Ein Fall von Eisenchlorose bei Cyanophyceen.

Von

Karl Boresch.

Im Herbst 1913 fand ich auf der Erde eines Blumentopfes im Warmhaus des Prager deutschen botanischen Institutes einen dunkelsepiabraunen fädigen Überzug, welcher aus braunen, etwa 4,5 μ breiten Fäden eines Phormidiums bestand. In Kultur genommen wuchs diese Cyanophycee in Algennährlösung sehr üppig und konnte von den anhaftenden Diatomeen dadurch befreit werden, daß die an der Oberfläche der Nährlösung schwimmenden, sehr schleimigen Räschen auf Agarplatten überimpft wurden und reine Impfstücke der mit der Alge bewachsenen Agargallerte neuerlich in Nährflüssigkeit übertragen wurden. So erzielte ich Speziesreinkulturen, welche außer Bakterien nur das Phormidium enthielten. In diesem Zustande züchte ich dasselbe bis heute weiter; Versuche, es auch von den anhaftenden Bakterien zu befreien, scheiterten bisher, weil die Bakterien von den schleimigen Scheiden der Alge sehr zähe festgehalten werden.

Die Rasenfarbe dieses Phormidiums ist, so lange es kräftig wächst, schwärzlichgrau- bis olivgrün und wird später dunkelsepiabraun. Herr Prof. Dr. N. Wille hatte die Freundlichkeit, das in Frage stehende Phormidium zu bestimmen, wofür ich ihm auch an dieser Stelle herzlichst danke. Es gehört nach seiner Meinung zu Phormidium Retzii (Ag.) Gom., doch wäre es wegen der von der gewöhnlichen Form verschiedenen Färbung des Lagers und der Zellen und der etwas abweichenden Form der Endzellen als Phormidium Retzii (Ag.) Gom. var. nigro-violacea Wille n. var. zu bezeichnen.

Schon im März 1914 fiel mir auf, daß die ersten im November des Vorjahres angelegten Kölbchenkulturen, welche ursprünglich mit schwärzlich-olivgrüner Farbe kräftig wuchsen, einen violetten Farbenton annahmen, welcher sich zuerst besonders in den an der Glaswand über das Flüssigkeitsniveau emporgekrochenen Fäden bemerkbar machte, später aber im ganzen Rasen auftrat, und ich dachte, daß diese Cyanophycee

wie das bereits beschriebene[1] Phormidium foveolarum, dessen Färbung gleichfalls schon im gewöhnlichen Tageslicht zwischen Olivgrün und Olivbraun schwanken kann, ein neuer Vertreter jener Blaualgen sei, deren Farbe von der Wellenlänge des einstrahlenden Lichtes abhängt.

Noch im Sommer 1914 wurden ähnliche Bestrahlungsversuche wie mit dem Phormidium foveolarum teils mit Lichtfiltern für Tageslicht, teils mit spektral zerlegtem künstlichen Licht angestellt. Am 3. Juli 1914 gelangten gut entwickelte Kölbchenkulturen des Phormidium Retzii von schmutzigbrauner ins Violette spielender Färbung nach Zusatz von 2 ccm einer 0,1 n KNO_3-Lösung zur Vermeidung eventueller Stickstoffchlorose hinter dieselben Lichtfilter, welche S. 33 meiner zitierten Arbeit angeführt sind. Es wurden folgende Verfärbungen festgestellt:

Hinter	Am 10. Juli	26. Juli	6. September,
roter Folie	braunviolett, stellenweise sepiabraun	violett	violett
orangeroter Folie . .	schwärzlichgrün	schmutziggrün	rotbraun
gelber Folie	sepiabraun	schokoladebraun	violettbraun
blauem Glas	violett	violett	violett
Milchglas	schmutzigbraun m. violettem Stich	braunviolett	braunviolett
zweifacher Lage Seidenpapier	sepiabraun, stellenweis. schwärzl. grün	schmutziggrün	violett

Die anfänglichen Farbenunterschiede hatten sich also schließlich fast ausgeglichen, bei Beendigung des Versuches war Violett die vorherrschende Färbung aller Kulturen.

An einer durch 3 Wochen mit spektral zerlegtem Licht einer Nernstlampe beleuchteten Agarplattenkultur war eine Umfärbung des Lagers nicht festzustellen, nur im grünen Spektralbereich kam es zu einer starken phototaktischen Ansammlung der Fäden und dadurch zu Intensitätsunterschieden in der Färbung des Rasens.

Aus dem Ausfall dieser Versuche konnte gefolgert werden, daß die Strahlengattung nicht für die Färbung des Phormidium Retzii ausschlaggebend ist, und daß die im normalen Tageslicht auftretenden, sehr auffälligen Farbenänderungen mit der Befähigung zur chromatischen Adaptation dieser Alge nichts zu tun haben, sondern durch andere Faktoren verursacht sein müssen.

Bei den gelegentlichen Überimpfungen während der Kriegs-

[1]) Ber. d. d. bot. Ges. 1919. **37**, 25.

jahre machte ich die Erfahrung, daß ältere Kulturen im gewöhnlichen Tageslicht außer der schon erwähnten Umfärbung nach Violett, häufig auch andere Farben annehmen können, wie lila (rotviolett), braunrot, rotbraun und gelbbraun. Letztere Farbe glich völlig jener, welche verschiedene Cyanophyceen beim Verbrauch der Stickstoffquelle des Nährsubstrates annehmen[1]. Einmal verfärbte Rasen ließen kein weiteres Wachstum mehr erkennen.

Auch wurde die in dieser Zeit gemachte Annahme, es könnten die verschiedenen Lagerfärbungen auf differente Rassen des Phormidium Retzii zurückgeführt werden, als irrig aufgegeben, weil sich gezeigt hatte, daß z. B. rein violette Lagerstücke in frische Nährlösung überimpft, zu normal gefärbten Rasen auswachsen. Es war mir aber aufgefallen, daß in einem dieser Versuche jene Rasen, welche sich später zu reinem Violett verfärbten, in allen Kölbchen sehr kümmerlich gewachsen waren. Angesichts der Möglichkeit eines kausalen Zusammenhanges zwischen dürftigem Wachstum und violetter Umfärbung dachte ich zunächst daran, daß die geringe Vermehrung durch die im destillierten Wasser enthaltenen Schwermetallspuren, deren Schädlichkeit in flüssigen Nährmedien E. G. Pringsheim[2] hervorhebt, verursacht sein könnte. Um daher eine solche Wirkung auszuschalten, wurden im August 1918 neue Kölbchenkulturen angelegt, welche teils die gewöhnlich von mir verwendete mineralische Nährlösung (1 g KNO_3, 0,2 g K_2HPO_4, 0,05 g $MgSO_4$, 0,05 g $CaCl_2$, Spur $FeSO_4$ in 1 l dest. Wassers), zum Teil dieselben Nährsalze, aber in 1 l Leitungswasser gelöst enthielten. Ende März 1919 waren die Rasen in den Leitungswasserkulturen noch immer olivgrün bis olivbraun gefärbt, während die meisten mit dest. Wasser angesetzten Kulturen schon den Umschlag ihrer Farbe nach Violett in ± fortgeschrittenem Maße zeigten. Das Wachstum war diesmal aber auch in den letzteren Kölbchen sehr üppig gewesen. So wurde auch die Annahme „oligodynamischer" Wirkungen fallen gelassen, und ich lenkte meine Aufmerksamkeit auf die durch den Nährsalzverbrauch während des Wachstums sich einstellenden Veränderungen in der Zusammensetzung der Nährlösungen, zumal Erfahrungen vorlagen, daß sich die fraglichen Farbenwandlungen in älteren Kulturen einzustellen pflegen.

Die Erschöpfung des Nährsubstrates an Salpeter konnte kaum die Ursache dieser merkwürdigen Verfärbungen sein; denn Zusatz von KNO_3 zu violett gewordenen Kulturen führte in der Regel nicht zu einer Rückverfärbung. Dazu kamen noch andere Erfahrungen. Die Zeit, welche von der Impfung bis zum Eintritt der violetten Verfärbung verstrich, war in einer Versuchsreihe, in welcher ein Teil der Kölbchen noch mit dem Rest einer früher hergestellten, der andere mit einer frisch bereiteten Nährlösung beschickt worden war, verschieden lang; die beiden verwendeten Lösungen, deren Salze mit Ausnahme des $FeSO_4$ genauest

[1]) Jahrb. f. wiss. Bot. 1913. **52**, 145.

