aggregationsvorgänge muss natürlich sein, die stoffliche Zusammensetzung der ausgeschiedenen Massen zu ergründen. Hierbei ganz besonders gilt es, sich vor verfrühten Verallgemeinerungen zu hüten.

Allerdings, wenn man mit einer Reihe von Stoffen bei einer Reihe von Pflanzen im Innern von Zellen ähnliche Ausscheidungen erhält, so liegt der Gedanke nahe, dass auch in allen Fällen derselbe oder dieselben Körper als innere Ursache im Spiele sind. Aber sicher ist dies von vornherein doch keineswegs. Es ist das erst zu erweisen. Denn zunächst sind die Ausscheidungsvorgänge doch nur etwas Aeusserliches, Formelles. Es ist also die nächste Aufgabe, überhaupt festzustellen, ob der Charakter der Ausscheidungen, soweit er dem Studium der physikalischen und chemischen Eigenschaften zugänglich ist, nicht vielleicht schon sich als verschieden erweist, ganz abgesehen von der Berücksichtigung irgend eines bestimmten darin vermutheten oder nachgewiesenen Körpers und falls sich Verschiedenheiten ergeben, zu ermitteln, ob diese wesentlich oder unwesentlich sind.

Den Hauptgrund für die Berechtigung, alle diese Bildungen im Wesentlichen für identisch erklären zu dürfen, sieht B. in der ge-

1) Näheres hierüber in Pfeffer, Ueber Aufnahme und Ausgabe ungelöster Körper. Abh. d. königl. sächs. Gesellsch. d. Wissensch. Bd. XVI. Nr. II. S. 166.

meinschaftlichen Entstehungsursache und in dem allen gemeinsamen Silberabscheidungsvermögen. In der That sind dies auch Gründe, welche dafür sprechen und welche einer Discussion werth sind, da sie auf sicheren Thatsachen beruhen. Doch sind beide auch nicht zu überschätzen, denn einestheils sind jene basischen Stoffe keine schwer reagirenden Körper und für das Silberabscheidungsvermögen fehlt uns die Erfahrung, ob dasselbe unter den in der Zelle obwaltenden Verhältnissen nur einem bestimmten Körper, oder doch einer bestimmten Körpergruppe zukommt. Es ist das gar nicht so sicher, da Silber bekanntlich kein schwer reducirbarer Körper ist.¹⁾

Bei der Aufnahme und den Niederschlägen von Methylenblau ist es gewiss, dass mehrere Stoffe das gleiche bewirken und etwas Analoges könnte auch bei der Silberabscheidung durch die Aggregationen vorliegen.

Wenn wir diese Fähigkeit gewisser Stoffe in der Zelle in Betracht ziehen, mit den in sehr verdünnter Lösung die Zellen umspülenden Stoffen unter Festlegung der Produkte an Ort und Stelle zu reagiren, so dass eine allmähliche Anreicherung entsteht, so verliert übrigens auch das Silberabscheidungsvermögen an Wunderbarkeit. Denn es ist klar, dass der Stoff, welcher in den ausgeschiedenen Kügelchen enthalten ist, keine niedere, sondern im Gegentheil eine sehr hohe Concentration haben wird — welcher Stoff es auch sein möge und ob es nun solide festweiche Kügelchen oder Flüssigkeitsblasen sind.

Sind diese Ausscheidungen nur einmal entstanden — und sie entstehen auch durch das in der L.-B.'schen Lösung enthaltene Alkali —, so kann der die Ausscheidungen bildende oder auch nur ein in denselben enthaltener Körper durch allmähliche mit einer Ansammlung des abgeschiedenen Silbers an Ort und Stelle verbundene Reduction die Versilberung bewirken. Liegt die Sache so, so würde auch die Silberabscheidung aus so verdünnter Lösung wie sie L. und B. angewandten — 1 : 1000 ist übrigens relativ gar keine so niedrige Concentration —, nichts Wunderbareres an sich haben, wie die bekannte Aufnahme und Bindung von Anilinfarbstoffen,²⁾ wie des Methylen-

1) Vgl. Baumann, Ueber den von O. Loew und Th. Bokorny erbrachten Nachweis v. d. chem. Ursache des Lebens. Pflüger's Archiv f. Physiol. 1882, S. 414.

