Mikrochemische Beobachtungen an den Blattzellen von Elodea.

Von **W. Biedermann.**

(Mit 19 Abbildungen im Text.)

So befriedigend im allgemeinen unsere Kenntnisse über die chemische Natur der Zellkerne sind, so wenig wissen wir über die „Chemie des Plasmas", der lebenden Substanz an sich, obschon dieses ja der Menge nach in der Regel bei weitem überwiegt. Es liegt dies hauptsächlich daran, daß man zwar imstande ist, Kerne frei von Plasma in zur chemischen Untersuchung ausreichender Menge zu erhalten, nicht aber umgekehrt kernfreies Plasma. Es kommt noch dazu, daß das, was man schlechtweg als solches bezeichnet, in der Regel chemisch ein außerordentlich kompliziertes Gemenge sehr verschiedenartiger Stoffe darstellt und daher weder von morphologischen, noch auch von chemischen Gesichtspunkten aus so ohne weiteres mit dem Begriff „lebende Substanz" identifiziert werden kann. Neben dieser enthält das Plasma in der Form, in der es uns gewöhnlich entgegentritt, eine Menge von plasmafremden Bestandteilen in Gestalt von Stoffwechselprodukten der manigfachsten Art, teils in flüssiger, teils in fester Form (Stärke, Glykogen, Fett, Mikrosomen usw.). Zur lebenden Substanz selbst zu rechnen sind ferner sehr verschiedenartige Einschlüsse, die teils an der Grenze der Sichtbarkeit stehen, teils sehr beträchtliche Größe erreichen (wie z. B. Chlorophyllkörner), deren Natur und Funktionen nur zum kleinsten Teil bekannt sind. Vielfach schließen sich solche granuläre Gebilde auch zu fädigen Differenzierungen zusammen. Von allen diesen Dingen abgesehen, erscheint die plasmatische Grnndsubstanz entweder ganz homogen oder sie zeigt mehr oder weniger deutlich ausgeprägt „Schaumstruktur". Ob und inwieweit geformte Plasmaprodukte als „lebendig" gelten können, bleibt in jedem Falle besonders zu untersuchen. Daß der Kern, der ja gar nicht als Plasmaprodukt, sondern als eine besondere „Differenzierung" zu betrachten ist, ein lebendiges Gebilde darstellt, ist ja selbstverständlich; er bildet gewissermaßen eine sowohl morphologisch wie chemisch scharf abgegrenzte

Portion lebendiger Substanz, wie andererseits auch die Chromatophoren, die Centrosomen und sicher auch zahlreiche chemisch vorläufig nicht näher zu charakterisierende „Granula", die zum Teil wie jene als typische Zellorgane aufzufassen sind. Es muß unter allen Umständen daran festgehalten werden, daß auch vom rein chemischen Standpunkte aus das Protoplasma im Sinne Zwaardemaker's (Ergebn. d. Physiol. 1906, Bd. V, pag. 108—154) ein kompliziertes chemisch heterogenes System nebeneinander bestehender Phasen darstellt, wobei alle sichtbaren Strukturen natürlich ganz außer Betracht bleiben. Neben Eiweißkörpern (Eiweißverbindungen) haben wir ja auch im hyalinen, anscheinend ganz homogenen Plasma immer Wasser, Gase, Salze, gelöste Kohlehydrate, maskiertes (gebundenes) Fett, Lipoïde und wohl ausnahmslos Fermente als die eigentlichen Triebfedern des lebendigen Geschehens anzunehmen, und zwar im allgemeinen in charakteristischen Mengenverhältnissen. Niemals darf aber vergessen werden, daß jeder lebenden Substanz neben der komplizierten chemischen Zusammensetzung auch noch eine ererbte Struktur im höheren Sinne („Metastruktur") zukommt, eben das, was gemeinhin als „Organisation" bezeichnet wird. In der Regel wird dieser Begriff einseitig morphologisch gefaßt, man muß sich aber wohl hüten dies so zu verstehen, als sei das Plasma gewissermaßen ein mechanisches Kunstwerk, und wenn auch nicht geleugnet werden kann, daß auch sichtbare Strukturen zur Organisation des Plasmas gehören, so sind doch unsichtbare, chemische Differenzen ohne Zweifel von weit größerer Bedeutung. Das Plasma ist in erster Linie ein chemisch heterogenes System.

Der Chemismus einer lebenden Substanz hängt nicht allein von ihrer chemischen Zusammensetzung als Ganzes ab, sondern wird auch von ihrer „Organisation" ganz wesentlich beeinflußt, ja man kann vielleicht sagen bestimmt. Man braucht sich da nur an die Tatsache zu erinnern, das Plasma, welches dem Einfluß des zugehörigen Kernes entzogen wird, unfehlbar abstirbt und ferner, daß es in einem und demselben Plasmakörper funktionell, d. h. in bezug auf ihren Chemismus, verschiedene Teile gibt (verschiedene Granula, Chlorophyllkörner, Stärkebilder usw). Denken wir uns einen Zellkörper außer dem Kern ganz frei von jeglichen sichtbaren plasmafremden (toten) und plasmaeigenen (lebendigen) Einschlüssen und Differenzierungen, so könnte man zwar vom rein morphologischen Standpunkte aus von Homogenität sprechen, nichts berechtigt aber, eine solche auch in Hinsicht der chemischen Zusammensetzung und demgemäß der funktionellen Leistungen

vorauszusetzen. Im Gegenteil spricht alles dafür, daß zu jeder Zeit das chemische Geschehen an verschiedenen Orten einer solchen anscheinend gleichartigen Plasmamasse verschieden ist, was naturgemäß wieder entsprechend lokalisierte chemische Differenzen des Substrates zur Voraussetzung hat. Schon 1893 hat R. H. Chittenden[1]) mit Nachdruck darauf hingewiesen, daß vom chemischen Gesichtspunkte aus die Zelle keineswegs als die letzte Struktureinheit gelten kann:

„Die Physiologen waren gewohnt, in der Zelle die Einheit der variablen Formen des Organismus zu sehen, welche der Sitz der vielen verschiedenen chemischen Prozesse ist, die für das Gewebe des betreffenden Individuums charakteristisch sind. Ich glaube, wir haben allen Grund an die Existenz letzter Teilchen der belebten Materie zu glauben, welche die wahren Einheiten des Organismus sind. Sie sind vielleicht morphologisch nicht erkennbar, aber nichtdestoweniger existieren sie doch als individuelle Glieder in der Kette der Moleküle, aus denen das lebende Plasma zusammengesetzt ist". Auch Quincke (Nature, Bd. XLIX, pag. 6) drückt sich in dieser Beziehung sehr deutlich aus: „Die Biologie muß wohl oder übel mit der Tatsache rechnen, daß die Entwicklung der Zelle und das Leben der organischen Natur abhängig ist von Massen und Lagebeziehungen, die mit dem Mikroskop allein nicht erkannt werden können". In geistvoller Weise hat dann Hofmeister[2]) an dem Beispiel der Leberzelle gezeigt, daß es, um die manigfaltigen chemischen Leistungen derselben zu verstehen, notwendig ist, einen komplizierten Bau und eine chemische Ungleichwertigkeit des Plasmas anzunehmen. Es wäre sonst „schwer verständlich, daß im Plasma nebeneinander ganz verschiedene, zum Teil chemisch entgegengesetzt verlaufende Prozesse, Hydrierung und Wasserentziehung, Oxydations- und Reduktionsvorgänge ohne Störung verlaufen können. Sodann aber würden wir bei Annahme eines einzigen gleichartigen Reaktionsraumes in der Zelle auf eine sehr wichtige Erklärungsmöglichkeit verzichten. Im Protoplasma erfolgt Aufbau und Abbau verschiedener Stoffe durch eine Reihe von Zwischenstufen, wobei keineswegs immer dieselbe Art der chemischen Reaktion, sondern zumeist eine Reihe von verschiedenartigen Reaktionen zur Geltung kommt. Diese müssen aber in einer bestimmten Reihenfolge vor sich gehen, was wieder getrennte Arbeit der einzelnen chemischen Agentien und eine bestimmte Bewegungsrichtung der gebildeten Produkte, kurz eine chemische Organisation

1) Americ. Naturalist., Vol. XXVIII, pag. 97 ff. und Biol. Zentralbl. 1894, Bd. XIV, pag. 320.

