

MITTEILUNGEN

DES

NATURWISSENSCHAFTLICHEN VEREINES

AN DER

UNIVERSITÄT WIEN.

UNTER MITWIRKUNG DES REDAKTIONSKOMITEES

REDIGIERT VON

ERWIN JANCHEN.

Die Mitteilungen erscheinen in 8–10 Nummern jährlich, für Mitglieder kostenlos.

Bezugspreis für Nicht-Mitglieder 4 K. Preis einzelner Nummern 60 h.

Bibliotheksstunden des Vereines Dienstag und Freitag 6–8 Uhr.

Die Methoden der biologischen Eiweiß- differenzierung in ihrer Anwendung auf die Pflanzensystematik.

Von ERWIN JANCHEN.

Die biologische Eiweißdifferenzierung ist eine Errungenschaft der letzten anderthalb Dezennien, die nicht nur für verschiedene Zweige der Medizin und für die Nahrungsmitteluntersuchung weittragende praktische Bedeutung erlangt hat, sondern für jeden Biologen, ebenso Botaniker wie Zoologen, von größtem theoretischen Interesse ist. Nicht nur der chemische Physiologe, in dessen Arbeitsfeld die biologische Eiweißdifferenzierung methodisch gehört und der ihren chemischen Grundlagen nachzuspüren berufen ist, wird sich mit ihr beschäftigen müssen, sondern auch der Systematiker, aus dessen Forschungsgebiet vielfach die Fragestellung entnommen ist und dem die Nutzenanwendung der Ergebnisse zugute kommt oder wenigstens späterhin zugute kommen kann. Die Kenntnis der Grundtatsachen, auf denen die biologische Eiweißdifferenzierung fußt, der Grundbegriffe, mit denen sie täglich operiert, und der wichtigsten Ergebnisse, die sie bis jetzt erzielt

hat, sollte sich daher jeden, der sich näher mit Naturwissenschaften befaßt, anzueignen trachten. Eine solche ganz allgemeine Orientierung vom systematisch-botanischen Standpunkte aus soll in den nachstehenden Zeilen geboten werden; irgendwelche Vollständigkeit, wie sie von einem regelrechten Sammelreferat verlangt werden kann, würde nicht angestrebt¹⁾.

Bei der bedeutenden Rolle, welche chemische Vorgänge im Leben jedes Organismus spielen, ist es begreiflich, ja selbstverständlich, daß die nähere oder entferntere gegenseitige Stellung, die zwei Organismen im großen Stammbaume des organischen Reiches innehaben, auch in ihrem Chemismus zum Ausdrucke kommen muß. Wenn nun die natürliche Verwandtschaft schon in Reserve-substanzen und Nebenprodukten des Stoffwechsels sich dokumentiert, um wie viel mehr wird sie sich im Aufbau der mit dem Lebensprozeß viel enger verknüpften hochzusammengesetzten Eiweißkörper widerspiegeln müssen. Mit solchen kompliziert gebauten Eiweißsubstanzen, deren genauere Zusammensetzung unbekannt ist, operiert nun die biologische Eiweißdifferenzierung. Was sie bei ihren Reaktionen zeigt, ist nicht direkt die natürliche Verwandtschaft von Organismen, sondern nur die chemische Verwandtschaft von Eiweißstoffen, und zwar nicht der gesamten Eiweißsubstanzen der betreffenden Organismen, sondern nur gewisser Eiweißsubstanzen, die eben in die angewendeten Reaktionen eingehen — und es ist sehr fraglich, ob dies immer die charakteristischsten und für natürliche Verwandtschaft maßgebendsten Eiweißstoffe sind. Hieraus ergibt sich die Notwendigkeit, die chemischen Grundlagen der biologischen Eiweißdifferenzierung in Zukunft noch bedeutend zu vertiefen, und es ergibt sich überdies die Notwendigkeit, bei der Nutzanwendung einer biologischen Eiweißdifferenzierung Vorsicht walten zu lassen. Die experimentell festgestellte Eiweißverwandtschaft zweier Organismen ist nur ein Indizium für natürliche Verwandtschaft und noch nicht ein vollgültiger Beweis für solche; es müssen auch die übrigen Indizien damit in Einklang stehen. Überhaupt war es in Anbetracht der vielen Fehlerquellen, denen die biologische Eiweißdifferenzierung ausgesetzt ist, zuerst notwendig,

¹⁾ Den Herren F. Ballner, R. Graßberger, R. Kraus, L. v. Portheim, H. Reichel und J. Stadlmann ist der Verfasser für Beschaffung einschlägiger Literatur zu bestem Dank verpflichtet.

an Organismen, deren Verwandtschaftsverhältnisse bekannt sind, die Verwendbarkeit der Methoden zu erweisen, bevor man dazu übergehen konnte, die systematische Stellung umstrittener Organismen durch die neuen Methoden zu ermitteln. Wenn daher auf dem Wege der biologischen Eiweißdifferenzierung für die Systematik bis heute noch wenig neues geleistet wurde, so ist dabei zu berücksichtigen, daß die Methoden noch sehr jung sind, und daß die bisherigen Versuche mit Tieren und Pflanzen, insofern sie nicht überhaupt im Dienste der gerichtlichen Medizin oder der Lebensmitteluntersuchung standen, vorwiegend darauf abzielten, an Hand bekannter Objekte die Methoden zu prüfen und zu vervollkommen.

Nach diesen Vorbemerkungen wollen wir die beiden meistverwendeten Methoden, die der Präzipitation und die der Komplementbindung, einzeln besprechen.

Bei der Erörterung der chemisch-physiologischen Grundlagen dieser Methoden müssen wir uns zunächst auf das Gebiet der modernen Serunkunde begeben.

Bringt man in die Blutbahn oder, was im Endeffekt auf dasselbe herauskommt, in die Leibesflüssigkeit eines Tieres gewisse Stoffe, wie pflanzliche oder tierische Toxine, Bakterien, Blut, Milch oder überhaupt pflanzliches oder fremdes tierisches Eiweiß in der verschiedensten Form, so reagiert das so geimpfte Tier, vorausgesetzt, daß es für eine schädigende Wirkung dieser Substanzen empfänglich ist, derselben aber nicht sofort erliegt, durch die Bildung sogenannter Antikörper, das sind Substanzen, welche die schädigende Wirkung der eingeimpften Stoffe hemmen oder doch verringern; das Blutserum der geimpften („immunisierten“) Tiere wird dann als Antiserum oder Immunserum bezeichnet. Solche Stoffe, welche bei Einimpfung die Bildung von Antikörpern im Blute zur Folge haben, werden Antigene genannt. Es sind dies durchgehends kolloidale Substanzen, und zwar vorwiegend, wenn schon nicht ausschließlich, Eiweißkörper. Die chemische Zusammensetzung fast aller ist derzeit noch unbekannt. Die durch sie verursachten Antikörper sind von sehr verschiedenartiger Natur. Ihre chemische Zusammensetzung ist gleichfalls unbekannt und sicher sehr kompliziert; keiner der Stoffe wurde noch rein

dargestellt, sondern man hat dieselben nur aus ihren charakteristischen Wirkungen erschlossen.