2) Pfeffer, Ueber Aufnahme von Anilinfarben in lebende Zellen. Tübinger Unters. II.

blaus, welche sich ebenfalls in ausgezeichneter Weise in den vorher etwa durch Coffein, Ammoncarbonat etc. erzeugten Aggregationen erhalten lässt.¹⁾

* * *

Wie schon mehrfach berührt, zeigen die Ausscheidungen bei *Drosera* und den fleischfressenden Pflanzen der Beachtung werthe Besonderheiten hinsichtlich der Consistenz, ferner der Lösungsercheinungen, sowie auch der Entstehung. Die Ausscheidungen bei den meisten entstehen fast augenblicklich, auch noch bei sehr schwacher Concentration des zugeführten Reagens. Sie stellen nach Allem, was jetzt darüber bekannt ist, von einer Niederschlagsmembran umgebene Flüssigkeitskugeln dar. Wie aus der verschiedenen Schnelligkeit, mit der sich die zusammenfließenden Massen wieder zur Kugel abrunden, hervorgeht, ist zwar auch die Consistenz der Flüssigkeit in den Blasen verschieden, je nach Object, sowie Concentration und Art des bei der Erzeugung angewandten Stoffes, aber sie sind doch höchstens zähflüssig. Auch lassen sie sich bekanntlich durch Auswaschen der Präparate nach Willkür in kurzer Zeit wiederholt zum Verschwinden bringen und wiedererzeugen.

Anders bei *Drosera*, wo ja die Aggregation schon durch andere Mittel (Contact) zu erreichen ist, die bei den übrigen überhaupt nicht wirken und durch geringe Spuren der bei anderen nur in höheren Concentrationen wirksamen Stoffe. Ferner besitzen sie gleich von Anfang an eine sehr zähe Consistenz, wie aus der langsamen Vereinigung und ganz allmählich verlaufenden Abrundung aneinanderstossender Kugeln hervorgeht, und nehmen später sogar noch festere Consistenz an, sie werden brüchig, da sie, wie schon Darwin und De Vries beschreiben und abbilden, beim Zerdrücken klaffende Risse bekommen. Schliesslich sind auch ganz frische Ausscheidungen durch Auswaschen nicht sofort wieder löslich, wie ich aus eigenen Experimenten ersah. Auch Darwin beobachtete (Insektenfr. Pfl. S. 47) an einem Blatte, in welchem durch 24stündiges Liegen in kohlen-saurem Ammon Aggregation eingetreten war und welches nun ge-

1) Ob man von einer Speicherung sprechen darf, hängt ganz davon ab, wie man den Begriff „Speicherung“ fasst. Beschränkt man ihn auf die Anhäufung eines Körpers ohne chemische Veränderung, also auf einen rein physikalischen Vorgang, so ist man im vorliegenden Falle nicht berechtigt, von einer Speicherung zu sprechen, nur wenn man den Begriff weiter fasst und nicht ausschliesst, dass auch chemische Umsetzungen dabei im Spiele sind.

waschen und in Wasser gethan wurde, erst nach 3 Stunden 15 Min. Zeichen der Wiederauflösung, erst nach 24 Stunden war in einigen Zellen die Wiederauflösung vollendet. Auch schreitet, wenn der Anstoss zur Wiederauflösung vollendet. Auch schreitet, wenn der Anstoss zur Ballung durch kohlen-saures Ammon — ich verwendete eine 1%-Lösung — einmal gegeben ist, trotz des Auswaschens desselben nach nur wenige Minuten andauernder Einwirkung der Process ruhig fort.

Die Unterscheidung, welche De Vries macht¹⁾ zwischen Ammon-carbonatfällung und eigentlich physiologischer Aggregation, trägt den thatsächlichen Verhältnissen, die allerdings wohl noch erneuter Studien bedürfen²⁾ und gar nicht so einfach sind, weit mehr Rechnung, als der Versuch B.'s (Aggr. S. 433), Alles im Wesentlichen zu identificiren.

Wie der chemische Vorgang der Aggregation sich im Einzelnen abspielt, wissen wir bis jetzt nicht. Es kann ja schliesslich auch hier ein sehr einfacher den übrigen analoger Fällungsvorgang sein, nur dass hier die reagirenden Stoffe schon in der Zelle vorhanden waren, aber unter Verhältnissen, die erst durch einen von aussen kommenden Reiz so umgestaltet werden, dass eine Reaction eintritt.³⁾

Es galt nun noch zu untersuchen, ob unter den übrigen Objecten Einheitlichkeit im Charakter der Ausscheidungen herrsche oder ob sich auch hier wesentliche Verschiedenheiten ergeben, die uns Anhaltspunkte dafür geben, dass in verschiedenen Objecten vielleicht verschiedene Stoffe die Ursache der Entstehung sind. Der Weg, welcher eingeschlagen wurde, ist folgender: Es wurde, da die der Aggregation fähigen Zellen fast alle Methylenblau speichern, untersucht, ob nach erfolgter Methylenblaufällung in demselben Object bei Behandlung mit Ammoncarbonat überall keine Fällung mehr eintritt, ob sie einander also überall gegenseitig ausschliessen, oder ob es nicht auch

1) De Vries, Ueber Aggr. im Protopl. von *Dracera rotundifolia*. Bot. Ztg. 1886 S. 3.