2) Die chemische Organisation der Zelle 1901.

voraussetzt, die sich mit der Vorstellung einer ubiquitären Gleichwertigkeit des Plasmas durchaus nicht verträgt, dafür aber die Promptheit und Sicherheit, mit der es fungiert, um so verständlicher macht."

Ursprünglich war Hofmeister der Meinung, daß die räumliche Trennung der chemischen Prozesse das Plasma sich am besten aus der Schaumstruktur desselben erklären lasse unter der Voraussetzung, „daß die Wandungen des Reaktionsraumes gegen die jeweilig darin stattfindende Reaktion relativ widerstandsfähig seien, daß sie z. B. dort, wo Oxydationen stattfinden, für die betreffende Oxydase, wo Eiweißspaltung stattfindet, für das proteolytische Ferment vergleichsweise unangreifbar sind". Später näherte er sich mehr der Granulalehre Altmann's, derzufolge das Plasma als eine morphologisch und physiologisch zusammengesetzte Bildung aufzufassen sei, nämlich als eine Kolonie elementarer Lebewesen („Bioblasten"), die bisweilen als „Granula" erkennbar sind. Diesen schreibt er die Fähigkeit der Assimilation, des Wachstums und besonders auch der Selbstteilung zu. Sie sind außerdem nicht gleichartig, sondern spezifisch differenziert und können demgemäß verschiedene Funktionen übernehmen. Mithin könnten sich auf dem gegebenen Raume derselben Zelle verschiedene Funktionen in ihnen lokalisieren. In der Folge hat Altmann seine Lehre wesentlich modifiziert und legte nun das Hauptgewicht auf die „Intergranularsubstanz", die „die kleinsten Granula enthalten soll, aus denen sich die größeren erst entwickeln. Auch A. Kanitz[1]) vertritt den Standpunkt, daß „für das Zustandekommen der Lebensvorgänge der räumlich getrennte Verlauf der betreffenden chemischen Vorgänge eine unentbehrliche Vorbedingung ist, und es hat daher die von vielen Morphologen so sehr betonte Bedeutung der konstanten Struktur (Organisation) auch einen tiefen biochemischen Sinn. Auch der Ausdruck „vital", so unbestimmt er vielfach benutzt wird, bekommt dann einen Inhalt, indem als vital solche Vorgänge zu bezeichnen sind, welche durch Zertrümmerung der Struktur, d. h. durch Zerstörung der räumlichen Anordnung der ineinandergreifenden Reaktionssysteme unreproduzierbar werden".

So unbestritten die Annahme von Herden eines besonderen Chemismus innerhalb einer Zelle ist, wenn dieselben sichtbar, d. h. morphologisch differenziert sind, wie es beim Zellkern, den Centrosomen, den Chromatophoren und gewissen Granulis der Fall ist, so wenig scheint

1) Das Protoplasma als chemisches System. Handb. d. Bioch. von Oppenheimer 1909, Bd. II.

im allgemeinen Neigung zu bestehen, eine chemische Organisation (Zellorgane) auch in solchen Fällen anzuerkennen, wo sichtbare Strukturen fehlen und dennoch läßt sich eine solche Annahme nicht wohl umgehen. Wenn man es mit Hofmeister für unerläßlich hält, überhaupt räumlich getrennte lokalisierte Stätten für die oft so zahlreichen und mannigfaltigen chemischen Leistungen einer Zelle vorauszusetzen, so bleibt schon mit Rücksicht auf die flüssige Beschaffenheit und die strömende Bewegung, die das Plasma so oft zeigt, kaum etwas Anderes übrig, als neben den sichtbaren Granulabildungen, deren Bedeutung als Stätten besonderen chemischen Geschehens in nicht wenigen Fällen als sicher gelten darf, auch unsichtbare ähnliche Gebilde — die darum nicht ultra- oder gar amikroskopisch zu sein brauchen — gewissermaßen als schwimmende kleine Laboratorien, um ein Wort von Berthold zu gebrauchen, anzunehmen. Wie Hofmeister[1]) rechnerisch nachweist, „gestattet das Protoplasma einer Zelle von mittlerer Größe die Unterbringung einer Struktur, deren Kompliziertheit weit über das hinausgeht, was man auf Grund der anatomischen Tatsachen auch nur entfernt erwarten konnte". . . . „Es wäre ein Irrtum, dem flüssigen Plasma auf Grund seiner optischen Homogenität und seiner Beweglichkeit eine räumliche Organisation absprechen zu wollen. In ihm können Hunderttausende, ja Millionen von solchen hochkompliziert gebauten Laboratorien suspendiert sein, deren Leistungen durch die Bewegungen des Plasmas ebensowenig beeinflußt zu sein brauchen, wie die in einem Schiff vorgenommenen Arbeiten durch die jeweilige Fahrtrichtung." Das Verhältnis dieser physiologisch tätigen, elementaren Laboratorien zum Gesamtplasma wäre nach Hofmeister einigermaßen dem Verhältnis der Einzelzellen zum Gesamtorganismus der Metazoen zu vergleichen. Damit wäre das Gesamtleben einer Zelle oder eines Teiles einer solchen in demselben Sinne die Resultierende der Lebenserscheinungen seiner Teils sichtbaren Teils unsichtbaren Konstituenten, wie das Leben eines vielzelligen Organismus das Resultat „des Zusammenwirkens der ihn aufbauenden „Elementarorganismen" darstellt. Ich halte eine solche Auffassung der lebenden Substanz als einer Summe kleinster Teilchen, die jeweils den Sitz eines besonderen Chemismus bilden und untereinander in einem korrelativen Verhältnis stehen, für überaus glücklich, denn sie gibt uns erst eine klare Vorstellung davon, daß auch das Zellleben nicht einheitlich zu fassen ist, sondern schon in seiner einfachsten Form durch das Zusammenwirken einer großen Zahl an sich lebendiger,

1) Zeitschr. f. Morphol. u. Anthropologie 1914, Bd. XVIII, pag. 717.

d. h. mit Stoffwechsel begabter, heterogener Teilchen zustande kommt, von deren gegenseitiger Abhängigkeit man sich vielleicht am ehesten eine Vorstellung bilden kann, wenn man sich jener, namentlich bei niedersten Lebensformen nicht seltener Fälle erinnert, wo verschiedene Arten in ihrem Lebensgetriebe aufeinander angewiesen sind, indem sie Lebensgemeinschaften bilden und sich sozusagen gegenseitig in ihrer Existenz bedingen.