In der angegebenen Weise bilden sich gegen tierische und pflanzliche Toxine (Schlangengift, Bakteriengifte, Ricin, Abrin etc.) die entsprechenden Antitoxine, welche die Giftwirkung der ersteren hemmen. Gegen Bakterienzellen bilden sich einerseits Bakterio-Agglutinine, welche dieselben zusammenballen („agglutinieren“) und schließlich zur Abscheidung aus einer Flüssigkeit bringen, andererseits Bakterio-Lysine, welche die Bakterienzellen töten und zur Auflösung bringen. Gegen rote Blutkörperchen bilden sich in analoger Weise Hämagglutinine und Hämolsine, welche letztere die roten Blutkörperchen derart schädigen, daß das Hämoglobin aus ihnen austritt und die umgebende Flüssigkeit rot färbt. Ähnliche die Zellen tötende Antikörper, Zytotoxine, bilden sich auch gegen weiße Blutkörperchen, Spermazellen, Flimmerepithelzellen und andere zellige Elemente. Gegen Lösungen von pflanzlichem oder tierischem Eiweiß bilden sich einerseits Präzipitine, welche Eiweiß aus der Lösung fällen („präzipitieren“), andererseits die eigentümlichen komplementbindenden Substanzen, die uns noch später näher beschäftigen werden. Die Zahl der in jede dieser Gruppen gehörenden Substanzen ist eine fast unbegrenzte, denn jedem Toxin entspricht sein spezifisches Antitoxin, jedem Blute sein spezifisches Hämolysin, dem Eiweiß jeder Tier- und jeder Pflanzenart sein spezifisches Präzipitin usf.

Wir betrachten uns zunächst das Phänomen der Präzipitation: ein Tier — gewöhnlich ist es ein Kaninchen — wird mehrere Wochen lang durch wiederholte Einspritzung (intravenös, subkutan oder intraperitoneal) einer bestimmten Eiweißlösung gegen diese immunisiert, sodann wird von dem Tiere Serum gewonnen und dieses mit dem zur Immunisierung verwendeten Eiweiß geprüft: es ergibt sich ein Niederschlag.

Die Existenz von Präzipitinen wurde im Jahre 1897 von Rudolf Kraus (Wien) entdeckt. Er zeigte, daß gewisse antibakterielle Sera (Choleraserum, Coliserum), abgesehen von ihren spezifischen agglutinierenden und bakteriziden Eigenschaften, auch in Filtraten und Extrakten der entsprechenden Bakterienkulturen Niederschläge hervorrufen und daß diese Niederschläge spezifisch sind, also nur bei Stoffen

der gleichen Bakterienart auftreten. Im Jahre 1899 wurde von Tschistowitch und Bordet die Tatsache festgestellt, daß auch bei Vorbehandlung mit artfremdem tierischen Eiweiß, beispielsweise Blut oder Milch, sich in dem Serum des immunisierten Tieres spezifisches Präzipitin gegen das eingepfote Eiweiß bildet. Bald darauf wurden von Wassermann (1900, 1901) und Uhlenhuth (1901) auf Grund ausgedehnter Versuche die Methoden zur differenzialdiagnostischen Unterscheidung verschiedener Eiweißkörper, namentlich zur Unterscheidung von Menschen- und Tierblut für forensische Zwecke, ausgearbeitet.

Gleichzeitig zeigte sich aber durch die Arbeiten verschiedener Forscher, daß die Wirkung der Präzipitine keine absolut spezifische ist, indem dieselben nicht nur mit dem zur Immunisierung verwendeten Eiweiß, dem „homologen“ Eiweiß, in Reaktion treten, sondern auch, aber in schwächerem Maße, mit dem Eiweiß nahe verwandter Tiere. Je näher zwei Tierarten einander im Systeme stehen, je gleichartiger demnach der feinere Bau ihres Körpereiweißes ist, desto mehr kommt auch diese biochemische Verwandtschaft im Präzipitationsversuche zum Ausdruck. So fand man beispielsweise, daß ein Menschenblut-Präzipitinerum auch im Blutserum der anthropoiden Affen Niederschläge erzeugt, und zwar im Serum der Affen der Alten Welt stärker als in jenem der Affen der Neuen Welt. Eine sichere Differenzierung nahe verwandter Arten gelang sodann einerseits mittelst der sogenannten Präzipitinabsorptionsmethode oder Absättigungsmethode (ein Menschenimmenserum, aus welchem der mit einer hinreichenden Menge Affenserum entstandene Niederschlag wegfiltriert wurde, gibt nicht mehr mit Affenserum, wohl aber noch mit Menschenserum einen Niederschlag), andererseits durch die kreuzweise Immunisierung nahe verwandter Tiere. Auf zoologischem Gebiete wurde die Präzipitationsmethode weiterhin von zahlreichen Forschern und zum Teil mit sehr interessanten Erfolgen angewendet.

Zur Differenzialdiagnose auf botanischem Gebiete wurde die Präzipitation zum ersten Male von Albert Kowarski (1901) angewendet, welcher mit Extrakten von Getreidemehlen arbeitete und dessen Weizenantiserum mit Weizenalbumose einen starken, mit Roggen und Gerste einen viel schwächeren, mit Hafer keinen Niederschlag gab. Ihm folgten dann Schütze (1902), Ber-

tarelli (1903), Werner Magnus und Friedenthal (seit 1906), Gasis (1908), Relander (1908), Wendelstadt und Fellmer (1911) und einige andere. Es soll hier nicht die historische Entwicklung dieser Forschungen verfolgt, sondern es sollen nur diejenigen Ergebnisse mitgeteilt werden, die von bleibendem Interesse sein dürften.

Besonders beliebte Objekte für die Untersuchungen waren die Gramineen, vor allem die Getreidearten, und die Papilionaceen, namentlich die kultivierten Hülsenfrüchtler, und zwar wohl deshalb, weil ihre Samen ein leicht zu beschaffendes und für die Bereitung der erforderlichen Eiweißlösungen günstiges Material bieten. Es wurde dabei gewöhnlich sehr fein gemahlenes Mehl der Samen in physiologischer Kochsalzlösung (das ist ca. 0·75% bis 0·9%) kalt oder besser warm ausgelaugt und filtriert, während man bei anderen Pflanzen zumeist die filtrierten Preßsäfte (und zwar aus verschiedenen Organen) verwendete. Für besonders genaue Arbeiten erwies sich dann noch die Bestimmung des Eiweißgehaltes bzw. Herstellung eines genau bestimmten Prozentgehaltes an Eiweißstoffen als notwendig. Daß mehrfach viel kompliziertere Herstellungsmethoden angewendet wurden, ohne jedoch wesentlich günstigere Resultate zu ergeben, sei nur nebenher erwähnt. Um die allmähliche Abstufung der natürlichen Eiweißverwandtschaft einigermaßen quantitativ beurteilen zu können, betrat man zunächst zwei Wege: einerseits versuchte man die bei gleichen Konzentrationen in den verschiedenen zu prüfenden Eiweißlösungen entstehenden Niederschläge quantitativ zu messen; andererseits versuchte man die Verdünnungsgrenze zu bestimmen, bis zu welcher in den einzelnen Eiweißlösungen noch deutliche Trübungen entstehen (Verdünnungsmethode). Beide Wege erwiesen sich als gangbar, die Verdünnung gab bessere Resultate, nie aber wurden dabei so exakte Bestimmungen möglich wie bei der später zu behandelnden Komplementbindungsmethode.