2) Auch nach den Arbeiten von Darwin und De Vries liegen die Verhältnisse noch nicht vollständig klar und bedürfen einer Controle. Besonders die Darstellung von De Vries leidet daran, dass sie unter dem Einfluss der Tonoplastentheorie steht und es infolge dessen erscheint, als ob der Ballungsvorgang von der Vacuolenwand als activem selbständigem Organe ausginge. Eine Contraction und Theilung der Vacuolen findet ja statt, aber sie ist jedenfalls passiv, ist die Folge einer Quellung des Protoplasmas, die bei der Reizung der Tentakel in den Zellen eintritt auf Kosten des Saft-raumes. Besonders auch die Beziehung zwischen Ammon-carbonatfällung und eigentlicher physiologischer Aggregation, die De Vries mit Recht unterscheidet, verdient noch näheres Studium.

3) Pfeffer, Anilin-farbst. S. 244.

Objecte gibt, bei welchen noch mit Ammoncarbonat Ausscheidungen erzeugbar sind, nachdem vollständige Fällung der Methylenblauverbindung und damit Hand in Hand gehende Entfärbung des Zellsaftes stattgefunden.

War die eine Reaction noch erzeugbar, wenn die andere eingetreten, so war damit erwiesen, dass nicht in allen Fällen derselbe Stoff im Innern die Ursache der Ausscheidungen ist.

Es hat sich nun herausgestellt, dass thatsächlich Aggregation — und sogar ausserordentlich massige — erzeugbar ist, auch wenn keine Methylenblauspeicherung stattfindet, oder wenn das zuerst im Zellsaft gespeicherte Methylenblau bereits vollständig mit anderen Stoffen in Gestalt körniger Massen ausgefallen ist. Es war dies bei allen untersuchten Spirogyren der Fall.

Die Versuche wurden folgendermaassen angestellt: In Methylenblaulösung von Concentrationen zwischen 1:100 000 und 1:800 000 wurden verschiedene Spirogyren gebracht, je nach der Concentration nur wenige Minuten bis mehrere Stunden. Es lagen mir zumeist solche Objecte vor, welche wenig Gerbstoff enthielten und den Farbstoff im Zellsaft — vielleicht infolge dessen — gar nicht, oder nur sehr schwach speicherten. Dem entsprechend schieden sich auch nur wenig oder gar keine blauen Körnchen aus. Nach Behandlung mit Ammoncarbonat oder Coffeïn — es wurde meist eine 0,5%-Lösung angewendet — aber erfolgte eine ausserordentlich starke Ausscheidung, ebenso stark wie in nicht mit Methylenblau behandelten, ganz wie dies auch bei den nach L. und B.'s Methode¹⁾ gerbstofffrei gezüchteten Spirogyren der Fall ist.

In anderen — und wohl den meisten — Fällen dagegen findet ein strenges gegenseitiges Ausschliessen statt. Sind die Methylenblaufällungen eingetreten, so vermag Coffeïn etc. keine neuen Ballungen hervorzurufen. So bei *Azolla*, *Quercus*, *Rosa*, sowie gewissen Zellen in fast allen Theilen von *Nymphaea alba*, welche durch rothen oder violetten Zellsaft ausgezeichnet sind und Methylenblau so lebhaft speichern, dass die ursprüngliche Färbung kaum mehr wahrzunehmen ist.

Der Stoff, welcher bei *Spirogyra* die Ausscheidungen hervorrufft, kann also bei den zuletzt besprochenen Objecten nicht vorhanden sein. Es sind mithin nicht in allen Fällen dieselben Körper die Ursache der Ausscheidungen. Ein Zusammenwerfen der

1) L. und B., Ueber d. Verh. v. Pflanzenz. zu stark verd. alkal. Silberlös. II. Bot. Centralbl. 1889 S. 370 und Versuche üb. akt. Eiweiss für Vorl. und Praktikum. Biol. Centralbl. 1891. Separatabdr. S. 4.

Aggregationsvorgänge, wie es B. in seiner Arbeit „Ueber Aggregation“ thut, ist also, wenn man die Ursache dabei im Auge hat, nicht berechtigt, man muss vielmehr, um vor den Folgen vorzeitiger Verallgemeinerungen geschützt zu sein, sich von Fall zu Fall über die Art des Vorgangs und der beteiligten Stoffe Klarheit verschaffen.

Will man also die Uebertragung des Namens „Aggregation“ von *Drosera* und den fleischfressenden Pflanzen, für welche derselbe durch die Bezeichnung Darwin's historisches Recht hat, anerkennen, so bezeichnet dieser Name nicht mehr eine bestimmte Reaction derselben Körper, sondern nur rein äusserlich ähnliche Ausscheidungsvorgänge und die Produkte derselben, die das gemeinsam haben, dass sie durch dieselben basischen Stoffe hervorgerufen werden können.