Es handelt sich hier nicht etwa nur um rein theoretische Abstraktionen nach Art der von verschiedenen Autoren mit verschiedenen Namen belegten kleinsten „Lebensteilchen", sondern wenigstens zum Teil um leicht nachweisbare Zellorgane, wie sie uns beispielsweise in den Chromatophoren, Centrosomen und zahlreichen, funktionell ganz verschiedenen Granulis entgegentreten, wenngleich sicher die Überzahl solcher „Plasmadifferenziale" sich wegen ihrer Kleinheit oder optischen Gleichartigkeit der direkten Beobachtung entziehen. In welchem Maße selbst kleinste Differenzierungen das Gesamtplasma zu beeinflussen vermögen, dafür dürften die „Zentren" wohl das beste Beispiel geben. Hier handelt es sich zweifellos um eine winzige Masse spezifisch gearteter Substanz, die im lebenden Zustande völlig unsichtbar, sich doch durch geeignete Färbungsmethoden als chemisch different vom übrigen Plasma nicht minder scharf darstellen lassen, wie die im Vergleich dazu riesig großen Kerne. Nach M. Heidenhain sind die „Centriolen" scharfumgrenzte solide Granula von sehr geringer Größe; er bezeichnet sie als „histologische Elementarkörper", d. h. Gebilde, „die bei der mikroskopischen Zerlegung der lebenden Masse in letzter Linie unter bestimmter Form und Begrenzung erkennbar sind; ihre Komponenten sind nicht mehr histologischer, sondern metamikroskopischer Natur". Sie besitzen die Fähigkeit zu assimilieren, zu wachsen und sich durch Teilung oder Knospung zu vermehren. Auf der anderen Seite sehen wir in den funktionell ganz verschiedenen Chlorophyllkörpern vergleichsweise riesige Plasmadifferenzierungen, welche wie die Centriolen assimilieren und wachsen und sich durch Teilung vermehren können, außerdem aber durch den Besitz eines besonderen Farbstoffes imstande sind mit Hilfe der Energie des Sonnenlichtes aus CO_2 und H_2O organische Substanz (Zucker, Stärke) aufzubauen. Gerade sie liefern das beste Beispiel dafür, daß ganz bestimmte chemische Leistungen der Zelle an solche besondere, geformte Differenzierungen des Plasmas geknüpft sind, die ihre Funktion selbst dann noch auszuüben vermögen, wenn sie vom übrigen Plasmakörper ganz getrennt werden. Da wir nun in der Tat auch andersartige Plasmadifferenzierungen (Granula) kennen, welche

wenigstens während ihrer ersten Entwicklung sicher assimilieren und wachsen, und von denen es festgestellt ist, daß sie wie die Chlorophyllkörner Sitz eines besonderen, jeweils verschiedenen Chemismus sind und gewisse teils zur Ausscheidung bestimmte Sekretstoffe (Mucin, Fermente), teils Produkte metabolischer Sekretion (Fette, Glykogen usw.) erzeugen, so dürfte es wohl gestattet sein, alle derartigen Gebilde unter gemeinsamen Gesichtspunkten zu betrachten und sie für Zellorgane zu halten, die sich aus kleinsten metamikroskopischen Teilchen des Plasmas entwickeln und anfangs sicher lebendig sind.

Es dürfen hier die von Benda zuerst dargestellten „Mitochondrien" nicht vergessen werden, welche besonders bei der Spermiogenese eine wichtige Rolle spielen und vor allem viele der durch „Vitalfärbung" darstellbaren Granula. Zwar hat M. Heidenhain gewisse Bedenken gegen deren Deutung als lebende Zellorgane geltend gemacht, indessen erscheint mir in diesem Falle die Skepsis zu weit getrieben. Soweit meine eigenen Erfahrungen an pflanzlichen Zellen reichen, über die an anderer Stelle berichtet werden soll, kann ich mich nur der Auffassung von A. Fischel[1]) anschließen, daß die vital darstellbaren Granula Elemente des lebenden Plasmas und daher „konstante, unveränderliche Inhaltsgebilde" desselben sind. Ein noch kaum betretener, aber viel verheißender Weg zur Aufklärung der Natur des Plasmas ist auch in der ultramikroskopischen Untersuchung desselben gegeben. Nach Untersuchungen von Gaidukov[2]) gleicht die ultramikroskopische Struktur des Plasmas im allgemeinen der einer kolloïdalen Lösung (eines Hydrosols), d. h. es lassen sich zahllose Teilchen (Plasma-Ultramikronen) unterscheiden, deren Größe und Form sehr verschieden ist (zwischen 100 und 5 $\mu\mu$) . . . . außer punktförmigen Teilchen sieht man längliche, biskuit- und achtförmige Bildungen. Wie es scheint, vermögen sie sich auch zu teilen. Ob es „optisch leeres" Plasma gibt, muß vorläufig dahingestellt bleiben. Auch von seite der Pathologen hat die Granulalehre neuerdings anerkennende Würdigung gefunden. „Die Tatsachen der Granulabefunde, sagt Paul Ernst in einem Referat über die Bedeutung der Zellstrukturen für die Pathologie (Verh. d. D. Path. Ges. 1914), sind heute zu zahlreich und zu gesichert, als daß man achtlos an ihnen vorbeigehen oder sie als Produkte von Niederschlägen und Fällungen (A. Fischer) oder der tropfigen Entmischung (Albrecht) deuten könnte. Die Mehrzahl der Granula ist genügend gekennzeichnet,

1) Anatom. Hefte 1901, Bd. XVI und Encyklopädie d. mikr. Technik 1908, Bd. I.
2) Ber. d. D. Bot. Gesellsch. 1906, Bd. XXIV.

um sie als ständige, wesentliche und integrierende Bestandteile des Plasmas anzuerkennen. Ihre Konstanz, Regelmäßigkeit des Vorkommens, der Anordnung, der Größe, ihre Präexistenz im frischen, lebenden Objekte, ihre Nachweisbarkeit im Dunkelfeld und Ultramikroskop, ihre sukzessive Färbarkeit aus ungefärbten, aber im Mikroskop sichtbaren Vorstufen . . . alle diese Eigenschaften lassen sie als wichtige und wesentliche Bauelemente der Zelle erscheinen.“ Die wichtigste Seite der Granula ist nach P. Ernst ihre funktionelle Betätigung: „Sie dienen der Resorption, der Assimilation und Dissimilation, der Metathese und Synthese, der Speicherung, der äußeren und inneren Sekretion. Nach den Phasen dieser Leistungen wechselt die Erscheinung der Fadenkörner und Körnerfäden nach Struktur, Architektur und Funktionszustand. Sie sind kleine Werkzeuge, Organula, Organellen der Zelle, die Träger wichtiger Stoffwechselvorgänge. Diese Tätigkeit der zugrunde liegenden Elemente, der ‚Plasmosomen‘ bei der Umsetzung von Farbstoffen, Fetten, Glykogen, Eisen, Pigmenten, Kolloïd, Mucin, Eiweiß, Kalk wird dadurch offenbar, daß sie nach Entfernung der sie befrachtenden Stoffe (z. B. Glykogen durch Speichel) als Trägersubstanz, als Substrat als Anlage wieder zum Vorschein kommen.“