Als Beispiel für Versuche mit fortschreitender Verdünnung sei die Arbeit von Bertarelli (1903) erwähnt. Er operierte mit Leguminosen, und zwar mit *Pisum sativum*, *Lens esculenta*, *Vicia sativa*, *Phaseolus vulgaris* und einigen anderen. Aus seinen Ergebnissen seien einige Verdünnungsgrenzen (die natürlich nur für eine vergleichende Beurteilung bestimmt sind) hier angegeben.

Erbsenantiserum reagierte mit Erbse bis 1:4000, mit Bohne bis 1:200, mit Wicke bis 1:50; Linsenantiserum reagierte mit Linse bis 1:5000, mit Bohne bis 1:400, mit Erbse bis 1:300, mit Wicke bis 1:100; Wickenantiserum reagierte mit Wicke bis 1:3000, mit Linse und Erbse bis 1:300, mit Bohne bis 1:200. Die gleichen Objekte, später von Ballner und Burow mit der Komplementbindungsmethode geprüft, zeigen deutlich die Überlegenheit dieser letzteren. Übrigens muß bemerkt werden, daß ja zur Zeit der Bertarellischen Arbeit die Präzipitationsmethode noch in den Kinderschuhen lag. Mit Leguminosen arbeiteten ferner unter anderen Wendelstadt und Fellmer. Bei ihren Versuchen nach der Präzipitationsmethode¹⁾ und ebenfalls mittels fortschreitender Verdünnung gab *Vicia-Faba*-Antiserum starke Reaktion mit *Vicia Faba*, etwas schwächere mit *Vicia sativa* und *Pisum sativum*, wesentlich schwächere mit *Lens esculenta*, keine mit *Phaseolus vulgaris*, *Phaseolus multiflorus* und *Apios tuberosa*; *Phaseolus-vulgaris*-Antiserum gab starke Reaktion mit *Phaseolus vulgaris*, wenig schwächere mit *Phaseolus multiflorus*, keine mit *Apios tuberosa*, *Vicia Faba*, *Vicia sativa*, *Pisum sativum* und *Lens esculenta*.

Quantitative Bestimmung der Niederschlagsmenge wird von Werner Magnus und Hans Friedenthal (1907) erwähnt. Die Niederschlagsmengen, welche in einem Weizenantiserum durch Eiweißlösungen von Weizen, Roggen und Gerste hervorgebracht wurden, verhielten sich zu einander wie 24:11:4.

Wichtig war der Nachweis, daß die Dauer der Immunisierung auf die Wirkung des erzielten Antiserums nicht nur quantitativ, sondern auch qualitativ einen bedeutenden Einfluß hat, indem bei immer höherer Immunisierung die Verwandtschaftsreaktion immer weitere Grenzen annimmt. Nach dieser Richtung wurden von Magnus (1908) zahlreiche Versuche ausgeführt, die um so interessanter sind, als hierdurch ein neuer und viel besserer Anhaltspunkt für die Beurteilung des Verwandtschaftsgrades gegeben war. Aus seinen Befunden sei folgendes erwähnt: Weizenimmenserum, entnommen nach 19tägiger Immunisierung der Kaninchen, reagierte mit *Triticum*, *Hordeum* und *Secale*, nicht aber mit den später ge-

¹⁾ Die mittels der Komplementbindungsmethode von ihnen erzielten Ergebnisse werden später besprochen.

nannten Gramineen; Weizenimmunserum, entnommen nach 29-tägiger Behandlung, reagierte mit den drei obgenannten Getreidearten und außerdem mit *Zea*, nicht mit den späteren; nach 36-tägiger Behandlung reagierte das Serum außer mit allen bisher erwähnten auch mit *Bromus* und *Lolium*, nach 146-tägiger Behandlung überdies mit *Oryza*. In analoger Weise zeigte Maisimmunserum nach 7-tägiger Behandlung Reaktion mit *Zea* und *Euchlaena*, nach 28-tägiger Behandlung überdies mit *Panicum* (und *Triticum*, Spur), nach 50-tägiger Behandlung mit *Triticum* und *Hordeum*, nach 109-tägiger Behandlung mit *Phalaris*, *Festuca*, *Bromus*, *Lolium*, nach 130-tägiger Behandlung mit *Avena*, nach 215-tägiger Behandlung mit noch zahlreichen anderen Gramineen. So ergaben verschiedene Gramineen bei sehr lang andauernder Immunisierung ein ganz allgemeines „Gramineenimmunserum“, doch gelang mit diesem niemals eine Reaktion in den Eiweißlösungen von Nichtgramineen, etwa Commelinaceen oder Cyperaceen, von ferner stehenden Familien gar nicht zu sprechen. Magnus zweifelt nicht an der Verwendbarkeit seiner obigen Befunde für den Ausbau eines natürlichen Systemes der Gramineen; vorläufig begnügt er sich mit einem kurzen Hinweis auf die nahe Stellung von *Zea* zu den Hordeeen, die entfernte Stellung von *Lolium* zu diesen, sowie auf die nahe Stellung von *Lolium* zu den Festuceen.

In den bisher besprochenen Fällen hat es sich durchwegs um die verwandtschaftlichen Beziehungen von Gattungen (und allenfalls Arten) innerhalb einer und derselben Familie gehandelt. Natürlich hat es aber auch nicht an Versuchen gefehlt, einerseits die systematischen Beziehungen größerer Gruppen serumdiagnostisch zu prüfen, andererseits die Rassen einer und derselben Art von einander zu differenzieren.

Daß in erstgenannter Beziehung bei den Blütenpflanzen wenig Erfolg zu erwarten ist, geht schon aus dem soeben über die Gramineen Gesagten hervor. Günstiger scheint es diesbezüglich bei den Pilzen zu stehen. Magnus und Friedental (1906) wollten die Zugehörigkeit der Saccharomyceten zu den Ascomyceten kontrollieren. Zu diesem Zwecke wurden die Preßsäfte von Hefe (*Saccharomyces cerevisiae*), Trüffel (*Tuber brumale*) und Champignon (*Psalliota campestris*) mit den gegen diese drei Pilze gerichteten Immunseris geprüft. Hierbei reagierte das Hefeantiserum mit Hefesaft und mit Trüffelsaft,

nicht mit Champignonsaft, das Trüffelantiserum mit Trüffelsaft und (schwächer) mit Hefesaft, nicht mit Champignonsaft, das Champignonantiserum nur mit dem Champignonsaft. Durch diese Befunde ist die Stellung der Hefepilze bei den Ascomyceten auch eiweißdiagnostisch bestätigt.

Der erste Versuch, Rassen einer und derselben Art voneinander zu differenzieren, wurde bereits 1902 von Albert Schütze unternommen. Er arbeitete mit 4 Rassen der Hefe, nämlich mit der obergärigen und der untergärigen Bierhefe, der Bäcker- oder Getreidehefe und der Kartoffelhefe. Das Objekt mußte deshalb relativ günstig erscheinen, weil es sich hier um physiologische Rassen handelt, die sich ja gerade durch chemische Eigenschaften voneinander unterscheiden. Trotzdem war das Ergebnis ein negatives, allerdings vielleicht nur deshalb, weil zu jener Zeit die Präzipitationsmethode in quantitativer Hinsicht noch gar nicht ausgearbeitet war¹⁾. Auch die Versuche von Uhlenhuth und Jung, süße und bittere Mandeln zu differenzieren, waren erfolglos²⁾.