[2]) Cohns Beitr. z. Biol. d. Pflzn. 1914. **12**, 49.

eingewogen waren, unterschieden sich also nur in ihrem Gehalte an Ferrosulfat, von welchem jedesmal eine nicht genau bestimmte geringe Menge einer frisch hergestellten verdünnten Lösung zugesetzt worden war.

Es lag daher nahe, den Eisengehalt der Nährlösung in ursächlichen Zusammenhang mit der Verfärbung zu bringen. Schon die ersten Versuche bestätigten diese Vermutung.

Als Beispiel sei folgender Versuch erwähnt. Am 13. März 1919 wurden zwei am 23. August 1918 angelegte Kölbchenkulturen, welche eine braunviolette Verfärbung aufwiesen, mit je 0,5 ccm einer 0,1proz. $FeSO_4$-Lösung versetzt — die Kölbchen enthielten noch etwa 40 ccm Nährlösung. Zum Vergleich blieben daneben zwei gleichgefärbte Kölbchen derselben Provenienz ohne Zusatz. Schon nach 5 Tagen wurden die mit $FeSO_4$ versehenen Rasen dunkler und olivstichig und in den folgenden Tagen machte die Rückverfärbung zum olivgrünen bis olivbraunen Normalton weitere Fortschritte, während die Kontrollkölbchen ihre Farbe natürlich nicht änderten. Anfang Mai 1919 war ungefähr der Höhepunkt der Rückverfärbung, ein dunkles Olivbraun, erreicht, dann folgte wieder eine allmähliche Verfärbung gegen Violett bei gleichzeitigem Hellerwerden. Ein neuerlicher Zusatz, diesmal von je 0,5 ccm einer 1proz. $FeSO_4$-Lösung am 8. Mai 1919 bewirkte wiederum ein schon nach etwa einer Woche deutliches Dunklerwerden der Rasen, welches sich bis zu Dunkelolivbraun steigerte. Auch das vordem sistierte Wachstum wurde dabei wieder aufgenommen. Ende September war der eine der mit $FeSO_4$ versetzten Rasen sepiabraun, der andere wieder violettstichig; die zu Versuchsbeginn braunvioletten Kontrollrasen, denen kein Eisen zugesetzt worden war, hatten während dieser Zeit über Braunrot die Farbe von gebrannter Sienna angenommen.

Eisensulfatzusatz zu violett gewordenen Rasen bewirkt also eine Rückverfärbung zum normalen Farbenton[1]. In gleicher Weise wirkt ein solcher auch auf lila, braunrot und rotbraun gewordene Rasen ein; nur bei gelbbraun gewordenen Kulturen machte ich die Erfahrung, daß Hinzufügen von Eisen eine Rückverfärbung nicht in die Wege leitet, worauf noch zurückzukommen sein wird. Aus diesen Versuchen ist also zu schließen, daß die Farbenwandlung des Phormidium Retzii nach Violett, Lila, Braunrot und Rotbraun auf die Erschöpfung der Nährlösung an Eisensulfat zurückzuführen ist. Übrigens zeigen auch Agarkulturen dieser Alge dieselben Farbenänderungen.

Dies wird auch durch die Prüfung der Nährlösung normaler

[1]) Jetzt versteht sich auch die eingangs mitgeteilte Beobachtung von selbst, daß violette Rasenstücke in frische Nährlösung übertragen mit olivgrüner Farbe weiterwuchsen.

und verfärbter Kulturen auf ihren Eisengehalt bestätigt. Die Nährlösung des zu untersuchenden Kölbchens wurde vom Rasen abgeschüttet, in einer Porzellanschale auf dem Wasserbade eingedampft, der Rückstand mit 2 ccm Wasser aufgenommen und mit 4 Tropfen einer 0,1 mol. Lösung von gelbem Blutlaugensalz versetzt. Das Resultat solcher Untersuchungen war folgendes:

Farbe der Rasen.	Grad der Berlinerblauprobe.
Schwärzlich olivgrün.	Blaue Flocken.
Sepiabraun.	Blaugrüne Färbung.
Violett.	Gelbgrüne „
Braunrot.	„ „
Gelbbraun.	„ „

In den verfärbten Kulturen ist also sehr wenig Eisen nachweisbar, so daß das nur mehr spurenweise entstehende Berlinerblau mit der gelben Lösung des Reagens eine grünliche Mischfarbe liefert.

Um zu zeigen, daß das Sulfation des zugesetzten Ferrosulfats ohne Belang ist, wurden am 17. August 1919 braunrote Rasenstücke einer 1 Jahr alten Kölbchenkultur in sehr verdünnte Lösungen folgender Eisensalze, welche gerade zur Hand waren, zum Vergleiche auch in dest. Wasser übertragen: Eisenchlorid, Eisensesquichlorid, Ferrophosphat, Eisenpyrophosphat, oxalsaures Eisenoxydul und Eisenoxyd, milchsaures Eisen, weinsaures Eisenoxydul und -oxyd, Ferrizitrat und zitronensaures Eisenoxydammon. Am 28. August waren die Impfstücke in allen Eisensalzlösungen sepiabraun bis olivgrün gefärbt, nur im dest. Wasser war die ursprüngliche braunrote Färbung unverändert erhalten. Es erwiesen sich also alle verwendeten Eisensalze für die Rückverfärbung brauchbar.

Sehr interessante Ergebnisse brachte eine Versuchsreihe, in welcher Kölbchen mit je 50 ccm der üblichen Nährlösung beschickt wurden, welche jedoch neben der gleichen Menge der übrigen Salze abgestufte $FeSO_4$-Mengen von 0,01 % bis 0 % enthielten. Von jeder $FeSO_4$-Konzentration wurden 2 Kölbchen hergestellt und am 12. Januar 1919 mit ungefähr gleich großen, olivgraugrünen Rasenstücken einer vom 23. August 1918 stammenden Kölbchenkultur beimpft.

In allen Kölbchen wuchs das Phormidium Retzii mit trübolivgrüner Farbe, Ende März aber machten sich die ersten Verfärbungen bemerkbar. Die auftretenden Farbentöne wurden in diesem Versuch wie auch sonst durch möglichst genaue farbige Wiedergabe festgehalten; leider muß unter den heutigen Verhältnissen auf eine Reproduktion dieser Farbtöne verzichtet werden, so daß ich mich auf die wörtliche Beschreibung der Farben beschränken muß.

Es traten folgende Färbungen in den Kulturen auf:

	30. März 1919	7. Mai 1919	14. Juli 1919	29. Sept. 1919
0,01% $FeSO_4$ . . .	olivgrün	dunkel-olivgrün	dunkelolivgrün u. dunkelolivbraun	dunkel-sepiabraun
0,001% ,, . . .	olivgrün	olivgrün	olivbraun	olivbraun
0,0001% ,, . . .	olivbraun	olivbraun m. rötl. Stich	hell-rötlichbraun	gelbbraun
0,00001% ,, . . .	olivbraun, rötlichbrauner Stich.	braunviolett	lila	lila
Kein $FeSO_4$	olivbraun, rötlichbrauner Stich.	braunviolett	violett	violett
Stammkultur, von welcher abgeimpft worden war	violett	braunrot	rotbraun	rotbraun

Das Wachstum war in den Kölbchen mit 0,01% $FeSO_4$ sehr üppig, in denen mit 0,001 und 0,0001% gut, in jenen mit 0,00001% und ohne $FeSO_4$ kümmerlich. Die Berlinerblauprobe lieferte am Ende des Versuches nur mit dem eingedampften Rückstand des 0,01proz. und 0,001proz. $FeSO_4$-haltigen Kölbchens eine schwache, aber deutliche Bläuung, in den übrigen Kölbchen nur eine grünlichgelbe Färbung. Die Reaktion auf Nitrate mit Diphenylamin-Schwefelsäure ergab eine starke Blaufärbung nur in den 0,00001% und kein $FeSO_4$ enthaltenden Kölbchen, also in jenen, in welchen das Wachstum ein spärliches war und die Rasen eine violette oder lila Färbung angenommen hatten; in den übrigen Kölbchen fiel sie negativ aus[1].