Wenn wir nun sehen, daß so völlig verschiedene chemische Prozesse, wie C-Assimilation, Fett- und Mucinbildung, Entstehung von Giften und Pigmenten, Cellulose- und Kalkausscheidung, sowie vor allem die Entstehung der verschiedensten Fermente auf der Basis granulärer Gebilde erfolgt, so scheint es wohl kaum allzukühn, ganz allgemein individualisierte Plasmateilchen als chemische Werkstätten der lebenden Zelle vorauszusetzen, auch wenn wir sie nicht unmittelbar sichtbar machen können. Es würde dann der sichtbar granuläre Zustand der Plasmas nicht nur, wie auch M. Heidenhain annimmt, für Drüsenzellen „ein in gewisser Hinsicht vergröbertes Abbild der metamikroskopischen Struktur“ darstellen, sondern eine solche wäre ganz im Sinne von Altmann eine allgemeine Eigenschaft jeder lebenden Substanz. Wenngleich die in Rede stehenden, chemisch verschiedenen, kleinsten lebenden Plasmateilchen im allgemeinen als fest werden gelten müssen, so gehört doch zur Organisation des Plasmas unter allen Umständen Wasser, welches meist so reichlich darin enthalten ist, daß die lebende Masse alle wesentlichen Eigenschaften einer Flüssigkeit darbietet. Aber auch in dieser Beziehung besteht keineswegs Gleichartigkeit im Bereiche eines und desselben Plasmakörpers (Ekto- und Entoplasma), und gar nicht selten sieht man den Aggregatzustand einer Plasmapartie in kürzester Frist wechseln, indem strömendes Plasma vorübergehend

erstarrt und umgekehrt festes wieder flüssig wird. Dem äußeren Verhalten nach steht das Plasma durchschnittlich zwischen einem Sol (d. h. einer räumlich gleichmäßig beschaffenen kolloïdalen Lösung), einer Gallerte (d. h. einer gleichmäßigen Verteilung gequollener Kolloïdteilchen mit Behinderung der Beweglichkeit des Wassers zwischen diesen) und einem Gel (einer räumlich ungleichmäßig beschaffenen kolloïdalen Lösung). Infolge der niemals ganz fehlenden physikalischen Heterogenität erinnert das Plasma an ein Gel oder noch eher an eine Kombination von Sol, Gallerte, und Gel. Es muß das größte Gewicht darauf gelegt werden, daß das Wasser jeder lebenden Substanz darin als Quellungswasser enthalten ist und daß daher auch alle teils dauernden, teils vorübergehenden Änderungen des Wassergehaltes auf Quellung resp. Entquellung zurückzuführen sind, während osmotische Prozesse nur dann eine größere Bedeutung gewinnen, wenn es zu örtlicher Ansammlung von Wasser in Vakuolen kommt. Ich stimme W. Ostwald vollkommen zu, wenn er sagt, „daß neben oder richtiger über dem osmotischen Druck ganz andere Kräfte den Wassergehalt des Organismus bestimmen. Es sind nicht die osmotisch wirksamen molekulardispersen Bestandteile einer Zelle, also speziell die Salze, sondern vielmehr die Plasmakolloïde, die für den Wassergehalt und seine Änderungen in erster Linie verantwortlich erscheinen".

Die Beziehungen zwischen dem Chemismus des Plasmas und seinen physikal-chemischen Eigenschaften, speziell seinem Quellungszustand, sind sehr nahe, und man braucht sich nur des so sehr auffallenden Einflusses zu erinnern, welchen selbst kleinste Mengen von Säuren auf die Quellung ausüben, um dies einzusehen. Selbstverständlich wird das in einer Plasmamasse enthaltene Wasser immer auch Salze sowie organische Substanzen (Eiweißkörper, Kohlehydrate, Säuren usw.) gelöst enthalten. Vielfach kommt es, abgesehen von dem flüssigen Inhalt etwaiger Schaumwaben, zur Bildung kleiner und größerer „Vakuolen", welche in manchen Fällen den Wert von Zellorganen erlangen, wenn sie, wie z. B. die Verdauungsvakuolen der Protisten, der Sitz bestimmter chemischer Vorgänge werden. Es scheint derartiges sogar sehr häufig vorzukommen, auch wenn man von der oben erwähnten Anschauung Hofmeister's absieht, wonach in benachbarten Schaumwaben sich ganz verschiedene chemische Prozesse abspielen können.

Wenn man die hier vorgetragene Auffassung vom Bau einer lebenden Substanz gelten läßt, so wird ohne weiteres klar, daß von einer makrochemischen Untersuchung des Plasmas nur in einem

sehr beschränkten Sinn die Rede sein kann und daß der Mikrochemie hier eine wichtige Rolle zukommt. Denn offenbar kommt es in erster Linie auf die räumliche Verteilung der einzelnen Plasmabestandteile an und es ist, wie A. Kanitz sich drastisch ausdrückt, mit dem Nachweis des allgemeinen Vorkommens eines Stoffes als Zellbestandteil kaum mehr anzufangen, als mit der Aussage, die man erlangt, wenn man hochorganisierte Wesen mit Haut und Haar zerkleinert und die aus dem erhaltenen Gemenge isolierten Stoffe als allgemeine Körperbestandteile bezeichnet. So haben denn auch alle derartigen Versuche bisher im Grunde genommen recht wenig fördernd gewirkt. Dies gilt beispielsweise auch von den viel zitierten Untersuchungen von Reinke und Rhodewald über die Zusammensetzung des Plasmodiums von Aethalium, wenn man nicht die Aufstellung des „Plastin"-Begriffes als einen solchen Fortschritt gelten lassen will. Nach Auspressen der frischen Plasmamassen blieb als Rückstand eine feste Substanz, welche in der Hauptsache aus einem P-haltigen Proteïd bestand, für welches die genannten Autoren den Namen Plastin vorschlugen. Auf lufttrockene Substanz berechnet, würde dieser Körper etwa 30 % des ganzen Plasmodiums ausmachen. Reinke fand einen auffallend geringen N-Gehalt (12 %); in verdünnten Säuren und Alkalien ist das Plastin unlöslich und wird, wie Nukleïn, vom Magensaft nicht angegriffen. Über die eigentliche chemische Natur dieser sehr fragwürdigen Substanz liegen vorläufig irgendwelche zuverlässige Angaben nicht vor. O. Löw (Bot. Zeitung 1884) nennt das Plastin einen „verunreinigten Eiweißkörper" und will aus demselben durch Behandlung mit Kalilauge Substanzen erhalten haben, welche Eiweißreaktionen geben. Reinke dagegen bezeichnet es als einen „einheitlichen, molekular zusammenhängenden Atomkomplex, der allerdings nicht absolut, aber doch in ähnlichem Grade rein erhalten werde, wie alle bisher analysierten Nukleïnpräparate". Der Begriff Nukleïn war zu jener Zeit noch wenig scharf umschrieben, so daß ein solcher Vergleich vorläufig jeder sicheren Grundlage entbehrt. Das gleiche gilt auch von einigen anderen Eiweißstoffen, welche Reinke und Rhodewald aus dem Plasmodium isoliert haben wollen.