Die einzige Nachricht über eine gelungene Rassendifferenzierung mittels der Präzipitationsmethode stammt von Relander (1908). Er verwendete außerordentlich schwache Immunsera und arbeitete im übrigen nach der schon früher besprochenen Verdünnungsmethode. Seine Objekte waren zwei (nicht näher genannte) „Abarten“ von Wicke und 7 Abarten von Gerste. Bei seiner Versuchsanstellung reagierte die Eiweißlösung der Wickenabart I mit I-Antiserum nach 10 Minuten deutlich, mit II-Antiserum nur schwach und erst später. Gerstenrasse A reagierte mit A stark, mit Rasse B nicht, mit Rasse C sehr schwach. Gerstenrasse B reagierte mit B deutlich, mit D sehr schwach, mit E und F minimal, mit A und G nicht. Magnus verhält sich indes diesen Versuchen gegenüber vorläufig noch zurückhaltend, da die Unterschiede in den Reaktionen gering sind und er die kaum zu vermeidenden Versuchsfehler für zu groß erachtet.

Anhangsweise erwähnt sei noch die praktische Anwendung der Präzipitationsmethode für die Erkennung von Mehlverfälschungen.

¹⁾ Vorausgreifend sei bemerkt, daß demselben Autor später mittels der Komplementbindungsmethode die Differenzierung der Heferasen gelang.

²⁾ Nach Uhlenhuth und Weidanz (siehe das Literaturverzeichnis), pag. 25, 26.

wie sie schon von Bertarelli versucht und später namentlich von Magnus (1908, 1909) ausgearbeitet worden ist. Nach Magnus gelingt es, das Mehl von *Vicia Faba* (Kastormehl) als Verunreinigung des Weizenmehls noch in der geringen, mikroskopisch nicht mehr nachweisbaren Menge von $\frac{1}{2}\%$ mit Sicherheit nachzuweisen. Der Prozentgehalt an dem Verfälschungsmittel wird beurteilt durch Vergleich mit der Reaktion von Mehlen, die man absichtlich in bestimmten prozentuellen Verhältnissen (z. B. mit 20%, 8%, 3% und 1% Kastormehl) verfälscht hat. Schwieriger gestaltet sich die Prüfung bei Vermischung von Mehlen verwandter Arten. Zum Nachweis der Verunreinigung des Weizenmehles mit Maismehl ist die Verwendung eines sehr schwachen Maisantiserums erforderlich, das wohl mit Mais, nicht aber mit Weizen reagiert. Für den Nachweis von Roggenmehl im Weizenmehl ist aber ein analoger Vorgang wegen der zu nahen Verwandtschaft beider Getreidearten nicht anwendbar und es wurde daher von Magnus (1908) nach dem Vorbilde der schon früher (Weichhardt, 1903) in der Zoologie angewendeten Präzipitinabsorptionsmethode ein neuer Weg eingeschlagen. „Es wird zu diesem Zwecke das Immuserum mit dem verwandten Pflanzenextrakt, der keine Reaktion mehr geben soll, vorher ausgefällt und völlig klar gemacht. Mit diesem so behandelten Serum gibt dann der verwandte Stoff keinen Niederschlag mehr, während der Pflanzenstoff, der zur Immunisierung gedient hat, wenn auch etwas abgeschwächt, in Reaktion tritt. Es gelang auf diese Weise, stets mit Sicherheit 3% Roggen in Weizen, unter Umständen noch weniger, in kürzester Zeit nachzuweisen, was bei feingemahlenem Mehl mit irgend einer anderen Methode nicht zu erzielen ist. Die Ausfällungsmethode erfordert auch theoretisch großes Interesse. Denn es muß aus diesen Versuchen gefolgert werden, daß die Präzipitinreaktion durch eine Reihe von chemischen Bestandteilen herbeigeführt wird, von denen einige der ganzen Gruppe gemein sind, während andere nur der Art selbst zukommen.“¹⁾

¹⁾ W. Magnus in Ber. d. Deutsch. botan. Gesellsch., Bd. XXVIa (1908), pag. 539. — Vgl. auch C. Bruck, zitiert in diesen Mitteilungen, X. Jahrg. (1912), pag. 75 unten und pag. 76 Mitte.

Bevor wir uns dem zweiten wichtigen Eiweißdifferenzierungsverfahren, der Komplementbindungsmethode, zuwenden, müssen wir, weil zum Verständnis dieser Methode unerlässlich, einiges über die theoretischen Vorstellungen einschalten, die man sich über die Entstehung und die Wirkungsweise der Antikörper gebildet hat. Wir knüpfen dabei dort an, wo wir eingangs die Antitoxine, Hämolytine, Agglutinine und übrigen Antikörper verlassen haben, und erinnern an zwei schon dort erwähnte Eigentümlichkeiten, die sämtlichen Antikörpern gemeinsam sind: erstens, daß sie (innerhalb gewisser Grenzen) spezifisch wirken, und zweitens, daß sie nur dann entstehen, wenn die einverlebten Substanzen mit dem Organismus irgendwie reagieren, wenn sich also wechselseitige chemische Affinitäten vorfinden. Auf Grund dieser und aller übrigen Erfahrungstatsachen hat Ehrlich in Heidelberg seine berühmte Seitenkettentheorie aufgestellt. Die Richtigkeit derselben ist eine viel umstrittene Frage; so viel aber ist sicher, daß Ehrlichs Vorstellungen nicht nur geistreich ausgedacht sind, sondern sich auch als Arbeitshypothese außerordentlich verwendbar und fruchtbringend erwiesen haben.

Die Toxine — um mit diesen am längsten bekannten Antigenen zu beginnen — besitzen nach Ehrlich¹⁾ eine Atomgruppe, die imstande ist, chemisch mit irgendeiner Gruppe des Zellprotoplasmas zu reagieren, es ist dies die sogenannte haptophore Gruppe des Toxins; neben dieser nimmt Ehrlich eine zweite, davon verschiedene Gruppe an, von welcher die toxische Wirkung ausgeht, es ist dies die toxophore Gruppe. Die Unterscheidung dieser beiden Gruppen ergibt sich aus der vielfach beobachteten Tatsache, daß die chemische Affinität eines Toxins auch dann unverändert erhalten bleiben kann, wenn die toxische Eigenschaft schon stark abgeschwächt oder ganz geschwunden ist²⁾.

Die haptophore Gruppe des Toxins bindet sich nun chemisch an eine ganz bestimmte Gruppe der Körperzelle, und zwar an die haptophore Gruppe eines Rezeptors der Zelle. Ehrlich hat nämlich schon vor mehr als zwanzig Jahren die Hypothese auf-

¹⁾ Die folgende Darstellung stützt sich hauptsächlich auf das am Schlusse zitierte Werk von Ascoli.

²⁾ Solche „ungiftige Toxine“, denen die toxophore Gruppe, die stets leichter zerstörbar ist, fehlt, werden als Toxoide bezeichnet.

gestellt, daß das Protoplasma einer jeden lebenden Zelle aus einem Kern von Atomkomplexen besteht, die die spezifischen Zellfunktionen ausüben — diesen nennt er Leistungskern — und aus zahlreichen Atomgruppen, die die Nährsubstanzen anziehen und aufspeichern — die Seitenketten oder Rezeptoren. Die Aufnahme der Nährsubstanzen durch die Rezeptoren erfolgt natürlich auf dem Wege chemischer Bindung.