Dann könnte man schliesslich auch noch weiter gehen und überhaupt jede Art von Fällung zuvor gelöster Stoffe in der Zelle, gleichviel welcher chemischen und physikalischen Beschaffenheit, mit dem Namen belegen. Es würden dann auch die Anilinfarbstoffausscheidungen in der Zelle mit vollem Rechte den Aggregationsvorgängen zuzuzählen sein.

IV.

Die in den Ausscheidungen nachgewiesenen Stoffe und ihre Rolle.

Aufzählung. — Betheiligung von Fett (Lecithin) — von Eiweiss — von Gerbstoff. — Rolle derselben, insbesondere des Gerbstoffs als Ursache.

Ein wichtiger Schritt, um die Ursache der Ausscheidungen zu ermitteln, war natürlich die Erforschung der stofflichen Zusammensetzung der Ausscheidungen selbst.

Nach den bisherigen Angaben wären Eiweiss, Gerbstoff und Fett (Lecithin) die Stoffe, welche in den Ausscheidungen gefunden wurden. Auch gehen bekanntlich die häufig im Zellsaft gelösten Farbstoffe regelmässig mit in dieselben ein. Dem kann ich noch hinzufügen, dass auch Phloroglucin sich bei gewissen Objecten, nämlich den Crassulaceen, in denselben findet, wie sich bei Behandlung mit dem Lindt'schen Reagens,¹⁾ einer alkoholischen Lösung von Vanillin in Salzsäure, leicht zeigen lässt.

Was den Gehalt an Fett (Lecithin) betrifft, so darf man diesen wohl in Frage ziehen, da die von L. und B. zum Nachweis angewandte Reaction durch 1 proc. Ueberosmiumsäure nicht eindeutig ist.

1) Th. Waage, Ueber d. Vorkommen u. d. Rolle des Phloroglucins in der Pflanze. Ber. d. deutsch. bot. Ges. 1890 S. 250.

Dieser Einwand ist um so mehr berechtigt, als in sehr vielen Fällen die Gegenwart von Gerbstoff in den Ausscheidungen erwiesen ist, durch welche bekanntlich auch eine Schwärzung mit Ueberosmiumsäure¹⁾ eintritt.

Der Eiweissgehalt der Ausscheidungen ist einer der am meisten kritischen Punkte. Die Eiweissreactionen sind ja an sich schon kritisch für mikrochemische Zwecke, weil sie ohne Ausnahme die Structur der Zellen stark zerstören und häufig durch andere in der Zelle befindliche Stoffe, wie z. B. Gerbstoff, in ungünstiger Weise beeinflusst werden.²⁾ Es werden dann auch in vielen Fällen unsere Ausscheidungen zerstört und dadurch die Unterscheidung und Bestimmung unmöglich gemacht.

Bei *Drosera* zeigen die Aggregationen mit Millon's Reagens starke Farbenreactionen, aber es ist nicht die typische rothe Farbe, welche man erhält, sondern ein mehr oder weniger dunkles Braun, welches mehr ins Gelbe als ins Rothe spielt und die grösste Intensität in den Zellen des Köpfchens der Tentakeln besitzt. Auch nach Extraction mit Wasser von Siedetemperatur tritt keine andere Färbung ein, nur die Intensität ist geringer. Dass die Gelbfärbung mit Jod nicht entscheidend ist, braucht wohl nicht mehr weiter erörtert zu werden. Wenn wir ohne Vorurtheil die Frage beantworten wollen, wie es mit dem Nachweise von Eiweissstoffen bei *Drosera* steht, so müssen wir eingestehen, dass derselbe bis jetzt nicht geführt ist, mag nun thatsächlich Eiweiss darin sein, oder nicht. Wir wissen es eben nicht.

Nach den Versuchen, die ich an *Spirogyra* anstellte, habe ich mich von der Betheiligung von Eiweiss nicht überzeugen können. Mit Millon's Reagens, welches auch die frischen Ausscheidungen nicht zerstört, habe ich nie die typische Farbe erhalten, auch nicht, wenn sie gerbstoffarm waren. Zucker und Schwefelsäure (Raspail'sche Reaction), sowie heisse alkalische Kupfersulfatlösung (Biuretreaction) zerstören die Ausscheidungen.

Die in vielen Fällen zu beobachtende Löslichkeit der Ausscheidungen in Alkohol — nur bei älteren bleibt häufig ein hautartiger Rest —, das Ausbleiben der Coagulation bei Einwirkung höherer Temperaturen sprechen direct gegen eine allgemeine Betheiligung von Eiweisskörpern.

1) Gierke, Färberei zu mikroskopischen Zwecken S. 60.