Auf Grund mikrochemischer Reaktionen, insbesondere künstlicher Magenverdauung haben auch Zacharias und Frank Schwarz das Vorkommen desselben Körpers sowohl im Kern, wie auch im Plasma von Pflanzenzellen behauptet und der letztgenannte Autor vertritt sogar die Ansicht, daß das Plastin der einzige darin nachweisbare Proteïnstoff sei. Wie sich die ganze Frage auch weiterhin

gestalten mag, das eine scheint jedenfalls sicher zu sein, daß der plasmatische Zellinhalt wenigstens bei Pflanzen genuine Eiweißkörper (Albumine, Globuline), wenn überhaupt, immer nur in sehr geringer Menge enthält. Darauf weist auch der Umstand hin, daß gewisse Farbenreaktionen, welche derartige Eiweißstoffe unter allen Umständen geben, beim Protoplasma durchaus nicht immer Erfolg haben. Zacharias macht in dieser Beziehung auf das Verhalten pflanzlichen Plasmas gegen eine seinerzeit von Hartig (Bot. Zeitung 1854) empfohlene Färbungsmethode aufmerksam. Bekanntlich bringt Ferrocyankalium in mit Essigsäure angesäuerten Eiweißlösungen einen weißen flockigen Niederschlag hervor. Mit Alkohol konnte Zacharias einen solchen aus Eiereiweiß erhaltenen Niederschlag soweit auswaschen, daß die Waschflüssigkeit mit Eisenchlorid sich nicht mehr bläute, wohl aber färbte sich nun der ausgewaschene Niederschlag intensiv blau. Man wird demnach in einer Zelle bei entsprechendem Verfahren dort Blaufärbung erhalten, wo sich Blutlaugensalz-Eiweißverbindungen gebildet haben. Bleibt die Färbung aus, so wird man annehmen dürfen, daß Eiweißkörper, welche mit Ferrocyankalium Niederschläge geben, in dem untersuchten Objekt nicht in nachweisbarer Menge enthalten sind. Die zu untersuchenden Objekte werden zu diesem Zweck in eine essigsaure Lösung von Ferrocyankalium gebracht, nach einstündigem Liegen in der Lösung mit Alkohol von 60 % ausgewaschen und schließlich in eine verdünnte Lösung von Eisenchlorid übertragen. Das Plasma älterer Pflanzenzellen bleibt bei diesem Verfahren farblos, während sich Stärkebildner, Chlorophyllkörner und Kerne blau färben. C. Sachs (Flora 1862, pag. 290 und 297) bediente sich der Biuretreaktion und konnte Violettfärbung nur in den Kotyledonen, dem Endosperm und dem Urmeristem der Knospen und Wurzelspitzen, sowie im Siebteil des Phloëms konstatieren. Bei der Streckung der Parenchymzellen verschwindet die Reaktion. Ob man berechtigt ist, hieraus den Schluß zu ziehen, „daß in den erwachsenen Zellen sowohl Protoplasma wie Zellsaft keinen Proteïnstoff vom Charakter der Albumine oder Globuline enthalten, sondern nur Plastin", dürfte bei dem sehr unbestimmten Charakter dieses Stoffes noch sehr fraglich sein. Daß wohl charakterisierte Globuline in Pflanzengeweben vorkommen, ist seit lange bekannt, freilich beziehen sich die betreffenden Beobachtungen mehr auf das Reserveeiweiß von Samen und Wurzeln, welches zwar Produkt, nicht aber integrierender Bestandteile des Plasmas ist und bekanntlich sehr oft in kristallinischer Form abgelagert wird. Indessen hat schon Hoppe-Seyler Globuline auch aus Knospen

und jungen Trieben gewonnen, wie er denn überhaupt der Ansicht war, daß Globuline und Vitelline Bestandteile jedes Plasmas sind. Das dürfte ja wohl auch zutreffen, wenn man an den „Zellsaft“ im obigen Sinne des Wortes denkt. Daß aber das Protoplasma selbst einfache Proteïne, wenn überhaupt, nur in ganz geringen Mengen enthält, darf schon auf Grund der Löslichkeitsverhältnisse in Wasser und Salzlösungen gefolgert werden. Nach Danilewsky sollte allerdings das anscheinend homogene Hyalinplasma lediglich aus verschiedenen Globulinen bestehen (Globulinprotoplasma), während die festeren Anteile des Zellkörpers, das sogenannte Stroma, aus P-haltigen Eiweißkörpern bestehen sollte. Es ist überhaupt bemerkenswert, daß in früherer Zeit die Ansicht durchaus herrschend war, das Protoplasma sei hauptsächlich aus Globulinen zusammengesetzt, nachdem es an Albuminen stets so arm gefunden wurde.

Hammarsten hat meines Wissens zuerst mit Nachdruck betont, daß die Hauptmasse der Proteïnsubstanzen des Plasmas nicht aus Eiweißstoffen im gewöhnlichen Sinne, sondern aus Eiweißverbindungen (Proteïden) besteht, welche Phosphor enthalten, während Albumine und Globuline wesentlich nur als Nährmittel und Reservestoffe dienen (Pflüger's Arch., Bd. XXXVI, pag. 449). Halliburton (Lehrb. d. physiol. u. pathol. Chem., pag. 273), welcher Leukozyten mikrochemisch untersuchte, konnte in denselben außer einem mit Serumalbumin vielleicht identischen Albuminkörper, zwei durch Koagulationstemperatur unterschiedene Globuline nachweisen. Den Hauptbestandteil des Plasmas scheint aber auch hier eine dem „Plastin“ ähnliche Eiweißverbindung zu bilden. Nach Halliburton handelt es sich um einen mucinähnlichen Körper, der in 5—10%iger NaCl- oder $MgSO_4$-Lösung aufquillt und sich beim Eingießen in Wasser in Fäden ausscheidet, die die sich bald zusammenziehen und an der Oberfläche flottieren. Beim Verbrennen bleibt eine P-reiche Asche und bei Behandlung mit Magensaft ein unlöslicher Rückstand vom Charakter der Nukleïne. Es ist selbstverständlich, daß bei einer makrochemischen Analyse von Leukozyten die „Kernstoffe“ eine sehr bedeutende, wenn nicht die ausschlaggebende Rolle spielen werden. Schüttelt man Leukozyten (oder auch feinzerhackte Thymusdrüse) mit Wasser, so geht ein Körper in Lösung, der die Hauptmasse des Leukozytenkernes ausmacht, das „Nukleohiston“ Lilienfeld's (Z. f. physiol. Chem., Bd. XVIII, pag. 473), welches aus dem Wasserextrakt durch Essigsäure gefüllt werden kann. Wie sehr dieses „Kerneiweiß“ überwiegt, ergibt sich sehr klar aus der Gesamtanalyse der aus der Thymusdrüse isolierten Leukozyten, die wir

Lilienfeld verdanken. Hier tritt die ungeheure Menge von Nukleohiston und die verschwindend kleine Menge der Eiweißkörper geradezu frappant hervor. Außerordentlich detaillierte Angaben über die mikrochemische Zusammensetzung von Plasma und Kern auf Grund farbenanalytischer Untersuchungen hat neuerdings Unna[1]) gemacht. Wenn man diese Arbeiten liest, so hönnte man glauben, es sei das, was eingangs als erstrebenswertes Ziel mikrochemischer Untersuchungsmethoden bezeichnet wurde, bereits im weitesten Umfange erreicht. So beschreibt er als Bestandteile von Amoebe limax nicht weniger als sechs verschiedene Eiweißkörper, „welche sich vermöge ihrer abweichenden Färbungs- und Lösungseigenschaften unterscheiden lassen und in verschiedenen Kombinationen die einzelnen Abschnitte des Amoebenleibes zusammensetzen". Bei aller Anerkennung des großen Wertes und auch der großen Erfolge der Anwendung basischer und saurer Farbstoffe für die Mikrochemie der Zelle, bin ich doch der Meinung, daß bei der gegenwärtigen Sachlage, wo noch immer in jedem einzelnen Falle genau festzustellen bleibt, inwieweit das färberische Ergebnis chemisch oder physikalisch bedingt ist, die größte Skepsis wohl am Platze ist. Jedenfalls bedarf es eingehender eigener Studien, ehe man zu Unna's Ergebnissen Stellung nehmen könnte.