In gleicher Weise werden nun aber auch andere Substanzen, zum Beispiel Antigene gebunden, sofern sie nur eine chemische Affinität zu irgendwelchen Rezeptoren des Protoplasmas besitzen, das heißt also mit einer passenden haptophoren Gruppe versehen sind. Während aber bei den Nährstoffen der Verankerung ihre Spaltung und Verbrennung auf dem Fuße folgt und die Rezeptoren somit rasch wieder verfügbar werden, kann die Zelle mit den Toxinen und anderen Antigenen, die etwa unverdaulichen Nährstoffen gleichen, nicht so einfach fertig werden. Zum Ersatz der mit Toxin besetzten Seitenketten muß die Zelle neue gleiche Seitenketten bilden, da aber diese rasch wieder mit dem Antigen besetzt werden, so steigert sich auch die Bildung der neuen Rezeptoren. Bei diesem Vorgang wird die Zelle gewissermaßen trainiert, die betreffende Seitenkette in immer ausgedehnterem Maße zu erzeugen, und es kommt endlich zu einem solchen Überschuß an Seitenketten, daß dieselben, bildlich gesprochen, der Zelle selbst zuviel werden und nach Art eines Sekretes an das Blut abgegeben werden. Solche frei im Blute zirkulierende Rezeptoren können nun aber auch Toxin an sich binden und dadurch verhindern, daß dieses seine Giftwirkung auf die Körperzellen ausübt. Es wirken also die frei gewordenen Rezeptoren als Gegengift, sie bilden das Antitoxin.

Das Gesagte gilt speziell für die zunächst in Betracht gezogenen, mit einer einzigen haptophoren Gruppe versehenen „Rezeptoren erster Ordnung“. In analoger Weise bilden aber frei gewordene „Rezeptoren zweiter Ordnung“, d. h. solche, die außer mit einer haptophoren auch mit einer agglutinierenden oder präzipitierenden zymophoren Gruppe versehen sind, die Agglutinine beziehungsweise die Präzipitine, deren Wirkungsweise und Verwendung wir schon kennen gelernt haben. Außerdem gibt es aber noch „Rezeptoren dritter Ordnung“ oder Ambozeptoren,

welche zwei, und zwar zwei ungleiche haptophore Gruppen besitzen. Diese stellen, von der Zelle abgestoßen, die schon eingangs erwähnten komplementbindenden Substanzen dar. Manche dieser komplementbindenden Substanzen oder Ambozeptoren bilden zusammen mit einem Komplement ein Hämolysin.

Die Hämolysine gehören also zu den kompliziertesten Antikörpern; denn sie bestehen aus zwei Substanzen: Ambozeptor und Komplement. Diese beiden Körper bewirken nur dann Hämolyse, d. i. Austritt des Hämoglobins aus roten Blutkörperchen, wenn beide gleichzeitig vorhanden sind. Spezifisch wirkend ist nur der Ambozeptor, und auch nur er wird bei der Immunisierung neu gebildet. Das Komplement ist nicht spezifisch und findet sich bereits im normalen Serum vor. Ambozeptor und Komplement können nach verschiedenen Methoden voneinander getrennt werden; insbesondere ist zu erwähnen, daß die meisten Ambozeptoren thermostabil sind, das Komplement dagegen thermolabil und schon durch halbstündige Erwärmung auf 56° zerstört wird. Ein Serum (es mag Ambozeptoren enthalten oder nicht), dessen Komplement durch Erwärmung zerstört worden ist, wird als inaktiviertes Serum bezeichnet. Wo man sich in der Praxis Ambozeptor und Komplement getrennt herstellen will, wird das ambozeptorhaltige Serum inaktiviert, als Komplement aber usueller Weise frisches Meerschweinchenserum verwendet.

Die Wirkungsweise von Ambozeptor und Komplement stellt man sich folgendermaßen vor: zuerst heftet sich der hämolytische Ambozeptor mit seiner „zytophilen“ Gruppe an das rote Blutkörperchen („sensibilisiert“ dasselbe); dann zieht die „komplementophile“ Gruppe des Ambozeptors, der jetzt erst eine starke Affinität für Komplement erhält, das Komplement an sich, wodurch dieses, eine fermentartige Substanz, die Möglichkeit erhält, die Hämolyse zu bewirken. Diese zwei Phasen lassen sich getrennt studieren, wenn man zu roten Blutkörperchen — man verwendet üblicher Weise eine 5%ige Aufschwemmung derselben in physiologischer Kochsalzlösung — zuerst ein inaktiviertes hämolytisches Serum (Ambozeptor) und dann ein frisches Serum (Komplement) zusetzt. Rote Blutkörperchen, Ambozeptor und Komplement bilden zusammen ein sogenanntes hämolytisches System.

Das hämolytische Serum gewinnt man durch Immunisierung von Tieren (z. B. Kaninchen) mit roten Blutkörperchen; es wird erst kurz vor der Verwendung durch halbstündige Erwärmung inaktiviert. Die Versuche werden in Epruvetten vorgenommen. Dieselben werden nach dem Zusammengießen der Flüssigkeiten etwa 2 Stunden lang im Brutschrank bei 37° (günstigste Temperatur für die Reaktion) und dann einige Zeit (etwa über Nacht) im Eisschrank aufbewahrt. Für eine bestimmte Menge roter Blutkörperchen ist eine bestimmte Menge Ambozeptor und eine bestimmte Menge Komplement zur kompletten Hämolyse erforderlich. Für genaue Versuche müssen diese Mengen ermittelt werden, da ein großer Überschuß freier Ambozeptoren die Reaktion beeinträchtigt, ein unnötiger Überschuß von Komplement aber aus anderen Gründen unwillkommen sein kann (vgl. die unten besprochene Komplementbindung)¹⁾.

Die Hämolyse ist, wie schon früher angedeutet, nicht der einzige Fall, in welchem Ambozeptoren auftreten. Sondern auch gegen die verschiedensten gelösten Eiweißstoffe bilden sich neben Präzipitinen auch komplementbindende Substanzen, also Ambozeptoren. Auch hier sind zwei haptophore Gruppen vorhanden, die eine ist gegen die Rezeptoren des betreffenden Eiweißes gerichtet, die zweite ist komplementophil. Nur haben diese Ambozeptoren keine so augenfällige Wirkung wie die hämolytischen, weil hier alle reagierenden Substanzen von Anfang an in Lösung sind und auch in Lösung bleiben. Man kann den Eintritt der Reaktion hier nur daraus erkennen, daß das vorhandene Komplement (vorausgesetzt, daß kein Überschuß davon vorhanden war) nachher nicht mehr im freien Zustand existiert, sondern scheinbar aus der Lösung verschwindet, weil es eben gebunden wird. Man bezeichnet diesen Vorgang daher als Komplementbindung oder auch als Komplementablenkung. Die Bindung des Komplementes läßt sich dadurch nachweisen, daß man die beiden anderen Bestandteile eines hämolytischen Systemes zusetzt. Tritt Hämolyse ein, so war freies Komplement vorhanden, tritt keine Hämolyse ein, so war alles Komplement gebunden.