2) Klercker, Studien über Gerbstoffvacuolen S. 39 und Pfeffer, Flora 1889 S. 52.

Dass frisch mit Coiffein (0,5%) erzeugte Ausscheidungen beim Aufsieden in einem Tropfen der Coffeinelösung nicht coaguliren und sich in Alkohol lösen, habe ich bei *Spirogyra*-, *Echeveria*- und *Sedum*-Arten beobachtet.

Auch Klerker (Gerbstoffvakuolen S. 39) berichtet, dass ihm der Nachweis von Eiweiss in Ausscheidungen mit Ammoncarbonat nicht gelungen und L. und B.¹⁾ geben selbst die Schwierigkeiten, diese Reaction mit überzeugender Deutlichkeit zu erhalten, zu.

Es bedürfte jedenfalls weiterer speciell zu dem Zwecke und nach einer diesem angepassten Methode angestellter Untersuchungen, um zu entscheiden, wie weit eine Betheiligung von Eiweiss wirklich besteht. Vor der Hand ist diese für die grosse Mehrzahl der Fälle problematisch.

Als unbestritten muss dagegen gelten, dass die Ausscheidungen in den meisten Fällen einen Gehalt an Gerbstoff haben, ja dass für viele Fälle Gerbstoff der einzige sicher in den Ausscheidungen nachgewiesene Körper ist (*Azolla*, *Quercus*, *Rosa*, *Nymphaea* u. a.).

Die Frage aber ist, welche Rolle spielt derselbe? Verhält er sich rein passiv, wird er nur gespeichert, oder steht er in activem, ursächlichem Zusammenhang mit dem Zustandekommen der Ausscheidungen, ist er überhaupt allein schon ohne Betheiligung anderer Körper im Stande, die Ausscheidungen zu veranlassen?

L. und B. erklären den Gerbstoff in allen Fällen für nebensächlich: „er wird einfach mitgerissen“.

Meines Erachtens haben L. und B. sich zu einseitig auf das eine Object *Spirogyra* stützend, in welchem wir einen besonderen nicht überall verwirklichten Fall kennen gelernt haben, zu früh verallgemeinert. Es ist doch klar, dass das, was in dem einen Falle Nebensache ist, in anderen Fällen Hauptsache sein kann.

Gegen Gerbstoff als alleinige Ursache ist hauptsächlich geltend gemacht worden, dass man überall auch mit Ammoniak die Aggregation hervorrufen könne, Ammoniak aber gäbe mit Gerbstoff in verdünnten Lösungen keinen Niederschlag, also könne er die Ursache nicht sein.²⁾ Ferner ist die Löslichkeit der Ausscheidungen in concentrirter Salzsäure als Grund gegen Gerbstoff angeführt worden, sowie das Ausbleiben der Reaction in zuvor getödteten Zellen, ganz

1) L. u. B., Ueber d. Verh. v. Pflanzenz. zu stark verd. alkal. Silberl. Bot. Ctrtbl. 1889 Nr. 39 S. 372.

2) L. u. B., Ueber d. Verh. v. Pflanzenz. zu stark verd. alkal. Silberl. Bot. Ctrtbl. 1889 Nr. 19 S. 615.

besonders aber ist ins Feld geführt worden, dass die Niederschläge die Silberreaction geben, während Gerbstoff nur eine Reduction zu Oxydul¹⁾, die sich in einer Braunfärbung zu erkennen gibt, hervorrufen soll, aber keine Reduction zu metallischem Silber. Ausserdem sind noch eine Reihe anderer Gründe, warum Gerbstoff nicht die Ursache sein könne, vorgebracht worden.

Es kann nicht meine Aufgabe sein, diese alle einzelnen zu widerlegen, sie beruhen zum Theil auf der Nichtberücksichtigung der Verhältnisse in der Zelle, zum Theil auf der Verallgemeinerung der Verhältnisse bei dem von L. und B. am meisten untersuchten Objecte *Spirogyra*, zu welcher man um so weniger berechtigt ist, als hier besondere Verhältnisse obwalten.

Es ist eine solche Widerlegung im Einzelnen auch überflüssig, da sich positiv erweisen lässt, dass die durch Einlegen in eine Coffeïn-lösung (0,5%) in einer mit Gerbstoff — ich experimentirte mit 1% und 0,5% — gefüllten Capillare entstehenden Ausscheidungen, die übrigens ganz den Charakter der in vielen Zellsäften entstehenden haben, lebhaft wimmeln und sich zu grösseren Massen vereinigen, auch durch Wegwaschen der Coffeïn-lösung wieder verschwinden, gleichfalls Silber abscheiden, wenn man die Capillaren nachträglich in die bekannte Silberlösung A bringt. Eine Auflösung erfolgt nicht, da dies von dem Alkali der Silberlösung verhindert wird. Dass hier thatsächlich Silber abgeschieden wird und nicht nur eine Reduction zu Oxydul oder Oxyd stattfindet, geht daraus hervor, dass Ammoniak und Salzsäure keine Veränderung hervorbringen. Es stimmt dies überein mit dem, was Pfeffer (Flora, 1889 S. 50) an den durch Ammoncarbonat in Gerbstoff in der Capillare erzeugten Ausscheidungen fand.