Diese Verfärbung nach Violett tritt also trotz reichlicher Gegenwart von KNO_3 auf und kann daher nicht mit der für verschiedene Cyanophyceen und Grünalgen beschriebenen und infolge der Erschöpfung des Nährsubstrates an N eintretenden Chlorose identifiziert werden. Auch in braunrot gewordenen Kulturen des Phormidium Retzii konnte ich mittels der sehr empfindlichen Probe mit Brucin-Schwefelsäure noch Nitrat nachweisen. Unter solchen Verhältnissen ist auch nicht zu erwarten,

[1]) Weil bei kümmerlichem Wachstum des Phormidium Retzii, welches hier offenkundig auf die geringe Menge des dargebotenen Eisens zurückzuführen ist, rein violette Verfärbungen zustande kommen, klärt sich die eingangs erwähnte ähnliche Beobachtung dahin auf, daß die dort verwendete Nährlösung gleichfalls unzureichende Mengen von $FeSO_4$ enthielt.

daß Zusatz von Nitrat zu violett gewordenen Rasen die Rückverfärbung in die Wege leitet[1].

Dieser Versuch lehrt aber auch, daß die Stickstoffquelle des Nährsubstrates nur dann rationell für das Wachstum ausgenützt werden kann, wenn genügend Ferrosulfat zur Verfügung steht. Geht letzteres aus, dann vermag die Alge mit dem unverbrauchten Rest des Nitrats nichts anzufangen. Auch verträgt das Phormidium Retzii relativ hohe $FeSO_4$-Konzentrationen. Am besten gedieh es in 0,01 % $FeSO_4$; das sind aber Mengen, welche wohl nicht mehr als Spuren bezeichnet werden können.

In den 0,0001 % $FeSO_4$ hältigen Kölbchen resultierten gelbbraune Farbentöne. Am Ende des Versuches war in ihnen weder Nitrat noch Eisen nachweisbar, das Wachstum war ein gutes. Ausgesprochen violette Färbungen waren in diesen Kölbchen zu keiner Zeit während des 9 Monate währenden Versuches zu beobachten. Ihr Gehalt an Nitrat war anfänglich der gleiche wie in den zuvor besprochenen violett verfärbten Kulturen und nur das Ferrosulfat war in größerer Konzentration als in jenen vorhanden. Es besteht daher die Möglichkeit, daß das quantitative Verhältnis dieser beiden Salze für die Art der Verfärbung den Ausschlag gibt. Wie erwähnt, erinnert die gelbbraune Färbung dieser Kulturen völlig an die Farbe N-chlorotischer Cyanophyceen, und es mußte daher auch hier das Verhalten gelbbraun gewordener Kulturen nach Zusatz von KNO_3 und $FeSO_4$, für sich allein und zusammen, geprüft werden.

Zu diesem Behufe standen mir rötlichgelbbraun gewordene, vom 23. August 1918 stammende Kölbchenkulturen zur Verfügung. Am 13. August 1919 erhielt eines dieser Kölbchen einen Zusatz von 5 ccm dest. Wassers, ein zweites von 0,5 ccm 1proz. FeSO + 4,5 ccm dest. Wassers, ein drittes von 5 ccm 0,1 n KNO_3 und ein viertes einen solchen von 5 ccm 0,1 n KNO_3 + 0,5 ccm 1proz. $FeSO_4$. Am 29. September war die Färbung des 1. und 2. Kölbchens unverändert gelbbraun, die Farbe des Rasens im 3. Kölbchen etwas nachgedunkelt, aber

[1]) Nur wenn bei Außerachtlassung der erforderlichen Kautelen mit diesem Nitratzusatz auch geringe Eisenmengen mit hineinkommen, kann es geschehen, daß vorübergehende Rückverfärbungen stattfinden, wie dies in dem S. 66 mitgeteilten Versuche mit verschiedenfarbigen Lichtfiltern zweifellos der Fall war; erst als dort das unabsichtlich zugeführte Eisen verbraucht war, trat überall ein ± violetter Farbenton auf.

von derselben Qualität, offenbar sind hier miteingebrachte oder noch vorhandene geringe Eisenspuren mit im Spiele, und nur im 4. Kölbchen hatte der Rasen eine tiefdunkelolivbraune Farbe angenommen. Am 26. Dezember 1919 war die dunkelolivbraune Färbung nur im 4. Kölbchen unverändert erhalten, die Rasen in den drei übrigen Kölbchen waren rötlichgelbbraun wie zu Beginn des Versuches, auch der etwas dunklere Ton im 3. Kölbchen war wieder zurückgegangen.

Daraus ergibt sich, daß die Rückverfärbung gelbbraun gewordener Kulturen, in denen sowohl der Stickstoff wie das Eisen aufgebraucht ist, weder durch Nitratzusatz allein, noch durch solchen von Eisen allein erzielt werden kann, vielmehr müssen beide Salze gemeinsam dargeboten werden, damit in solchen Kulturen der normale Farbenton sich wieder einstelle. In den violett gewordenen Kulturen, welche noch reichlich Nitrat enthalten, genügt daher der bloße Zusatz von $FeSO_4$ zur Erzielung dieser Wirkung. Wäre in den gelbbraun gewordenen Kulturen noch genügend Eisen zugegen, dann würde ein Zusatz von Nitrat allein wohl gleichfalls die Rückverfärbung hervorrufen und das wäre dann eine als N-Chlorose zu bezeichnende Erscheinung. Für die hier beschriebene Verfärbung ist aber gerade der Eisenmangel das Kennzeichnende.

In den 0,01 und 0,001 % $FeSO_4$ enthaltenden Kölbchen, welche also dieselbe Menge KNO_3 wie die übrigen Kölbchen dieses Versuches, hingegen die größten Mengen $FeSO_4$ führten, sehen wir aber, daß es zu einer Farbenänderung nach Violett, Rot- oder Gelbbraun trotz der langen Versuchsdauer von fast 9 Monaten nicht kommt. Aber auch die für die N-Chlorose der Cyanophyceen charakteristische Gelbbraunfärbung trat hier nicht ein, obwohl das in diesem Kölbchen überaus üppige Wachstum zu einer raschen Erschöpfung des Nährsubstrates an N zweifellos führen mußte, was auch die negative Probe mit Diphenylamin-H_2SO_4 bestätigt. Vielmehr blieb der älteren Kulturen des Phormidium Retzii eigene, dunkel-sepiabraune Farbenton erhalten. Dies Verhalten läßt den Schluß zu, daß entweder der bei der N-chlorose eintretende fast völlige Schwund der blauen und grünen Algenpigmente diesem Phormidium überhaupt abgeht — eine andere Cyanophycee, welche die Erscheinung der N-Chlorose gleichfalls nicht zeigt, lernte ich schon früher[1] in einer Anabaena kennen —, oder daß er nur deshalb nicht eintritt,

[1]) Pringsh. Jahrb. f. wiss. Bot. **52**, 148 u. 153.

weil eine genügend große, selbst nach 9 Monaten nicht völlig erschöpfte Eisenmenge zur Verfügung stand. Wenn diese letztere Möglichkeit einer Art Schutzwirkung des Eisens für unser Phormidium auch tatsächlich zu Recht bestünde, so dürfte sie sich dennoch wohl kaum verallgemeinern lassen; denn eine Abhängigkeit der N-Chlorose der verschiedenen untersuchten Cyanophyceen vom Eisengehalt des Nährsubstrates ist bisher weder mir noch anderen Untersuchern[1] aufgefallen. Nichtsdestoweniger wäre eine Überprüfung dieser Frage angezeigt[2].

Endlich sei darauf hingewiesen, daß sich die infolge Eisenmangels einstellende violette Verfärbung zwar lange behaupten kann, schließlich aber doch weiteren Änderungen nach Braunrot und Rotbraun unterliegt. Dies zeigt z. B. die Stammkultur dieses Versuches, mit welcher die übrigen Kölbchen beimpft wurden, und welche 8 Monate alt violett gefärbt war, nach einem weiteren Monat braunrot und nach 2 weiteren Monaten rotbraun wurde. Diese, wenn auch langsamen Farbenänderungen zeigen zugleich an, daß in den infolge Eisenmangels verfärbten Kulturen, deren Wachstum aus gleichem Grunde sistiert, doch nicht jede Lebensäußerung erloschen ist. Auch sei in diesem Zusammenhang erwähnt, daß violett oder braunrot verfärbte Rasenstücke beim Übertragen in dest. Wasser z. B., sehr rasch durch Auseinanderkriechen der Fäden über den Boden des Gefäßes sich ausbreiten, daß also für das Bewegungsvermögen der Fäden der Besitz der normalen Färbung nicht notwendig ist.