¹⁾ Für die Komplementbindungsreaktionen verwendete z. B. Ballner die ungefähr doppelte komplettlösende Dosis Ambozeptor und die diesem Ambozeptor entsprechende Menge Komplement.

Hierauf beruht die außerordentlich mühsame, aber exakte Komplementbindungsmethode, die bereits in der Zoologie wie in der Botanik schöne Erfolge erzielt hat. Wird nämlich mit einem bestimmten Immuns serum die homologe Eiweißlösung (d. h. die Eiweißlösung jenes Tieres oder jener Pflanze, gegen welche immunisiert worden ist) vermengt, so erfolgt Komplementbindung, indem der Ambozeptor des Immuns erums das homologe Eiweiß an sich bindet und hiedurch auch für zugesetztes Komplement eine starke Affinität erhält. Werden nun nach dem Zusatz des Komplementes die beiden anderen Bestandteile eines hämolytischen Systemes (rote Blutkörperchen und der homologe Ambozeptor) zugesetzt, so tritt keine Hämolyse ein, weil die Komplementbindung die Hämolyse verhindert. Wird hingegen mit dem gleichen Immuns erum die Eiweißlösung eines ganz anderen Organismus vermengt, so findet keine Komplementbindung statt, denn der Ambozeptor steht dem Eiweiß fremd gegenüber, hat daher auch nur schwache Affinität für Komplement und kann zugesetztes Komplement nicht daran verhindern, mit den später zugesetzten beiden anderen Bestandteilen eines hämolytischen Systemes in Reaktion zu treten: die Hämolyse tritt ein.

Ebenso wie die Präzipitation nicht ganz streng spezifisch wirkt, so auch die Komplementbindung. Bei der früher angenommenen Vermengung eines Immuns erums mit der äquivalenten Menge Eiweiß des zur Immunisierung verwendeten Organismus tritt der gesamte Ambozeptor mit dem gesamten als Antigen wirkenden Eiweiß in Wechselwirkung und ist daher imstande eine bedeutende Menge Komplement zu binden. Dagegen wird bei Vermengung des gleichen Immuns erums mit dem Eiweiß eines anderen, aber (mit dem zur Immunisierung verwendeten) nahe verwandten Organismus nur ein Teil des Ambozeptors mit einem Teil des Eiweißes (nämlich mit den den beiden Organismen gemeinsamen Rezeptoren) in Reaktion treten, wird daher auch nur eine geringere Menge Komplement an sich binden können. Wenn beispielsweise von der homologen Eiweißlösung schon die Menge $\frac{1}{1000} \text{ cm}^3$ genügt, um zusammen mit einer bestimmten Menge des inaktivierten Immuns erums eine bestimmte Menge Komplement vollständig zu binden, so wird von einer gleichprozentigen Eiweißlösung eines sehr nahe verwandten Organismus vielleicht $\frac{1}{500} \text{ cm}^3$, von der

eines ferner stehenden Organismus vielleicht $\frac{1}{50} \text{ cm}^3$ zur vollständigen Bindung derselben Komplementmenge erforderlich sein.

In der Praxis¹⁾ arbeitet man am besten mit gleich bleibenden, vorher sorgfältig ausgewerteten Mengen des inaktivierten Antiserums und der hämolytischen Bestandteile²⁾ und mit fortschreitenden Verdünnungen des zu prüfenden Eiweiß (Antigens); man beobachtet dabei, bis zu welcher Verdünnung herab das zugesetzte Komplement noch vollständig gebunden, die Hämolyse also verhindert wird. Da zur Hämolyse der usuellen Blutmenge (1 cm^3 einer 5%igen Aufschwemmung von Rinderblutkörperchen oder Hammelblutkörperchen) schon ein geringes Quantum Komplement genügt, so ist die Verdünnungsgrenze, von welcher ab Hämolyse nicht mehr verhindert wird, eine ziemlich scharfe. Hieraus ergibt sich ein viel besserer quantitativer Maßstab, als ihn die Präzipitationsmethode besitzt. Überdies ist Farblosigkeit oder Rotfärbung der Flüssigkeit ein eindeutiger Indikator, während bei der Präzipitation eine schwache Trübung oft verschiedene Ursachen haben kann. Die bei der Komplementbindungsmethode neben den hämolytischen Erscheinungen auftretenden Niederschläge³⁾ sind für die Beobachtung vollkommen gleichgültig.

Die Komplementbindungsmethode wurde ebenfalls zuerst in der Medizin, in der forensischen Praxis⁴⁾ und in der Zoologie⁵⁾ geübt. Auf botanische Objekte fand sie erst später Anwendung. Der Präzipitationsmethode scheint sie, was Sicherheit und Genauigkeit der Resultate betrifft, tatsächlich überlegen zu sein. Da aber die Zahl der einschlägigen Arbeiten — die älteste Publikation ist keine drei Jahre alt — noch gering ist, so können die bisherigen Ergebnisse auch noch nicht sehr bedeutend sein.

¹⁾ In den Details ist die Versuchsanordnung von Schütze und von Wendelstadt und Fellmer etwas abweichend von jener Ballners, die bei der obigen Darstellung in erster Linie ins Auge gefaßt wurde.

²⁾ Zu der angegebenen Menge Blutkörperchen verwendete z. B. Ballner 0.001 cm^3 , später 0.002 cm^3 Rinderblut-Ambozeptor und 0.05 cm^3 frisches Meerschweinchenserum.

³⁾ Neben dem komplementbindenden Ambozeptor ist ja natürlich immer auch ein Präzipitin vorhanden.

⁴⁾ So wurden Verfälschungen einer Milch mit einer anderen nachgewiesen, was mittels der Präzipitation wegen der Undurchsichtigkeit nicht möglich ist.

⁵⁾ Vgl. C. Brucks Arbeit über Menschenrassen und anthropoide Affen, auszugsweise wiedergegeben in diesen Mitteilungen, X. Jahrg. (1912), pag. 75 und 76.

Schütze, welcher mittels der Präzipitation eine Differenzierung der Heferasen nicht erzielt hatte, konnte mittels der Komplementbindung die obergährige von der untergährigen Bierhefe trennen und diese beiden wieder von der Getreide- und Kartoffelhefe; die beiden letzteren von einander zu trennen gelang ihm nicht.

Wendelstadt und Fellmer arbeiteten mit Leguminosen und mit Kapuzinerkresse. *Pisum-sativum*-Antiserum reagierte stark mit *Pisum-sativum*, etwas schwächer mit *Vicia sativa* und *Vicia Faba*, nicht mit *Phaseolus vulgaris* und *Phaseolus multiflorus*. *Vicia-Faba*-Antiserum reagierte stark mit *Vicia Faba*, etwas schwächer mit *Vicia sativa* und *Pisum sativum*, nicht mit den beiden *Phaseolus*-Arten. *Phaseolus-multiflorus*-Antiserum reagierte stark mit *Phaseolus multiflorus* und *Phaseolus vulgaris*, nicht mit den anderen Leguminosen. *Tropaeolum-majus*-Antiserum reagierte stark mit *Tropaeolum majus*, viel schwächer, aber immerhin deutlich mit *Impatiens Balsamina* und *Impatiens Sultani*, gar nicht mit *Zea Mays*. Der Befund bei *Tropaeolum* ist aus dem Grund interessant, weil hier Blütenpflanzen, die zwar derselben Reihe, aber nicht derselben Familie angehören, miteinander in Reaktion treten. Der Untersuchung dienten bei *Tropaeolum* und *Impatiens* Blattpreßsäfte, bei den Leguminosen sowohl Blattpreßsäfte wie Fruchtextrakte.