Was nun meine eigenen vorliegenden Beobachtungen betrifft, so möchte ich sie für nichts Anderes angesehen wissen, als einen kleinen Beitrag zur Mikrochemie des Plasmas, wobei es mir nur darauf ankam, die wesentlichsten chemischen Eigenschaften des pflanzlichen Gesamtplasmas in einem möglichst einfachen Fall festzustellen, denn ich halte eine solche Vorarbeit für die unerläßliche Grundlage einer genaueren Analyse. Ich wählte schließlich als bestgeeignetes Objekt die nicht kutikularisierten, nur aus zwei Zellschichten bestehenden Blätter von Elodea-Arten (vor allem E. densa), die genügend durchsichtig sind, um ohne weiteres brauchbar zu sein, deren Plasma, abgesehen von den Chlorophyllkörnern, so gut wie ganz frei ist von plasmafremden Einschlüssen und daher an und für sich durchsichtig und hyalin erscheint. Die Zellen der Blattoberseite — ich will sie im folgenden einfach Oberzellen nennen — sind immer viel größer als die „Unterzellen". Die Elemente beider Schichten sind in der Längsrichtung des Blattes gestreckt und im allgemeinen rechteckig; sie enthalten mehr oder weniger zahlreiche runde flachscheibenförmige

1) Zur Chemie der Zelle. Berliner klin. Wochenschr. 1913 u. 14. Zur Chemie der Amöben. Zentralbl. f. Bakt. 1917, I. Abt., Bd. LXXX.

Chlorophyllkörner, welche normalerweise wandständig im Plasma eingebettet liegen und mit diesem bei der bekannten Rotationsbewegung langsam herumgeführt werden. Das ganze Innere des Plasmaschlauches, der nur eine verhältnismäßig dünne Wandschicht bildet, wird von Zellsaft ausgefüllt, der demnach den weitaus größten Teil des Zellinhaltes ausmacht und bisweilen, namentlich bei manchen Arten, in der Mittelrippe und in deren nächster Nachbarschaft purpurrot gefärbt erscheint. Da das Plasma, wie schon erwähnt, nicht wie etwa bei Nitella durch zahlreiche „Mikrosomen“ getrübt wird, so ist es in der lebenden Zelle als solches kaum zu erkennen und nur, wo die Chlorophyllkörner spärlicher sind, sieht man es gelegentlich als dünnen Wandbelag. Man wähle daher auch nach Möglichkeit Exemplare mit hellgrünen Blättern, da anderenfalls die Chlorophyllkörper fast alles verdecken. Unter allen Umständen erscheint es zweckmäßig, eine wenigstens teilweise Trennung des Plasmas von den Chlorophyllkörnern herbeizuführen. Dies läßt sich in einfachster und schonender Weise durch Plasmolyse erreichen.

Bringt man Elodeablätter in eine Kochsalzlösung von entsprechender Konzentration, so tritt bei der sich rasch entwickelnden Plasmolyse immer eine sehr regelmäßige Sonderung des Zellinhaltes ein, indem sich die Chlorophyllkörner in der Mitte der Zelle rings um den Kern zu einer kugeligen oder etwas länglichen Masse gruppieren, die auch einen großen Teil des zähflüssigen Wandplasmas enthält, welches die dicht zusammengedrängten Chlorophyllkörner allseitig umgibt (Fig. 1). Im Zentrum des ganzen Ballens erkennt man oft sehr deutlich den Kern mit seinem stark lichtbrechenden Kernkörperchen als hellen farblosen Fleck. Nur ganz vereinzelt ist das eine oder andere Chlorophyllkorn dieser „Agglutination“ entgangen und liegt dann außerhalb des zentralen Klumpens in dem umgebenden Zellsaft. Wenn man die Plasmolyse von Anfang an unter dem Mikroskop verfolgt, so sieht man, daß sich das farblose ganz homogene und durchsichtige Plasma, welches ursprünglich nur einen Wandbeleg bildet, in verzweigten anastomosierenden Fäden anordnet, welche nun das Innere der Vakuole (den Zellsaft) durchziehen, ähnlich wie etwa bei einer Tradescantiazelle; auch bemerkt man, wie hier, Strömungserscheinungen, durch welche die Chlorophyllkörner, sowie andere kleinere Körnchen, die sich etwa im Zellsaft finden, allmählich dem zentral gelegenen Kern zugeführt werden und sich um denselben gruppieren. Es würde sich wohl verlohnen,

Fig. 1. Unterzelle frisch plasmolysiert.

diese unter ganz anderen Bedingungen erfolgenden Strömungserscheinungen einer genaueren Analyse zu unterziehen.

Nach vollendeter Plasmolyse bietet eine solche Elodeazelle ein sehr charakteristisches Bild dar (Fig. 1). Der Zellsaft erfüllt dann einen eiförmigen Raum, in dessen Mitte der Chlorophyllballen liegt; die Wand der Vakuole wird offenbar von einer dünnen, durchsichtigen Plasmahaut gebildet, die sich von den beiden Enden der Zelle abgelöst hat und nur noch in den mittleren Partien der Cellulosemembran anliegt. Der noch übrige Raum ist von der eingedrungenen Salzlösung erfüllt. Wir haben es also zu tun mit einer großen, zentralen Zellsaftvakuole, die das sämtliche Chlorophyll nebst den zäheren Anteilen des ursprünglich wandständigen Plasmas umschließt, während der Rest desselben die „Vakuolenhaut" bildet. Der Inhalt der Vakuole erscheint ganz klar und durchsichtig oder man sieht in demselben kleine ziemlich stark lichtbrechende Körnchen oder Stäbchen, die Brown'sche Molekularbewegung erkennen lassen und oft ganz deutlich als Kriställchen charakterisiert sind. Sie finden sich namentlich in den Oberzellen oft in großer Menge und bilden dann, da sie sich infolge ihrer Schwere senken, eine Bodenschicht, die erst bei tiefer Einstellung an der der Unterseite des Blattes zugewendeten Fläche der Zellen sichtbar wird. Haben sie Stäbchenform, so machen sie oft täuschend den Eindruck von Bakterien. So stellt sich das Bild der plasmolysierten Zellen, das besonders zierlich bei solchen mit rotem Zellsaft erscheint, nach etwa 3—4 Stunden dar; läßt man die Einwirkung der Salzlösung länger dauern, so tritt meist wieder eine Lockerung der zentralen Chlorophyllkörnergruppe ein und zugleich ballen sich die Kriställchen zu einem Haufenwerk, welches nun in der Nachbarschaft des Zentralkörpers liegt; auch bilden sich vielfach im Zellsaft größere, stark lichtbrechende Kristalle, die, wenn sie gut entwickelt sind, die Form von Oktaëdern zeigen, sie sind einfach brechend und lösen sich wie die Nädelchen in HCl ohne Gasentwicklung. Am zahlreichsten und am schönsten entwickelt finden sich die großen Kristalle, wenn die Blätter tagelang in der plasmolysierenden NaCl-Lösung liegen bleiben, wobei die schön grüne Farbe des Chlorophylls völlig erhalten bleibt. Dann erkennt man in jeder der Oberzellen ein dichtes Haufenwerk kleiner Nädelchen und dazwischen gelagert oft prachtvoll entwickelte

Fig. 2. Oberzelle plasmolysiert und dann in Glyzerin aufbewahrt. Kleine Kristallnadeln und Oktaëder von Kalziumoxalat.

Oktaëder von Kalkoxalat (Fig. 2). Daß es sich um solches handelt, geht vor allem aus dem Verhalten gegen H_2SO_4 hervor. Bringt man auf ein Blattstückchen einen Tropfen starker Schwefelsäure (1 : 1 Wasser), so entstehen sehr bald sowohl im Inneren der Zellen wie an deren Außenseite massenhaft Nadeln und Prismen von Gips.