Alle Kulturen und Versuche standen im diffusen Tageslicht an einem Westfenster und wurden vor der Farbstoff-zerstörenden Wirkung direkter Sonne durch Beschattung geschützt. Zur Entscheidung der Frage, ob bei der Rückverfärbung der violetten Rasen auf Eisenzusatz die Mitbeteiligung des Lichtes notwendig sei, erhielten am 1. Januar 1920 zwei braunrot verfärbte Kulturen des Phormidium Retzii (vom 23. August 1918) einen Zusatz von 5 ccm 0,1 % $FeSO_4$ + 2 ccm 0,25 n KNO_3, das eine Kölbchen wurde verdunkelt, das andere daneben dem diffusen Tageslicht ausgesetzt. Am 13. Januar war der am Licht befindliche Rasen bereits tief dunkel olivbraun gefärbt, der Dunkelrasen nur etwas nachgedunkelt, ohne seine braun-

[1]) H. Maertens, Cohns Beitr. z. Biol. d. Pflzn. 1914. **12**, 439.

[2]) Die Erkenntnis der Abhängigkeit der Lagerfärbung und des Eintrittes der Verfärbung von der Eisenmenge des Substrates erhellt nun auch die Ergebnisse der eingangs erwähnten Kulturversuche bei Verwendung von Leitungswasser, welches an und für sich schon eisenhaltig durch den noch erfolgten Zusatz von $FeSO_4$ schließlich eine Eisenmenge enthielt, welche auch nach Monaten nicht erschöpft werden konnte.

rote Farbe geändert zu haben. Es kam also auch im Dunkeln zu einer geringen Rückverfärbung, doch machte sie keine weiteren Fortschritte, ja schließlich ging die Dunkelkultur zugrunde.

Wie sind nun die verschiedenen Cyanophyceenpigmente an diesen durch den Eisenmangel hervorgerufenen Färbungsänderungen beteiligt?

Ich verwendete zur Analyse der Farbstoffe der einzelnen in Kölbchenkultur gewachsenen Rasen dieselbe Methode, welche ich bereits a. a. O.[1] beschrieben habe und auf die daher verwiesen sei. Zur Untersuchung gelangte ein dunkelsepiabrauner, ein violetter, ein braunroter und ein gelbbrauner Rasen. Die wässerigen bzw. alkoholisch-ätherischen Lösungsvolumina wurden dem Trockengewicht der Rasen entsprechend gewählt, so daß die Konzentration der Lösungen untereinander kolorimetrisch verglichen werden konnte. Hierzu diente ein einfaches Tauchkolorimeter von Schmidt und Haensch. Gleiche Schichtdicken der verschieden intensiv gefärbten Lösungen eines Algenfarbstoffes wurden gegen eine derselben kolorimetriert. Die Konzentrationen der erstgenannten Lösungen verhalten sich wie die Schichtdicken der letzteren Lösung bei gleicher Helligkeit der Vergleichsfelder[2]. Die in den letzten 3 Kolumnen der folgenden Tabelle, in welcher die Ergebnisse der Farbstoffanalyse zusammengefaßt sind, stehenden Zahlen bedeuten den aus mehreren Ablesungen erhaltenen Mittelwert der Schichtdicke der Vergleichslösung und sind also Verhältniszahlen der Konzentrationen des betreffenden Pigments in den verschiedenen Rasen.

Die wässerigen Extrakte der untersuchten Rasen sind bei größter Konzentration tief rotviolett gefärbt und besitzen eine venetianisch-braune Fluoreszenzfarbe, bei geringerer Konzentration sind sie rosarot gefärbt und fluoreszieren fast orangerot. Die Eigenfarbe der wässerigen Extrakte, wie sie sich dem bloßen Auge darbietet, ist in der drittletzten Kolumne der folgenden Tabelle vermerkt. Die wässerige Farbstofflösung enthielt anscheinend außer dem rotvioletten Farbstoff noch einen gelbbraunen Körper beigemengt. In den wenig konzentrierten Lösungen Nr. 4 und 5 machte sich diese Beimengung so stark bemerkbar, daß nur die farbstoffreicheren Lösungen Nr. 1—3 kolorimetriert werden konnten, bei welchen die Vergleichsfelder des Kolorimeters auf gleiche Helligkeit eingestellt werden konnten. Die den Konzentrationen der wässerigen Extrakte Nr. 4 und 5 entsprechenden Zahlen würden aber noch kleiner als 2,5 (Nr. 3) ausfallen.

[1]) Ber. d. d. bot. Ges. 1919. **37**, 25.

[2]) Ist c_1 die gesuchte Chlorophyllkonzentration z. B., c_2 die zwar unbekannte, aber als konstanter Bezugswert für alle Messungen dienende Konzentration der Vergleichslösung, d_1 die für alle Lösungen gleich gewählte Schichtdicke, d_2 die Schichtdicke der Vergleichslösung, welche jedesmal bei gleicher Helligkeit der Vergleichsfelder mehrfach abgelesen wurde, so ist $\frac{c_1}{d_2} = \frac{c_2}{d_1}$. Nun ist aber $\frac{c_2}{d_1}$ = konst., woraus die Proportionalität der Werte c_1 und d_2 folgt.

Nummer	Farbe des Rasens	Trock.-gewicht g	Volumen d. wässerigen Lösung ccm	Volumen d. alkoholischen u. ätherisch. Lösungen ccm	Wasserlösliche Farbstoffe		Alkohollösl. grüne Farbstoffe	Alkohollösl. gelbe Farbstoffe
1	grünlich-sepiabraun	0,081	8,1	40,5	intensiv rotviolett	13,9	18,2	21,3
2	sepiabraun	0,0985	9,8	49,0	desgl.	8,0	11,95	21,03
3	braunviolett	0,1175	11,8	58,8	rotviolett	2,5	8,28	22,9
4	braunrot	0,0775	7,8	38,8	deutlich rosa mit gelbl. Stich	—	5,33	20,94
5	gelbbraun	0,0955	9,6	47,8	rosastich. gelbbraun	—	5,03	17,65

Das Absorptionsspektrum der wässerigen rotviolett bis rosa gefärbten Auszüge zeigt ein durch seine Intensität besonders auffälliges Absorptionsband, welches bei 575 $\mu\mu$ beginnt, rasch zum Maximum bei 560 $\mu\mu$ zunimmt, um von hier langsamer bis zu etwa 500 $\mu\mu$ oder noch etwas darüber abzufallen. Daneben tritt nur in den konzentrierteren wässerigen Extrakten (Nr. 1 und 2) bei größerer Schichtdicke ein schwacher Streifen im Rot auf, während das ersterwähnte Absorptionsband auch in den schwach konzentrierten Lösungen (Nr. 3—5) und bei sehr geringer Schichtdicke zu beobachten war. Daß das Absorptionsmaximum der wässerigen Extrakte des Phormidium Retzii zwischen den Frauenhoferschen Linien D und E liegt, ist insofern interessant als das Absorptionsmaximum aller bisher bekannt gewordener Phykocyane zwischen C und D fällt. Dieser Umstand im Verein mit der Eigen- und Fluoreszenzfarbe der wässerigen Extrakte deutet auf eine nähere Verwandtschaft dieses Farbstoffes zum Phykoerythrin hin, ohne, soviel ich heute sehe, mit demselben identisch zu sein. Vielleicht handelt es sich um einen den Übergang vom Phykocyan zum Phykoerythrin vermittelnden Farbstoff, dessen Auffindung Kylin[1] von kommenden Untersuchungen erwartet. Einige Beobachtungen, welche ich hier noch nicht mitteilen will und auf welche ich im anderen Zusammenhang zurückzukommen hoffe, machen es überdies wahrscheinlich, daß in den wässerigen Auszügen des Phormidium Retzii ein Farbstoffgemisch vorliege, weshalb der im folgenden gebrauchte Ausdruck „rotvioletter Farbstoff" mit Vorbehalt verwendet ist.

Die große Ähnlichkeit in der Farbe, Fluoreszenz und im Absorptionsspektrum lassen den Schluß zu, daß in allen untersuchten Rasen trotz ihrer differenten Färbung dieselben wasserlöslichen Farbstoffe vorkommen und daß demnach ihre Färbungsunterschiede nicht auf qualitativen, sondern nur auf quantitativen

[1]) Kylin, H., Zeitschr. f. physiol. Chem 1910. **69**, 237.

Änderungen der Pigmente beruhen, was denn auch die Zahlen der drei letzten Kolumnen der Tabelle veranschaulichen.