Die umfassendsten Versuche machte Franz Ballner in Innsbruck und er hat auch, namentlich in seiner zweiten, gemeinsam mit R. Burow ausgeführten Arbeit, die Methode bis zu einem sehr hohen Grade von Präzision ausgestaltet. Er arbeitete durchwegs mit Fruchtmehl-Extrakten. Auf die interessanten Einzelheiten seiner Versuchsanstellung kann hier nicht eingegangen werden, doch sei mehreres aus seinen Befunden mitgeteilt.

In seiner ersten Arbeit beschäftigt sich Ballner mit Gramineen (und einigen Leguminosen). Die von ihm erhaltenen Antisera reagierten mit den homologen Samenextrakten noch bei folgenden Verdünnungen: Hafer-, Reis-, Mais-Antiserum bei 1:5000, Roggen-, Gerste-Antiserum bei 1:10.000, Weizen-Antiserum bei 1:20.000, Erbsen-, Linsen-Antiserum bei 1:40.000, d. h. bei jenen Spuren von Eiweiß, welche in 1 cm³ Flüssigkeit enthalten sind, wenn man 1 g Samenmehl der betreffenden Pflanze mit 40 l physiologischer Kochsalzlösung extrahiert. Diese Antisera, geprüft mit den Samen-

extrakten der verschiedenen Versuchspflanzen, reagierten bis zu folgenden Verdünnungsgrenzen: Weizen mit Weizen 20.000, Roggen 1000, Gerste und Hafer 100, Mais, Erbsen, Linsen 50; Roggen mit Roggen 10.000, Weizen 1000, Gerste 500, Hafer 100, Reis, Mais, Linsen 50; Gerste mit Gerste 10.000, Weizen, Roggen 1000, Hafer 500, Mais, Erbsen, Linsen 50; Hafer mit Hafer 5000, Weizen, Roggen, Gerste, Reis, Mais 100, Erbsen, Linsen 50. Ballner schließt hieraus: „dem Weizen ist am nächsten verwandt der Roggen, sodann folgt Gerste und Hafer, hierauf Reis und Mais; zu den zwei letzteren ist die [Eiweiß-] Verwandtschaft des Weizens nicht größer als zu Erbsen und Linsen.“ Es kann nicht geleugnet werden, daß in letzterer Hinsicht die von Magnus mit verschieden starker Immunisierung erzielten Befunde sympathischer berühren.

In der zweiten Arbeit befaßt sich Ballner ausschließlich mit Leguminosen; nach den früheren Untersuchungen schienen nämlich die Leguminosen-Eiweiße stärker von einander verschieden und daher leichter zu differenzieren zu sein als die Gramineen-Eiweiße. Untersucht wurden *Phaseolus* (*multiflorus* und *nanus*, im ganzen 4 Rassen), *Pisum* (*sativum* und *arvense*, im ganzen 4 Rassen), *Vicia Faba*, *sativa* und *angustifolia* und *Lens esculenta* (2 Rassen). Erbsenantiserum gab mit Erbse bis zur Verdünnung 1:10.000, mit *Vicia Faba* und *Lens esculenta* bis 1:5.000 positive Reaktion, mit *Phaseolus multiflorus* trat selbst in der geringen Verdünnung 1:50 keine Hemmung der Hämolyse auf; umgekehrt gab *Phaseolus nanus* mit dem homologen Serum noch bei 1:20.000 vollständige Hemmung der Hämolyse, mit *Pisum*, *Lens* und *Vicia* dagegen auch bei der schwächsten Verdünnung (1:50) absolut negative Reaktion. Auch die Auswertung der Antisera von *Vicia* und *Lens* zeigte in analoger Weise die Sonderstellung des *Phaseolus*-Eiweißes. Es ergab sich somit deutlich, daß das Eiweiß von *Phaseolus* von jenem der drei anderen untersuchten Gattungen wesentlich verschieden ist, daß dagegen die Gattungen *Pisum*, *Lens* und *Vicia* untereinander sehr nahe verwandt sind. Bei Anwendung einer geringeren Menge von Antiserum wurden die Reaktionen deutlich spezifischer; in diesem Falle reagierte Erbsenantiserum mit Erbse bis 1:10.000, mit Wicke bis 1:5.000, mit Linse bis 1:100, mit Bohne nicht. Dagegen gelang es nicht, die verschiedenen

Bohnenrassen und die verschiedenen Erbsenrassen voneinander zu differenzieren, ebensowenig auch *Vicia Faba, sativa* und *angustifolia*. Daß bei noch weiterer Vervollkommnung der Methode vielleicht auch noch die Differenzierung von Rassen gelingen könnte, erscheint indes keineswegs ausgeschlossen.

Von den serundiagnostischen Untersuchungsmethoden haben wir im vorstehenden zwei näher kennen gelernt. Beide stehen erst kurze Zeit im Dienste der Systematik. Sie machen einen verheißungsvollen Eindruck, wenn auch die bisherigen Arbeiten, die größtenteils nur tastende Vorversuche sind, nichts wesentlich neues zutage förderten. Wohl werden sich beide Methoden noch weiter entwickeln und vervollkommen, vielleicht auch werden sie durch neue serologische Methoden, zu denen schon die Anfänge vorhanden sind, überholt und in den Hintergrund gestellt werden. Der ganzen serundiagnostischen Forschungsrichtung aber steht sicher noch eine große Zukunft bevor.

Wien, im September 1912.

Wichtigste Literatur¹⁾.

A. Präzipitation.

- Kowarski A., Über den Nachweis von pflanzlichem Eiweiß auf biologischem Wege. Deutsche medizinische Wochenschrift, XXVII. Jahrg., 1901, pag. 442.
- Schütze A., Über weitere Anwendung der Präzipitine. Deutsche medizinische Wochenschrift, XXVIII. Jahrg., 1902, pag. 804—806.
- Bertarelli E., Die Verwendung der biologischen Methode zur Auffindung und Diagnose der Hülsenfruchtmehle mit besonderer Berücksichtigung der Wicke. Zentralblatt für Bakteriologie, 2. Abt., Band XI, 1903, pag. 8—13 und 45—51.
- Magnus W. und Friedenthal H., Ein experimenteller Nachweis natürlicher Verwandtschaft bei Pflanzen. Berichte der Deutschen botanischen Gesellschaft, Band XXIV, 1906, pag. 601—607.
- Dieselben, Über die Spezifität der Verwandtschaftsreaktion der Pflanzen. Ebenda, Band XXV, 1907, pag. 242—247.
- Dieselben, Über die Artspezifität der Pflanzenzelle. Ebenda, Band XXV, 1907, pag. 337—340.
- Gasis D., Über die Unterscheidung verschiedener Pflanzeneiweißarten mit Hilfe spezifischer Sera. Berliner klinische Wochenschrift, XLV. Jahrg., 1908, 1. Halbjahr, pag. 358—360.