Eine Bemerkung muß noch bezüglich der Stärkeeinschlüsse der Chlorophyllkörper gemacht werden. Es finden sich diese keineswegs gleichmäßig in allen Zellen eines Blattes verbreitet, auch sind sie der Größe nach sehr verschieden. Im allgemeinen nimmt der Stärkegehalt von der Basis nach der Spitze hin ab; an jener und in den Zellen der Mittelrippe finden sich die größten, in der Blattspitze die kleinsten Stärkekörner. Hier fehlen sie auch in ganz normalen, sattgrünen Blättern manchen Zellen gänzlich; in der Regel nimmt die Größe der Stärkeeinschlüsse — jedes Chlorophyllkorn enthält gewöhnlich nur ein Stärkekörnchen — auch von der Mittelrippe nach dem Außenrande des Blattes hin ab.

Wenn man plasmolysierte Elodeablätter kurze Zeit kocht, so findet man nachher, daß die Vakuole ihre regelmäßige Eiform verloren hat und nun den Zellraum wieder fast ganz ausfüllt, neben den Kriställchen hat sich ein ziemlich reichliches, teils feinkörniges, teils fädiges Gerinnsel abgeschieden zum Beweis, daß der Zellsaft gelöstes Eiweiß enthielt, welches beim Erhitzen koaguliert. Besser gelingt es, das Bild der plasmolysierten Zellen wenigstens angenähert zu fixieren, wenn man der Kochsalzlösung etwas Chromsäure zusetzt. Auch dann kommt es zur Bildung eines körnigfädigen Niederschlages im Zellsaft, es bleibt aber die Form des zentralen Chlorophyllballens unverändert, nur nehmen die einzelnen Körner allmählich eine bräunliche Farbe an; die Vakuolenwand erscheint nicht mehr glatt begrenzt, sondern unregelmäßig wellig, wie geschrumpft, so daß nun beiderseits von dem Ballen ein gelblich gefärbter, mehr oder weniger gefalteter röhriger Fortsatz nach den Polen der Zelle verläuft, ohne dieselben ganz zu erreichen (Fig. 3). Bei den großen Zellen der Oberseite kommt es nicht selten vor, daß der Chlorophyllballen nach dem einen oder anderen Ende der Zelle verschoben liegt, dann bildet der Rest des Plasmas (die Vakuolenhaut) natürlich eine nur einseitig gerichtete Verlängerung desselben.

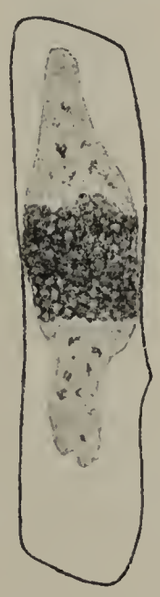
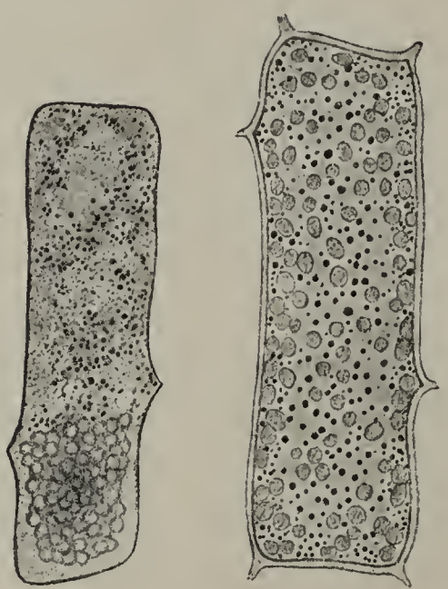


Fig. 3. Unterzelle plasmolysiert, mit verdünnter Chromsäure behandelt.

Sehr bemerkenswerte Resultate liefert die Behandlung mit Alkohol. Bringt man ein Elodeablatt, welches 3—4 Stunden plasmolysiert wurde, direkt in absoluten Alkohol, so bleibt es zunächst grün, ja die Farbe erscheint sogar noch wesentlich gesättigter, indem, wie die mikroskopische Untersuchung zeigt, der Clorophyllfarbstoff sich sehr bald von den Körnern trennt und nun den ganzen Zellinhalt als intensiv grüne Lösung erfüllt; erst nach vielen Stunden diffundiert der Farbstoff ganz allmählich in den umgebenden Alkohol. Zu gleicher Zeit treten nun im Zellsaft sowohl wie in der außerhalb der Vakuole befindlichen Flüssigkeit in großer Zahl rundliche oder unregelmäßig gestaltete, stark lichtbrechende farblose oder blaßgrünliche Körperchen auf, die den durch Chromsäure ausgefällten Körnchen sehr ähnlich sehen, mit diesen aber keineswegs identisch sind. Läßt man zu einem solchen Präparat vom Rande her vorsichtig Wasser zutreten, so lösen sich jene Körperchen sofort auf, wobei aus den größeren zwei bis drei grünlich gefärbte Tröpfchen entstehen, die meist durch eine blaßgrünliche Substanz als Rest des ursprünglichen Körnchens mitein ander verklebt bleiben; man findet daher dann die Tröpfchen allenthalben eingebettet in solche blaßgrüne Flöckchen, die in kleineren und größeren Gruppen das ganze Innere einer solchen Zelle durchsetzen und so den Eindruck eines flockigen Niederschlages machen (Fig. 4*a*). Der Farbenton des Blattes wird dabei schmutziggrün und blaßt nach einiger Zeit ganz ab. Bringt man ein solcher Art vorbehandeltes Präparat in 1%ige Osmiumsäure, so bleiben die Tröpfchen vollkommen erhalten, färben sich aber tiefschwarz wie Fett. Nach entsprechender Aufhellung in Glyzerin sieht man, daß die Tröpfchen auch den zentralen Chlorophyllballen durchsetzen. Behandelt man frische, nicht plasmolysierte Blätter direkt mit Alkohol, so kommt es nicht zur Ausfällung jener stark lichtbrechenden Körperchen und daher auch nicht zur Bildung der Tröpfchen bei nachfolgendem Wasserzusatz. Man kann also wohl annehmen, daß durch die Kochsalzlösung aus den Clorophyllkörnern



a *b*

Fig. 4. *a* Oberzelle plasmolysiert, dann absol. Alkohol; bei Wasserzusatz entstehen kleinste Tröpfchen, die sich mit Osmium schwärzen. *b* Oberzelle (nicht plasmolysiert) von einem frisch in Alkohol gelegten Blatt. Ausscheidung von mit Osmium geschwärzten Tröpfchen, zwischen den entfärbten Chloroplasten bei Verdunstung des Alkohols.

oder aus dem Plasma oder aus beiden eine Substanz herausgelöst wird, die wie ein Eiweißkörper durch Alkohol gefällt wird und der Chlorophyllfarbstoff anhaftet. Durch Wasser tritt eine Spaltung ein, wobei sich grünliche Tröpfchen ausscheiden, die sich mit Osmium schwärzen, während eine zartflockige Masse zurückbleibt. Bringt man ein frisches, nicht plasmolysiertes Blatt in absoluten Alkohol und läßt, sobald der Zellinhalt tiefgrün gefärbt ist, unter dem Deckglas bei niederer Temperatur langsam eintrocknen, so sieht man zunächst zwischen den entfärbten Chlorophyllkörnern äußerst kleine Tröpfchen auftreten, dann entstehen ziemlich plötzlich und gleichzeitig in allen Zellen größere Tröpfchen von deutlich grüner Farbe, die in größter Regelmäßigkeit zwischen den Chlorophyllkörnern angeordnet liegen. Wird das Präparat dann rasch in 1%ige Osmiumsäure gebracht, so färben sich die Tropfen alsbald tiefschwarz (Fig. 4 *b*).