Die gelben Farbstoffe (Karotene), deren relative Menge in allen Rasen ungefähr gleich, nur im Rasen Nr. 5 etwas geringer ist, scheiden deshalb als quantitativ sich verändernde Faktoren für das Zustandekommen der Verfärbung aus, wohl aber werden sie gerade durch ihre Konstanz bei Verringerung der übrigen Pigmente für die Lagerfarbe bestimmend. Die dunkelsepiabraun gefärbten Rasen (Nr. 1 und 2) enthalten Chlorophyll und den rotvioletten wasserlöslichen Farbstoff in relativ größter Menge, und die rein sepiabraune Färbung des Rasens Nr. 2 kommt durch die geringere Menge dieser Farbstoffe gegenüber den gelben Pigmenten zustande. In den durch Eisenmangel violett und braunrot verfärbten Rasen Nr. 3 und 4 erfahren diese Farbstoffe eine weitere starke Abnahme, wobei die grüne Chlorophyllfarbe von den rotvioletten und gelben Farbstoffen verdeckt wird. Das Gelbbraun des Rasens Nr. 5 kommt durch die Vorherrschaft der Karotene über die andern nur mehr in sehr geringen Mengen anwesenden Farbstoffe zustande.

Noch ein Wort über die Färbung normaler Rasen. Befindet sich das Phormidium Retzii im kräftigen Wachstum, so ist die Rasenfarbe gewöhnlich olivgrün, erst später wird sie olivbraun bis sepiabraun. Wie durch eigens darauf abzielende Analysen solcher Rasen festgestellt wurde, beruht dieser Farbenunterschied auf einer verhältnismäßigen Vorherrschaft besonders des Chlorophylls in den stark wachsenden Rasen. Vielleicht hängen diese Farbenunterschiede hauptsächlich mit dem Stickstoffgehalt der Nährlösung zusammen, weil in den älteren sepiabraun gewordenen Kulturen Nitrat nicht mehr, wohl aber noch Eisen nachweisbar war. Trotzdem kommt es unter diesen Verhältnissen nicht zur N-chlorose, wie schon erwähnt wurde.

Es handelt sich also bei diesen Farbenänderungen infolge Erschöpfung des Nährsubstrates an Eisen um einen Schwund des Chlorophylls und des wasserlöslichen rotvioletten Farbstoffes. Nach Eisenzufuhr werden die beiden Farbstoffe wieder rückgebildet. Man wird daher diese Erscheinung wegen ihrer Ähnlichkeit mit der Chlorose höherer Pflanzen als Eisenchlorose bezeichnen dürfen, womit ja noch nicht gesagt ist, daß die Ver-

kettung von Eisenmangel mit Chlorophyllverlust in der höheren Pflanze dieselbe sein muß wie im Phormidium Retzii. Aus demselben Grunde bezeichnete ich auch seinerzeit die auf dem Abbau des Chlorophylls und Phykocyans infolge N-mangels beruhende Verfärbung als Stickstoffchlorose. Bei dieser wie bei der Eisenchlorose des Phormidium Retzii erfolgt der Abbau der beiden Farbstoffe gemeinsam, bei letzterer aber bestimmt der wasserlösliche rotviolette Farbstoff noch längere Zeit die Färbung des Lagers. Der Anstoß zum Abbau der Farbstoffe ist jedoch verschieden, dort Stickstoff-, hier Eisenmangel. Beide abnormen Zustände lassen sich durch Zufuhr der fehlenden Elemente beheben. Wenn aber in gelbbraun gewordenen Kulturen des Phormidium Retzii, welche weder N, noch Fe in nachweisbarer Menge enthalten, Zusatz von $FeSO_4$ allein eine Rückbildung der abgebauten Farbstoffe nicht in die Wege leiten kann, so erscheint dies verständlich, weil ja zum Wiederaufbau derselben verfügbarer Stickstoff vorhanden sein muß. Höchstwahrscheinlich wird ja dasselbe vice versa auch für die N-chlorose zutreffen; auch bei dieser dürfte sich die Rückbildung der abgebauten Farbstoffe nach Zufuhr von N nur bei Gegenwart von Fe vollziehen; doch ist letzteres Element im Gegensatz zum N am konstitutiven Aufbau dieser Farbstoffe unbeteiligt und es werden daher viel geringere Mengen nötig sein, um den physiologischen Prozeß der Farbstoffrückbildung in Gang zu halten.

Was nun die Verbreitung der Eisenchlorose bei Cyanophyceen anbelangt, so konnte ich bei anderen von mir kultivierten Arten ähnliche Verfärbungen, wie sie das Phormidium Retzii aufweist, bisher nicht beobachten, obwohl doch auch sonst auf den Eisengehalt der Nährlösung nicht besonders geachtet wurde.

Spezielle Versuche wurden nur mit Phormidium foveolarum in dieser Hinsicht angestellt, jener Alge, bei welcher ich die Abhängigkeit der Farbe von der Wellenlänge des Lichtes studiert hatte und welche auch im gewöhnlichen Tageslicht geringe Färbungsunterschiede (olivgrün und olivbraun) aus mir nicht weiter bekannten Gründen aufweist. Lebhafte Vermehrung wies diese Alge nur in 0,01%, eine schon viel schwächere in 0,001% $FeSO_4$ und in noch geringeren $FeSO_4$-Konzentrationen wuchs sie fast überhaupt nicht; überall aber zeigte sie ein und dieselbe olivbraune Farbe, welche sich auch nach 6 Monaten nicht änderte.

Aber auch für andere Algen scheint typische Eisenchlorose noch nicht beschrieben zu sein. Brunnthaler[1], welcher Gloeothece in Fe-freier Kultur zog, hat eine chlorotische Verfärbung derselben nicht beobachtet. Soviel mir bekannt, gibt nur Molisch[2] für Mikrothamnion Kützingianum an, daß es in Fe-freien Kulturen sich überaus gering vermehrte und eine weniger tiefgrüne Farbe besaß.

Zählt schon bei höheren Pflanzen die Chlorose infolge eintretenden Eisenmangels in der Natur nicht gerade zu den häufigen Erscheinungen, bei welchen aber der Bedarf an diesem Element wegen der viel größeren Organentfaltung ein beträchtlich höherer ist als bei Algen, so besteht für letztere um so weniger Aussicht, derartigen Verfärbungen, wie sie hier für Phormidium Retzii beschrieben wurden, in der Natur jemals zu begegnen.

Zusammenfassung. Für Phormidium Retzii (Ag.) Gom. var. nigro-violacea Wille n. var. von normal olivbrauner Farbe wurde eine bei Erschöpfung des Eisens im Nährsubstrat sich einstellende Verfärbung nach Violett und anderen Farbtönen festgestellt. Dieselbe ist durch den Abbau des Chlorophylls und eines dieser Alge eigentümlichen wasserlöslichen rotvioletten Farbstoffes bedingt und läßt sich durch Zufuhr von Eisen bei gleichzeitiger Anwesenheit von noch verfügbarem Stickstoff wieder rückgängig machen.

Prag, im Juni 1920. Pflanzenphysiologisches Institut der deutschen Universität.

[1]) Wien. Akad. d. Wiss. Abt. I. **68**, 5.
[2]) Ebenda. Abt. I. **104**, 11.

Mitteilungen über mazerierte kohlige Pflanzenfossilien.

Von

R. Potonié, Paläobot. Abt. Geol. Landesanst. Berlin.

Mit 12 Abbildungen im Text.

1. Querschnitte durch die Stomata von Thinnfeldia rhomboidalis Schenk.

Querschnitte durch inkohlte Blattepidermen sind bereits hergestellt worden, so u. a. von Zeiller[1] im Jahre 1882; man vergleiche seine Abbildungen Tafel 11, Nr. 3 und 7—10. Das wenige indessen, was man an diesen Querschnitten sieht, hat die Paläobotaniker in der Meinung bestärkt, daß eine Herstellung solcher Querschnitte keinen großen Zweck habe. So schreiben denn auch Thomas und Bancroft[2], die sich eingehend mit der anatomischen Untersuchung fossiler Blattepidermen beschäftigt haben: »The difficulty of comparing the epidermal structure of the recent and fossil fronds is considerable owing to the impossibility of obtaining good sections through the latter. It is, therefore, necessary in most cases to employ only the information obtained from surface view.« Und in der Tat; stellt man Querschnitte durch die Epidermen inkohlt erhaltener vorweltlicher Pflanzen her, so möchte es zunächst scheinen, als lasse sich daran nichts rechtes mehr feststellen.