¹⁾ Die weitere Literatur läßt sich aus den angegebenen Werken, sowie bei Durchsicht der letzten Jahrgänge der hier zitierten Zeitschriften leicht finden. Nicht erwähnt wurde ferner eine Anzahl solcher botanisch-serologischer Arbeiten, die eine Anwendung auf die Systematik nicht oder derzeit noch nicht gestatten.

- Relander L. K., Kann man mit Präzipitinreaktion Samen von verschiedenen Pflanzenarten und Abarten von einander unterscheiden? (Vorläufige Mitteilung.) Zentralblatt für Bakteriologie, 2. Abt., Band XX, 1908, pag. 518—522.
- Magnus W., Weitere Ergebnisse der Serumdiagnostik für die theoretische und angewandte Botanik. Berichte der Deutschen botanischen Gesellschaft, Band XXVIa, 1908, pag. 532—539.
- Derselbe, Die Erkennung von Mehilverfälschungen durch die serumdiagnostische Methode. Landwirtschaftliche Jahrbücher, XXXVIII. Band, Ergänzungsband V, 1909, pag. 207—215.
- Derselbe und Friedenthal H., Verhalten sich die somatischen und Geschlechtszellen der Pflanzen serobiologisch wie artfremde Zellen? Zeitschrift für Immunitätsforschung, I. Teil, Band V, 1910, pag. 505—508¹⁾.
- Wendelstadt H. und Fellmer T., Beitrag zur Kenntnis der Immunisierung durch Pflanzeneiweiß. Zeitschrift für Immunitätsforschung, I. Teil, Band VIII, 1911, pag. 43—57.

B. Komplementbindung.

- Ballner F., Über die Differenzierung von pflanzlichem Eiweiß mittels der Komplementbindungsreaktion. Sitzungsberichte der kaiserl. Akademie der Wissenschaften in Wien, mathem.-naturw. Klasse, Band CXIX, 1910, Abt. III, pag. 17—58.
- Dunbar W. P., vgl. die Fußnote.
- Schütze A., Zur Frage der Differenzierung einzelner Hefearten auf dem Wege der Komplementbindung. Zeitschrift für Immunitätsforschung, I. Teil, Band VIII, 1911, pag. 611—615.
- Wendelstadt H. und Fellmer T., siehe oben.
- Ballner F. und Burow R., Studien über die biologische Differenzierung von pflanzlichem Eiweiß. Versuche zur Differenzierung von Leguminosen-Eiweiß und von Varietäten einer und derselben Art. Innsbruck (Selbstverlag), 1911.

Von allgemeineren serologischen Werken und Abhandlungen seien hier nur genannt:

- Müller P. Th., Vorlesungen über Infektion und Immunität. 3. Auflage. Jena (G. Fischer), 1910. 451 Seiten.
- Ascoli A., Grundriß der Serologie. Deutsche Ausgabe von R. St. Hoffmann. Wien und Leipzig (J. Šafař), 1912. 150 Seiten.
- Müller P. Th., Technik der serodiagnostischen Methoden. 3. Auflage. Jena (G. Fischer), 1910. 95 Seiten.
- Uhlenhuth P. und Weidanz O., Praktische Anleitung zur Ausführung des biologischen Eiweißdifferenzierungsverfahrens mit besonderer Berücksichtigung der forensischen Blut- und Fleischuntersuchung, sowie der Gewinnung präzi-

¹⁾ Die in diesem Artikel bekämpfte Arbeit von W. P. Dunbar (Ebenda, Band IV, 1910, pag. 740—760) enthält auch Versuche mit der Komplementbindungsmethode. Da jedoch die Befunde stark umstritten sind, wurde auf dieselben im Text nicht eingegangen.

pifizierender Sera. Jena (G. Fischer), 1909. Einleitungskapitel: „Übersicht über die Entwicklung und praktische Verwertbarkeit des biologischen Eiweißdifferenzierungsverfahrens.“

Blume G., Über die Methoden und die bisherigen Ergebnisse der Komplementbindung. Zentralblatt für Bakteriologie, 1. Abt., Referate, Bd. XL, 1907, pag. 609—631.

VORTRÄGE¹⁾.

Die Steigerung der heliotropischen Empfindlichkeit von Keimlingen durch Narkotika.

Vortrag, gehalten von Privatdozenten Dr. OSWALD RICHTER
am 22. Oktober 1912.

Im Anschluß an seine Untersuchungen aus den Jahren 1906/09 berichtete der Vortragende über neueste im pflanzenphysiologischen Institute der Universität Wien angestellte Versuche mit narkotisierten und nicht narkotisierten Keimlingen, die beide am Klinostaten der einseitigen Schwerkraftwirkung entzogen waren. Er konnte zeigen, daß Narkotika wie Äther oder Leuchtgas tatsächlich die heliotropische Empfindlichkeit von Keimlingen erhöhen. Dies zeigt sich in dreierlei Weise: 1. bei Lichtmengen die auch die rL-Pflanzen²⁾ zu heliotropischen Krümmungen veranlassen, dadurch, daß die narkotisierten Objekte stärker gekrümmt erscheinen als die der rL (in diesem Falle ist der Krümmungswinkel ein Maß für die Empfindlichkeit der Pflanzen); 2. daß bei Gramineen unter sonst gleichen Bedingungen die Krümmung in rL eher auftritt als in der Narkotikaatmosphäre und 3. daß bei sehr geringen Lichtmengen die rL-Keimlinge nicht, die narkotisierten Objekte aber noch heliotropisch reagieren. Die heliotropischen Schwellenwerte der rL- und urL³⁾-Pflanzen verhielten sich wie $45\cdot6:60\cdot8$ Mk Sek = $3:4$ ⁴⁾.

Durch diesen Nachweis des Vortragenden stehen nun die Keimlinge mit ihrem Verhalten nicht mehr isoliert da, sondern finden in Rotherts und Loebs Untersuchungen an Algen und Tieren, weiter in Tappeiners und Jodelbauers Versuchen über photodynamische Wirkung von fluoreszierenden Farbstoffen und in der sensibilisierenden Wirkung gewisser Stoffe auf die photographische Platte passende Parallelen. Damit erscheint aber der Befund des Vortragenden nicht mehr als die einfache Darstellung eines Spezialfalles fachwissenschaftlicher Ergebnisse, sondern rückt in den Rahmen allgemein biologischer und chemisch-physiologischer und schließlich allgemein naturwissenschaftlich-chemischer Probleme ein.

¹⁾ Die in dieser Rubrik erscheinenden Berichte sind in der Regel von den Vortragenden selbst verfaßt.

²⁾ rL = reine Luft.

³⁾ urL = unreine Luft.

⁴⁾ Dabei erscheinen Wicken und Erbsen wegen der bei ihnen vorkommenden horizontalen Nutation für heliotropische Versuche dieser Art weniger geeignet.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Mitteilungen des Naturwissenschaftlichen Vereins an der Universitaet Wien](#)

Jahr/Year: 1913

Band/Volume: [11](#)

Autor(en)/Author(s): Janchen Erwin Emil Alfred

Artikel/Article: [Vorträge. Die Methoden der biologischen Eiweißdifferenzierung in ihrer Anwendung auf die Pflanzensystematik. 1-21](#)