Bezüglich der Fällungen zwischen Tannin und Ammoncarbonat hatte bereits Klerker (Gerbstoffvacuolen S. 41 f.) gefunden, dass die Concentrationsgrenzen für die Reagirfähigkeit der Lösungen in der Capillare andere und zwar nicht so enge sind, wie im Reagenrohr. Er ermittelte auch, dass die Concentration der Ammoncarbonatlösung für die Wirksamkeit in der Capillare ebenso gering sein kann, wie z. B. bei *Azolla*.

Aehnlich bei Gerbstoff und Ammoniak. Von diesen geben nur concentrirtere Lösungen im Reagenrohr einen Niederschlag, in verdünnten ist keiner zu beobachten.

1) Silberoxydul (Ag_2O) soll nach einer Angabe in Graham-Otto, Anorganische Chemie Bd. 4 S. 1710, überhaupt nicht existiren.

Anders in der Capillare. Als ich nämlich Gerbstofflösungen (0,5% und 1%) in eine Capillare brachte und darauf mit Ammoniak von einer Concentration behandelte, welche in Pflanzenzellen Aggregation erzeugte, erhielt ich einen Niederschlag, der freilich nur in einer allmählich sich verschiebenden Diffusionszone sich zu erhalten im Stande war. Es sagt dies, dass es nur auf das Verhältniss der Stoffe zu einander ankommt, ob ein Niederschlag erfolgt, oder nicht. Die Sache dürfte so zu erklären sein, wie dies im Kap. II S. 402 dieser Arbeit auseinandergesetzt wurde für Fälle, in denen schon ein geringer Ueberschuss des einen wie des anderen der gegen einander reagirenden Körper eine Ausscheidung des Produktes verhindert. Es wird dann verständlich, warum überhaupt nur sehr verdünnte Lösungen von Ammoniak und kohlensaurem Ammon geeignet sind, Ausscheidungen hervorzubringen. Auch stimmt damit sehr gut überein die geringere Beständigkeit der mit Ammoniak und kohlensaurem Ammon erzeugten Niederschläge gegenüber den mit Coffein und anderen Alkaloïden erzeugten, denn die letzteren sind nur im Ueberschusse des einen der reagirenden Stoffe, nämlich des Tannins, löslich.

Die gegen die Möglichkeit einer ursächlichen Betheiligung von Gerbstoff geltend gemachten Gründe können diesen positiven Ergebnissen gegenüber nicht beweiskräftig sein. Verschiedenheiten des Verhaltens gegen nachträglich darauf wirkende Reagentien können bis zu einem gewissen Grade durch Stoffe, welche beim Ausfällen mitgerissen oder gespeichert wurden, bedingt sein. So werden z. B. die mit Coffein erzeugten Tanninausscheidungen durch Spuren von Ammoniak wenn nicht unlöslich, so doch weit schwerer löslich,¹⁾ die gleiche Eigenschaft, welche auch den Ausscheidungen in den lebenden Zellen zukommt. Die Eigenschaft, durch Spuren von Jod unlöslich zu werden, theilen die Coffein-Tanninniederschläge gleichfalls mit denen in der Zelle.

Es steht also thatsächlich der Annahme, dass ein Modus der Aggregation Gerbstoff zur Ursache haben kann, nichts Gewichtiges gegenüber.

Bei der grossen Reagirfähigkeit der ausgezeichnete Aggregationsreagentien abgebenden Alkaloïde mit Gerbstoff wäre für diese wenigstens

1) Gleiche Theile Tanninlösung 1% und Coffeinl. 0,5 % gaben einen Niederschlag, der sich bei Verdünnung durch Wasser auf etwa das 30fache löste, im 50fachen des mit Ammoniak versetzten Wassers dagegen war noch vollständige Trübung vorhanden. Dieselbe verschwand jetzt erst bei starkem Zusatz von Ammoniakliquor.

ein Ausbleiben der Reaction in Zellsäften mit hohem Gerbstoffgehalt im höchsten Grade befremdend. Nur das Nichteindringen würde eine Erklärung dafür abgeben. Dass ein Eindringen stattfindet, geht aus den Kap. II S. 406 beschriebenen Experimenten hervor.