Im folgenden sei daher eine Untersuchung an dem inkohlten Blatt von Thinnfeldia rhomboidalis Schenk (Unterer Lias, Wolfshöhe bei Schnaittach, Rollenhofen, aus dem Material der Nürnberger Liasflora) wiedergegeben, die zeigt, daß sich unter Um-

[1]) Zeiller, M. R., Observations sur quelques cuticules fossiles, 1882.

[2]) Thomas und Bancroft, On the cuticules of some recent and fossil cycadean fronds, Transact. Linn. Soc. London, B. Dec. 1913, p. 197.

ständen doch über die Spaltöffnungen auf Grund von Epidermisquerschnitten von inkohlten Blättern etwas aussagen läßt. Um so mehr sei die vorliegende kleine Mitteilung gemacht, als auch Antevs[1] in seiner Monographie über Thinnfeldia nichts derartiges erwähnt. Die inkohlten Blätter unserer Thinnfeldia rhomboidalis lagen lose einer Tonschieferplatte auf. Sie wurden wie üblich abgehoben und in Schulzes Mazerationsgemisch behandelt. Beim darauf folgenden Auswaschen in Ammoniak ließen sich leicht Ober- und Unterepidermis voneinander lösen. Über die Herstellung der Querschnitte durch die Thinnfeldia-Epidermis sei folgendes erwähnt. Die Epidermen wurden in der von Strasburger[2] angegebenen Weise in Paraffin eingebettet und dann teils mit dem Rasiermesser, teils mit dem Mikrotom geschnitten. Letzteres ist erklärlicherweise vorzuziehen. Danken muß ich an dieser Stelle Herrn Dr. H. Otto, damals am Pflanzenphysiologischen Institut Berlin-Dahlem, der mir bei der Herstellung der Mikrotomschnitte behilflich gewesen ist. Als Stärke der Schnitte wurden 6 μ gewählt. — Die Querschnitte durch die obere Epidermis stellen sich nun folgendermaßen dar. Man erblickt ein langes schmales Band (Abb. 1), das an der einen Seite Vorsprünge aufweist. Die mikrochemische Untersuchung ergibt, daß diese Vorsprünge aus kutinisierter Zellulose bestehen. Es sind also die Reste der senkrechten Wände der ehemaligen Epidermiszellen, die der Kutikula aufsaßen: die Kutikularleisten (vgl. auch Abb. 3 und 5 bei *k*). Diese Leisten liegen oft schräg, wohl eine Folge des Drucks (z. B. in Abb. 2). Anders zeigte sich der Querschnitt der unteren Epidermis des Thinnfeldia-Blattes. Dieser war kein zusammenhängendes Band, sondern bestand aus lauter kurzen in einer Reihe liegenden Stücken. Es war anzunehmen, daß jede Unterbrechung einer Spaltöffnung entsprach. Erst bei einer 620fachen Vergrößerung ließ sich dies einwandfrei feststellen. Es ergaben sich dann nämlich in einer Anzahl von Fällen an diesen Trennungsstellen Bilder wie das in Abb. 4 wiedergegebene. Diese Zeichnung ist bei 620facher Vergrößerung

[1]) Antevs, E., Die Gattungen Thinnfeldia Ett. und Dicroidium Goth., Kungl. Sv. Vet. Ak. Handl., 1914, Bd. 51, Nr. 6.

[2]) Strasburger, E., Das botanische Praktikum, 1913.

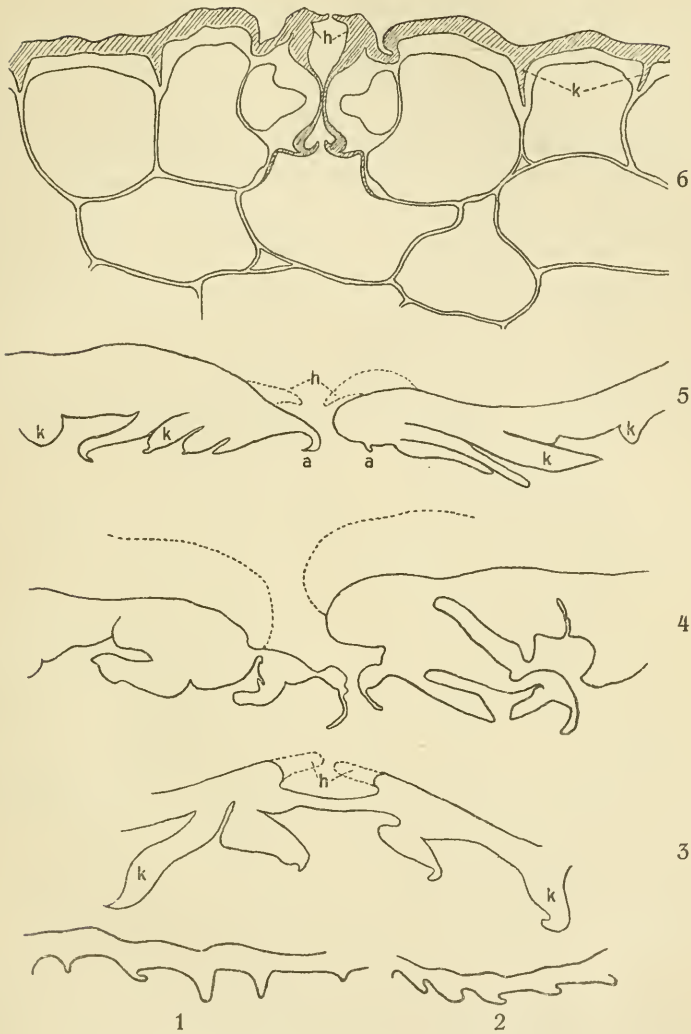

Abb. 1—6. Abb. 1 u. 2 = Querschnitte durch die obere, 3—5 (etwas stärker vergrößert) = durch die untere Epidermis von Thinnfeldia rhomboidalis Schenck (Unt. Lias), wobei Spaltöffnungen getroffen wurden. Abb. 6 = Querschnitt durch die Spaltöffnung der rezenten Clivia nobilis. *a* = kutinisierte Bauchwände der Schließzellen, *h* = »Hörnchen«, *k* = Kutikularleisten.

mit dem Zeichenprisma hergestellt worden[1]. Die punktierten Umrisse sollen hier wie auch in den anderen Zeichnungen besagen, daß diese Umrisse in einer anderen Ebene liegen. Das Interessante an diesem Bild sind die unmittelbar neben der Trennungsstelle nach unten hängenden Zipfel, die, wie alles an diesen »Epidermen« als im wesentlichen aus Kutin bestehend, nachweisbar sind. Otto[2] hat bei seinen Untersuchungen über die Einwirkung von Pilzen auf Zellwände ganz ähnliche Querschnittbilder von den Spaltöffnungen von Clivia nobilis erhalten, nachdem Pilze auf diese in weitgehendstem Maße eingewirkt hatten. Nur die kutinisierten Teile und so auch die kutinisierten Bauchwände der beiden Schließzellen waren erhalten geblieben. Dasselbe, was dort die Pilze bewerkstelligt haben, ist also in unserem Fall durch den Inkohlungs- und Mazerationsprozeß vor sich gegangen. Zur Erläuterung sei auf unsere Abb. 6 hingewiesen, die einen Querschnitt durch eine noch unversehrte Spaltöffnung der rezenten Clivia nobilis darstellt. Die schraffierten Teile von Epidermis- und Schließzellen sind kutinisiert und würden dementsprechend der Einwirkung der Pilze trotzen und erhalten bleiben[3]. Otto bildet denn auch tatsächlich einen Querschnitt durch eine Clivia-Spaltöffnung ab, auf die die Pilze eingewirkt haben und die nur noch die schraffierten Teile zeigt. Ein Vergleich seiner Abbildung mit unserer Abb. 4 zeigt, daß hier tatsächlich eine Parallele vorliegt. Der Querschnitt durch die Clivia-Spaltöffnung Abb. 6 zeigt weiter, wie sich in die senkrechten Wände der Epidermiszellen von der Kutikula aus Kutikularleisten *k* hineinziehen. Auch diese sind in den Querschnitten durch die inkohlte Thinnfeldia-Epidermis, wie ja schon bemerkt, zu erkennen, und in den Abb. 3 und 5 als *k* bezeichnet (vgl. auch Abb. 1 und 2). Die stark kutinisierten »Hörnchen« der Clivia-Spaltöffnung (*h*), jenes bei xerophil gebauten Pflanzen so häufig wiederkehrende Merkmal, finden

[1]) Die Zeichnung wurde dann bei der Reproduktion auf $^4/_5$ ihrer Größe gebracht.