Uebereinstimmung mit den bei Tannin mit dem Aggregationsreagentien zu erhaltenden Ausscheidungen herrscht bei *Azolla*, *Quercus*, *Rosa*, *Nymphaea*, den Crassulaceen, so dass man hier vollberechtigt ist, in dem Ausscheidungsvorgange im Wesentlichen eine Gerbstoffreaction zu erblicken.

V.

Physiologische Bedeutung der Ausscheidungen. -- Rückblick.

Physiologische Bedeutung.

Dem was über die Abhängigkeit der Aggregationsvorgänge vom Leben bereits erwähnt worden ist (II. S. 405 f.) habe ich nur noch hinzuzufügen, dass Chloroformiren bei *Spirogyra* und den Crassulaceen ohne Einfluss auf das Zustandekommen der Ausscheidungen ist. Die Objecte hatten bei den daraufhin angestellten Experimenten 5—10 Minuten in halbgesättigtem Chloroformwasser gelegen ehe sie mit den Aggregationsreagentien behandelt wurden.

In die Bedeutung der Ausscheidungsvorgänge für das Leben der Zelle lässt sich vor der Hand noch kein Einblick gewinnen. Nur so viel lässt sich schliessen, dass die Bindung, welche die Stoffe im Innern der Zelle durch die Ausscheidung erleiden, von grosser Tragweite für das Leben der Zelle nicht sein kann, abgesehen von den Vorgängen bei den fleischfressenden Pflanzen.

Wo es Gerbstoff ist, wäre das ja nach den herrschenden Anschauungen über die Bedeutung desselben ohne Weiteres einleuchtend. Aber auch in den Fällen, wo Gerbstoff unwesentlich ist, wie bei *Spirogyra*, wirft der Umstand, dass die Objecte, wie B. angegeben¹⁾ und wie ich bestätigt fand,²⁾ wochenlang lebensfähig bleiben, ja fortwachsen können, ein bemerkenswerthes Schlaglicht auf die Sache, welches für

1) L. u. B., Versuche über aktives Eiweiss für Vorlesung und Praktikum. Biol. Ctrbl. 1891 Bd. 11, Separatabdruck S. 10.

2) Ich verwendete Knop'sche Nährlösungen von $\frac{1}{8}\text{‰}$ und $\frac{1}{4}\text{‰}$ Salzgehalt und einem Coffeingehalt von $0,01\text{‰}$ und $0,001\text{‰}$. Nach mehreren Wochen waren auch in den jungen zugewachsenen Zellen Ausscheidungen vorhanden. Die Lösungen wirkten auf neuerdings hineingebrachte Objecte noch Ausscheidungen erzeugend.

einen grossen Werth des ausgeschiedenen Körpers — was für ein Körper es auch sein mag — für den Haushalt der Zelle nicht spricht.

Es ist nach den jüngst dargelegten Anschauungen L. u. B.'s zwar nur der Vorrath, der noch nicht organisirte Theil des aktiven Albumins, welcher in Ballung tritt. Da aber dasselbe stets als nicht organisirtes entstehen soll,¹⁾ dieses aber durch die Reagentien sogleich festgelegt werden würde, so würde die Consequenz sein, dass die Spirogyren ohne aktives Eiweiss nicht nur leben, sondern ohne Neubildung von Eiweiss sogar wachsen können! Ein grösserer Widerspruch ist kaum denkbar und es ist wohl überflüssig, ein weiteres Wort darüber zu verlieren.

Rückblick.

Was man „Aggregation“ genannt hat, ist nur die äusserlich ähnliche Erscheinung verschiedenartiger Vorgänge.

Die Aggregation bei *Drosera* und den fleischfressenden Pflanzen ist besonderer Natur und nicht, wie dies B. gethan hat, mit den Vorgängen bei anderen Pflanzen zusammen zu werfen. Es coincidiren hier, wie De Vries zeigte, bei Behandlung mit basischen Stoffen zweierlei Vorgänge, von denen der eine auch durch andere Mittel, wie z. B. durch Contact, aufgelöst werden kann.

Es bestätigt sich, dass, wie L. und B. für *Spirogyra* feststellten, Gerbstoff, wenn vorhanden, nur nebensächlich sein kann, da auch bei Bindung desselben durch Methylenblau oder bei künstlich gerbstofffrei gezüchteten Objecten Ausscheidung eintritt, also ein anderer der Aggregation fähiger Körper die Ursache sein muss. Die Bestimmung dieses Körpers steht noch aus.

Für eine Anzahl Fälle ist es nicht nur möglich, sondern gewiss, dass Gerbstoff die Hauptrolle spielt. Wo dies so ist, steht der Annahme nichts entgegen, dass die Bildung ein analoger Fällungsvorgang ist, wie er in mit Gerbstofflösung gefüllten Capillaren durch die Aggregationsreagentien herbeigeführt werden kann. Dieser letztere Modus ist auf den Zellsaft beschränkt, aus welchem auch andere Stoffe, besonders etwa vorhandene Farbstoffe, bei den Crassulaceen auch Phloroglucin, in die Ausscheidungen aufgenommen werden.