[2]) Otto, H., Untersuchungen über die Auflösung von Zellulosen und Zellwänden durch Pilze, Beiträge zur Allgemeinen Botanik, I.

[3]) Es gibt auch Fälle, in denen die Kutikula durch Pilze zerstört worden ist. So beschreibt Nathorst (Tertiäre Pflanzenreste aus Ellesmere-Land, 1915) derartiges bei tertiären Sequoia-Blättern.

sich auf den Querschnitten durch die Thinnfeldia-Stomate ebenfalls wieder (vgl. Abb. 3 und 5 bei *h*). Es ist indessen besser, wenn wir zum Vergleich mit Thinnfeldia lieber eine dieser systematisch näherstehende Pflanze heranziehen, deshalb seien die in Abb. 7—9 wiedergegebenen durch drei verschiedene Ebenen gelegten Schnitte durch Spaltöffnungen von Cycas revoluta reproduziert. Wir erkennen durch einen Vergleich, daß der Bau der Thinnfeldia-Spaltöffnung wahrscheinlich ein recht ähnlicher gewesen sein dürfte wie bei Cycas, daß indessen die Schließzellen bei Thinnfeldia weniger tief in die Epidermis eingesenkt gewesen sind. Dies zeigt insbesondere ein Vergleich der Abb. 3 und 7, bei denen der Schnitt nicht quer durch beide Schließzellen, sondern nur durch die eine hindurchgeht, so daß die Schnittfläche der nach außen gekehrten Wandung der Schließzelle ein unter den »Hörnchen« befindliches Querband darstellt. Klarer werden diese Verhältnisse durch Abb. 11, die eine Spaltöffnung von Thinnfeldia von innen gesehen zeigt. Die fünf Zellen, Schenks »Wallzellen«, die die Spaltöffnung unmittelbar umgeben, sind die Zellen, die seinerzeit, als die Schließzellen noch vorhanden waren, an diese angrenzten. Diese fünf Zellen entsprechen den Zellen *a* in Abb. 8. Das fast kreisrunde Loch in Abb. 11 ist der Ausgang der äußeren Atemhöhle, die Eisodialöffnung, und entspricht in Abb. 8 der Öffnung *b*. Der Schlitz, der in Abb. 11 den Umriß der Eisodialöffnung durchquert, entspricht der Stelle *c* in Abb. 8. Die Um-

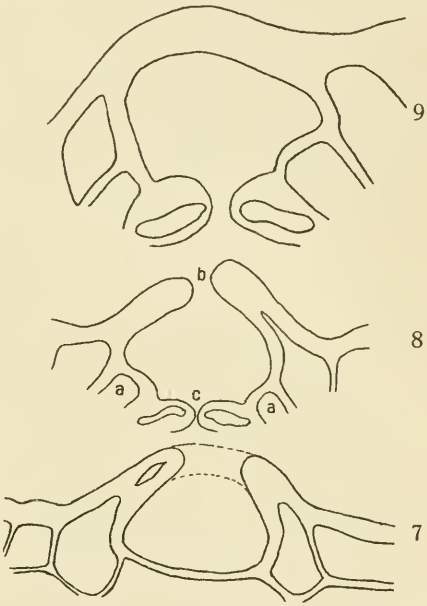

Abb. 7—9 = Querschnitte durch die Spaltöffnung der rezenten Cycas revoluta. *a* = Schenks »Wallzellen«, *b* = Eisodialöffnung, *c* = Zentralspalte.

risse der Schließzellen sind in Abb. 11 nicht zu sehen, was uns bei Betrachtung von Abb. 4 und 6 erklärlich wird. Sind doch die Rückenwände der Schließzellen nicht kutinisiert und konnten sich somit nicht erhalten. In der Tat zeigt die Thinnfeldia-Epidermis in der Aufsicht betrachtet nie die Umrisse der Schließzellen. Die Querschnitte Abb. 3 und 4 sind in der Richtung der entsprechend bezeichneten punktierten Linien von Abb. 11 ausgeführt worden, was insbesondere die oben erwähnte Eigentümlichkeit von dem Schnitt Abb. 3 bedingt. Bei dem Schnitt Abb. 5 sind die kutinisierten Bauchwände der Schließzellen nicht mehr so gut erhalten wie bei dem Schnitt Abb. 4. Sie sind bei dem Schnitt Abb. 5 nur noch als ganz kurze Stummel bei *a* sichtbar, was wohl am Schnitt liegt. Abb. 10 zeigt endlich eine größere Anzahl mehr skizzenhaft gehaltener Zeichnungen von Querschnitten durch Spaltöffnungen von Thinnfeldia, die weiter beweisen können, daß es sich doch lohnen wird, in Zukunft zur Untersuchung von Spaltöffnungen dickerer inkohlter Blätter auch Querschnitte herzustellen.

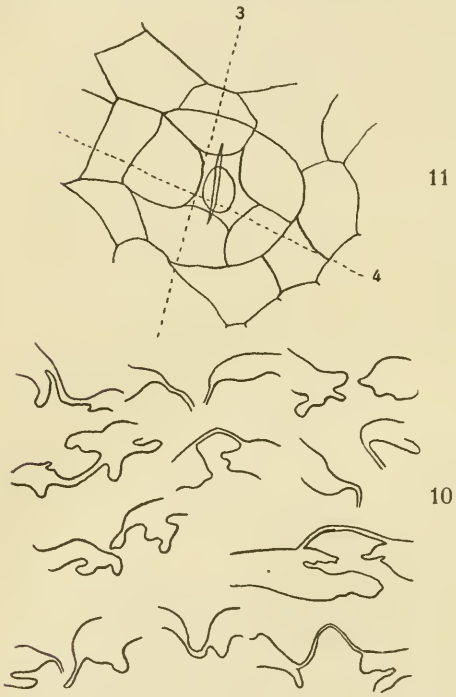

Abb. 10 u. 11. Abb. 10 = weitere Querschnitte durch Spaltöffnungen von Thinnfeldia. Abb. 11 = Spaltöffnung von Thinnfeldia von innen gesehen.

Es sei noch auf einen Unterschied zwischen Cycas und Thinnfeldia hingewiesen. Bei Cycas sind die Epidermiszellen im Gegensatz zu Thinnfeldia verholzt. Sollten sie bei Thinnfeldia früher auch verholzt gewesen sein, so können wir dies schon wegen des Mazerationsprozesses, der der Herstellung der

Schnitte voranging, nicht mehr feststellen. Thomas und Bancroft[1] schlagen denn auch vor, um die Übereinstimmung der Stomata von fossilen »Farnen« und Cycadeen zu zeigen, solle man die Epidermen der letzteren zur Entfernung der verholzenden Stoffe ebenfalls mit Schulzes Gemisch behandeln

2. Bemerkung über den »xerophilen« Bau dieser Stomata.

Nach dem vorangehenden taucht nun die Frage auf: Soll man die Thinnfeldia für eine Pflanze trockenen Standorts halten? Immer wieder steht man bei fossilen Pflanzen vor dieser Frage, die um so kritischer ist, als man in vielen Fällen mit Bestimmtheit sagen kann, daß als xerophil gekennzeichnete Pflanzen der Vorwelt zum Teil in Sumpfmooren gelebt haben[2]. Zudem befindet sich in der Paläobotanischen Abteilung der Berliner Geologischen Landesanstalt eine Probe von unreifem Torf, der aus dem von Koorders auf Sumatra entdeckten Tropen-Sumpfflachmoor[3] stammt und ebenfalls stark xerophil gebaute lederige Blätter in großer Menge enthält. Hiernach kann man aus solchen Eigenschaften also oft nichts über den Standort vorweltlicher Pflanzen folgern. Scheinen doch gerade in tropischen und subtropischen Klimaten, wie wir solche für die Vergangenheit annehmen müssen, Pflanzen auf nassem, moorigen Untergrund zu wachsen, die trotz der reichlichen Wasserzufuhr von unten ihre Verdunstung herabzusetzen trachten. Zu starke Verdunstung mag wohl dem Pflanzenblatt u. a. auch deshalb schädlich sein, weil dadurch eine beträchtliche Verdunstungskälte erzeugt wird[4]. Für die Lebensprozesse im Pflanzenblatt ist aber ein Optimum der Temperatur vorhanden, d. h. sowohl eine Steigerung als auch ein Sinken der Temperatur von diesem Optimum aus verlangsamt die Lebenstätigkeit. Man wird also aus dem Bau der Stomata von Thinnfeldia zunächst noch nichts über die Standortsverhältnisse dieser Pflanze aussagen dürfen

[1]) A. a. O. S. 197.