* * *

Es ist nicht berechtigt, in den Ausscheidungsvorgängen eine Reaction des hypothetischen „aktiven Eiweisses“ und in den Aus-

1) L. u. B., Versuche über akt. Eiw. für Vorlesung und Praktikum. Biol. Ctrbl. 1891 XI. Nr. 1 S. 1. Ann. Flora 1892.

scheidungsprodukten selbst im Wesentlichen durch Polymerisation entstandene Kügelchen jenes hypothetischen Körpers zu erblicken.¹⁾ Wohl aber sind die Ausscheidungen die Vorbedingungen für das Zustandekommen der Silberreaction, eines allmählich verlaufenden Vorgangs, bei welchem durch Abscheidung des reducirten Silbers an Ort und Stelle eine allmähliche Anreicherung stattfindet. Er hat mit dem Leben der Zelle unmittelbar nichts zu thun. Auch für das Zustandekommen der Aggregationen ist das Leben nur aus mechanischen, nicht aus chemischen Ursachen nothwendig.

Litteratur.

- Ch. Darwin, *Insectivorous plants*. 1875. Uebersetzung von Carus.
 — — *The action of carbonate of ammonia on the roots of certain plants*. *Linnean Society's Journal-Botany*. Vol. 19. 1882.
 Fr. Darwin, *The process of aggregation in the tentacles of Drosera rotundifolia*. *Microscopical Journal*. Vol. 16 n. s.
 O. Löw u. Th. Bokorny, *Die chemische Kraftquelle im lebenden Protoplasma*. 1882.
 W. Pfeffer, *Ueber Aufnahme von Anilinfarben in lebende Zellen*. *Tübinger Unters.* Bd. II. 1886.
 H. De Vries, *Ueber Aggregation im Protoplasma von Drosera rotundifolia*. *Bot. Ztg.* 1886.
 O. Löw u. Th. Bokorny, *Ueber das Vorkommen von aktivem Albumin im Zellsaft und dessen Ausscheidung in Körnchen durch Basen*. *Bot. Ztg.* 1887.
 Th. Bokorny, *Neue Untersuchungen über den Vorgang der Silberabscheidung*. *Prgsh. Jb.* 18, 1887.
 — — *Ueber die Einwirkung basischer Stoffe auf das lebende Protoplasma*. *Prgsh. Jb.* 19, 1888.
 J. E. F. af Klercker, *Studien über die Gerbstoffvacuolen*. 1888.
 Th. Bokorny, *Ueber Aggregation*. *Prgsh. Jb.* 20, 1889.
 W. Pfeffer, Löw und Bokorny's Silberreduction in Pflanzenzellen. *Flora* 1889.
 O. Löw u. Th. Bokorny, *Ueber das Verhalten von Pflanzenzellen zu stark verdünnter alkalischer Silberlösung I und II*. *Bot. Centralbl.* 1889.
 Th. Bokorny, *Zur Kenntniss des Cytoplasmas*. *Ber. d. deutsch. bot. Ges.* 1890.
 O. Löw u. Th. Bokorny, *Versuche über aktives Eiweiss für Vorlesung und Praktikum*. *Biol. Centralbl.* XI, 1891.

1) Selbst bei der Annahme, dass die Aggregation eine Reaction des „aktiven Albumins“ sei, stünde es schlimm um die Allgemeinheit des Nachweises, welche diesem Körper unbedingt zukommen müsste, denn es würde sich dann eben der Nachweis überhaupt nur auf die der Aggregation fähigen Zellen erstrecken. Der Nachweis schmilzt damit auf einen Umfang zusammen, der in umgekehrtem Verhältnisse steht zu dem, welchen man für einen Träger des Lebens zu fordern nicht nur be-rechtigt, sondern verpflichtet ist.

Berichtigung.

- Seite 396. Zeile 1 ist zu lesen: De Vries, nicht De Vrier.
" 2 " " " in der, nicht in des.
- Seite 399. Zweiter Absatz ist zu lesen: Dass bei einigen Objecten doch Silber-
reduction stattfindet unter gewissen Verhältnissen etc.
- Seite 409. Unten muss es heissen: 1:100000, nicht 1:1000.

Druck von Val. Höfling, München, Kapellenstr. 3.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

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

Jahr/Year: 1892

Band/Volume: [75](#)

Autor(en)/Author(s): Klemm Paul

Artikel/Article: [Beitrag zur Erforschung der Aggregationsvorgänge in lebenden Pflanzenzellen. 395-420](#)