[2]) Kubart, Einiges aus der Biologie der Karbonpflanzen, Paläobot. Zeitschrift 1912, Heft 1.

[3]) Potonié, H., Entstehung der Steinkohle, Berlin 1910, S. 156.

[4]) Potonié, R., Über die xerophilen Merkmale der Pflanzen feuchter Standorte, Nat. Wochenschr. 1913, Nr. 47.

3. Zur Mazerationstechnik.

Zur Präparationstechnik inkohlt erhaltener Pflanzenreste möchte ich auf den Ersatz von Schulzes Gemisch durch Hoffmeisters Reagens (Kaliumchlorat und Salzsäure) in dem während des letzten Jahrzehnts von den Paläobotanikern so gern verwandten Mazerationsprozeß hinweisen. Hoffmeisters Gemisch läßt sich wegen seiner milderen Wirkung oft mit besserem Nutzen anwenden als das Schulzesche Reagens.

Als besonders geeignet erwies sich das Gemisch bei der anatomischen Untersuchung von Ligniten. Diese Lignite sind oft so dunkelbraun, daß ihre anatomische Struktur kaum erkennbar ist. Durch das Gemisch kann man sie allmählich so stark aufhellen, daß sie oft eine mehr oder minder hellgelbe Farbe zeigen. Ähnliches bewirkt ja auch Schulzes Gemisch, es wirkt jedoch rücksichtsloser. Da die gelb gewordenen Schnitte dann weiter bei allmählicher Behandlung mit Ammoniak oft völlig farblos, nämlich zu reiner Zellulose[1] werden, vermag man sie mit Hilfe dieser Methode so weit aufzuhellen, wie einem dies für die mikroskopische Untersuchung angenehm ist.

Auch für Holzkohlen ist der Prozeß anwendbar. Hier erhalten gewisse Partien des Gewebes einen braunen Ton. Die Holzkohlen werden vorher in Wasser eingeweicht und dann vorsichtig geschnitten.

4. Sichtbarmachung der Stomata einer Lepidophyllum-Epidermis durch Gentianaviolett usw.

Weiter empfiehlt sich die ausgiebigere Anwendung der Färbetechnik auf die fossilen Kutikulen und die kutinisierten Membranen. Am besten eignet sich hier Gentianaviolett.

Blattepidermen, die gefärbt wurden, zeigten nach der Färbung Strukturen, die vorher nicht sichtbar gewesen waren. So wurden bei einem äußerst zarten Häutchen, das sich durch den Mazerationsprozeß von einem Lepidophyllum majus aus der Fett- oder Flammkohle von Saarbrücken loslöste und das überhaupt keine Struktur mehr zeigte, durch die Färbung in der bei Spalt-

[1]) Potonié, R., Der mikrochemische Nachweis fossiler, kutinisierter und verholzter Zellwände, sowie fossiler Zellulose und seine Bedeutung für die Geologie der Kohle. Jahrb. geol. Landesanst. Berlin für 1920. I im Druck.

öffnungen üblichen Verteilung auf der ganzen unteren Epidermis dunkle violette Flecke sichtbar, die den Verdickungen der Kutikula in der Nachbarschaft der Spaltöffnungen entsprechen. Diese Tatsache zeigt beiläufig, daß die Lepidophyllen nicht stets ihre Spaltöffnungen in zwei dem Blatte eingelassenen Rinnen tragen. Auch Gümbel[1] hat dies beobachtet. Er schreibt von diesen »Nadeln« von Lepidodendron: »Es sind sehr deutlich langgestreckte Zellen, nach der Behandlung der oxydierten Kohle mit Ammoniak auch parenchymatische Zellen und Epidermisblättchen mit Spaltöffnungen zu sehen«.

Die von mir präparierte Lepidophyllum-Epidermis zeigt nicht nur die äußerst zarte Epidermis der Blattunterseite, auf der durch die Färbung die dunkleren, den Stomata entsprechenden Punkte sichtbar geworden sind, sondern auch einen Teil der oberen Epidermis, auf der die Färbung, wenn auch sehr undeutlich, die Reste der Kutikularleisten herausgebracht hat. In dem dunkleren Teil des Präparats liegen obere und untere Blatt-Epidermis übereinander.

Auch jüngere Epidermen, z. B. die der jurassischen Thinnfeldia wurden mit Gentianaviolett gefärbt und haben dadurch an Deutlichkeit gewonnen.

5. Über die »Minierlarvengänge« an Blättern von Callipteris conferta.

Eine Callipteris conferta (Stbg.) Brongn. aus dem Rotliegenden der Goldlauterer Schichten (Crock, Thüringen), zeigt bei genauerer Betrachtung schon mit bloßem Auge eigenartige Zeichnungen auf der Blattfläche (vgl. Abb. 12), die H. Potonié[2] als Gänge von Minierlarven beschrieben hat, und die sich als kleine Rinnen darstellen. H. Potonié sagt darüber: »Die in Abb. 22 abgebildeten Wedelbruchstücke der Callipteris conferta zeigen auf der Wedeloberseite verlaufende, verschieden lange, unregelmäßige, rinnenförmige Vertiefungen, meist die ganze Oberfläche bedeckend, zuweilen freie Spreitenteile zwischen sich lassend, welche ich für Minierlarvengänge, „Gangminen“, wie solche an den Blättern unserer heutigen Pflanzenarten, verursacht von Dipteren-, Mikrolepidopteren- und Rüsselkäferlarven, bekannt

[1]) v. Gümbel, C. W., Texturverhältn. d. Mineralkohlen, 1883, S. 163.

[2]) Potonié, H., Lehrbuch der Pflanzenpaläontologie, Berlin 1899, S. 55.

sind, oder für Fraßrinnen anspreche, wie man solche, die Ober- resp. Unterseiten der Laubblätter unserer heutigen Pflanzen durchziehend, nicht selten finden kann. Wie vielfach die rezenten Gangminen sich in ihrem Verlauf der Hauptaderung anpassen, weil stärkere Blattadern den Larven ein Hindernis im Vordringen bieten, so verlaufen im großen und ganzen die Kanäle bei Callipteris parallel den Hauptadern und den diesen parallelen Adern der Fiedern letzter Ordnung; sie sind unregelmäßig hin und her gewunden, endigen stumpf, die Seitenränder verlaufen meist sehr unregelmäßig, aber die zu derselben Rinne gehörigen im ganzen doch parallel zueinander. Die Vertiefungen können so kurz sein, daß der Rand einen kleinen Kreis beschreibt, andere sind so lang-rinnenförmig, daß sich ihr Verlauf fast in der ganzen Fiederchen-Länge verfolgen läßt; dazwischen können alle möglichen Längenverhältnisse beobachtet werden. Handelt es sich um Gangminen, so müssen wir annehmen, daß die Rinnen durch Einsinken der oberen Epidermis in die gangförmig ausgefressenen Mesophyllpartien entstanden sind, veranlaßt durch den Druck des Schlammes, in welchem unsere Reste eingebettet waren.«

Abb. 12. Wedelbruchstück von Callipteris conferta mit Minierlarvengängen, oben ein Stückchen vergrößert. Rotliegendes des Thüringer Waldes.

Durch Mazeration wurde nun festgestellt, daß die Epidermis diese Gänge in der Tat ununterbrochen überzieht und daß die Rinnen tatsächlich ihre Entstehung nur dem Hineinsinken der betreffenden Epidermispartien in die durch die Minierlarven zerstörten Mesophyllteile verdanken. Dies vermag die Ansicht H. Potoniés zu erhärten. Ist doch auch bei den Blättern rezenter Pflanzen zu beobachten, daß hier ebenfalls, wenn solche Gänge in ihnen enthalten sind, die Epidermis unverletzt bleibt und diese Gänge lückenlos bedeckt.

Inhalt.

Seite

1. Querschnitte durch die Stomata von Thinnfeldia rhomboidalis Schenk . 79
2. Bemerkung über den „xerophilen“ Bau dieser Stomata 85
3. Zur Mazerationstechnik 86
4. Sichtbarmachung der Stomata einer Lepidophyllum-Epidermis durch Gentianaviolett usw. 86
5. Über die „Minierlarvengänge“ an Blättern von Callipteris conferta . . 87

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Zeitschrift für Botanik

Jahr/Year: 1921

Band/Volume: 13

Autor(en)/Author(s): Boresch Karl

Artikel/Article: Ein Fall von Eisenchlorose bei Cyanophyceen. 65-89