Beobachtet man die Wirkung des Alkohols auf plasmolysierte Elodeablätter direkt unter dem Mikroskop, so gelingt es sehr oft, das Austreten intensiv grüner Tropfen am Rande und an der Oberfläche der Ballen zu sehen, bevor noch die letzteren ihren Farbstoff an die umgebende Flüssigkeit abgegeben haben. Die Substanz dieser Tropfen ist sehr zähflüssig oder weich, denn man sieht sie oft durch einen Fortsatz an den Ballen geheftet. Sehr interessante Bilder erhält man, wenn man die Blätter nach etwa vierstündiger Plasmolyse in Alkohol überträgt und bevor noch der Farbstoff ganz gelöst ist (etwa nach $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde) Glyzerin zusetzt. Nach einiger Zeit entstehen dann in allen Zellen grüne Tropfen, deren Farbe von einem ganz blassen Gelbgrün bis zu einem tief gesättigten, dunklen Blaugrün wechselt. Während in den meisten Fällen zahlreiche kleine Tropfen auftreten, die dann den Innenraum der Zelle außerhalb des Ballens dicht erfüllen, entstehen bisweilen nur einige wenige, dafür aber um so größere, sehr intensiv gefärbte und stark lichtbrechende Tropfen (Fig. 5), die, wenn der zentrale Ballen entfärbt ist, offenbar die gesamte Menge des vorhandenen Chlorophyllfarbstoffes ein-

Fig. 5. Unterzellen plasmolysiert; Alkohol, dann Glyzerin. Ausscheidung grüner Tropfen, die bei längerer Aufbewahrung sich in eine gelbe (äußere) und eine grüne (innere) Masse sondern. *a* Solche Tropfen länger mit Alkohol extrahiert.

schließen. Die oben erwähnten stark lichtbrechenden Körperchen, welche in der Regel erst dann auftreten, wenn der Farbstoff vollständig in die Zellflüssigkeit übergetreten ist, sind bei dem Glyzerinzusatz oft noch gar nicht vorhanden und stehen daher in keiner direkten Beziehung zu der beschriebenen Tropfenbildung. Man erhält vielmehr den Eindruck, als ob durch das Glyzerin der gelöste Farbstoff gewissermaßen in Tropfen ausgefällt würde (tropfige Entmischung). Besonderz wichtig erscheint mir der Umstand, daß man in diesem Falle ganz zweifellos die Zusammensetzung der Tropfen aus mindestens drei verschiedenen Substanzen feststellen kann. Wenn sich auch solche Präparate in Glyzerin bisweilen mehrere Tage unverändert erhalten und namentlich die ganz großen Tropfen sich als sehr widerstandsfähig erweisen, so machen sich doch meist sehr bald auffallende Veränderungen geltend, deren Eintreten man beschleunigen kann, wenn man die Präparate für kurze Zeit in Alkohol zurückbringt. Während die Tropfen mehr und mehr erblassen und einen gelbgrünlichen Farbenton annehmen, entsteht im Zentrum ein kleines dunkelgrün gefärbtes Tröpfchen, welches schließlich braun oder fast schwarz wird. An den großen Tropfen kann man bei Alkoholzusatz den Vorgang Schritt für Schritt unter dem Mikroskop verfolgen. Sobald der Alkohol zu wirken beginnt, erfolgt nicht etwa eine Lösung des grünen Farbstoffes, wie man auf Grund des Verhaltens der Chlorophyllkörner unter ähnlichen Bedingungen wohl hätte erwarten können, sondern es macht sich vielmehr eine Konzentration der grünen Substanz in dem Sinne geltend, daß sie sich auf einen kleineren Raum inmitten des Tropfens zurückzieht. Auf diese Weise entsteht zunächst durch Entfärbung der peripheren Zone ein hellgelber schmaler Hof, der in der Folge immer breiter wird. Gar nicht selten sieht man dann, wie derselbe seinen ursprünglichen runden Kontur verliert und wie ein zäher Teig von dem eingeschlossenen dunkelgrünen Tropfen förmlich abschmilzt, der nun auf der schwefelgelben, zerflossenen, unregelmäßig begrenzten Masse aufruht, ohne seine sphärische Form zu ändern. Sehr häufig liegt der eingeschlossene Tropfen exzentrisch, immer jedoch dunkelt er sehr stark nach und man kann an den großen Tropfen sehr deutlich sehen, daß dies hauptsächlich durch die Bildung einer dünnen, fast schwarzen Rindenschicht bedingt ist, unterhalb deren die dunkelblaugrüne Substanz zunächst unverändert bleibt; an den kleineren Tropfen kann man natürlich diese Einzelheiten des Vorganges nicht verfolgen und erhält nur den Eindruck, daß in dem entsprechenden Stadium ein kleines dunkles Körnchen inmitten eines größeren blaßgelben Tröpfchens liegt. Bei Behandlung mit Osmiumsäure zu einer Zeit, wo schon die

Sonderung der gelben und grünen Substanz stattgefunden hat, nimmt die letztere allein eine dunkle Färbung an, wobei sie sich in ihrer ganzen Masse körnig trübt; die hellgelbe Hüllsubstanz behält ihre ursprüngliche Farbe, wird aber durch Vakuolenbildung mehr oder weniger schaumig.

Wenn man ein Präparat mit möglichst großen grünen Tropfen länger mit Alkohol extrahiert, so gelingt es den grünen (blaugrünen) wie den gelben Farbstoff vollständig in Lösung zu bringen, ohne daß aber der Tropfen selbst verschwindet, es bleibt ein farbloses Stroma zurück, welches in der Hauptsache dem grünen Anteil entspricht, ob von der gelben Hüllsubstanz ebenfalls eine farblose Grundlage erhalten bleibt, ist sehr schwer zu sagen, da nach völliger Entfärbung das Lichtbrechungsvermögen so wenig von der Umgebung verschieden ist, daß man die Frage mit Sicherheit schwer entscheiden kann. Dagegen ist das Stroma des grünen Anteils stark lichtbrechend und besteht offenbar aus einer festen resp. festgewordenen Substanz, die oft noch einen grünlichen Schimmer zeigt und in der sich besonders an der Peripherie kleine dunkle Körner eingelagert finden (Fig. 5*a*).

Noch eines sehr eigentümlichen Befundes muß ich hier gedenken, einmal der Bildung dunkelvioletter Tropfen in denjenigen Zellen, deren Zellsaft (Vakuoleninhalt) purpurrot gefärbt ist, wenn man nach vorgängiger Plasmolyse mit Alkohol behandelt. Da an normalen Blättern fast nur die Zellen der Mittelrippe und deren nächster Umgebung gefärbten Zellsaft zeigen, so sieht man jene dunklen Tropfen, die mit Jod gefärbten Stärkekörnchen täuschend ähnlich sehen, an mit Alkohol behandelten und in diesem untersuchten Blättern, auch nur dort. In Glyzerin bleibt Form und Farbe dieser Tropfen unverändert erhalten. Ferner entstehen an den zentralen Chlorophyllballen plasmolysierter Blätter bei Alkoholbehandlung, wenn auch nicht in allen, so doch in sehr vielen Fällen schön ausgebildete Chlorophyllankristalle in Form von rotbraunen Tafeln oder Nadeln, die oft eine beträchtliche Größe erreichen und den Ballen an der Oberfläche aufsitzen. Da dieselben ziemlich allgemein als ein spezifisches, durch Säurewirkung erzeugtes Umsetzungsprodukt des Chlorophyllfarbstoffes angesehen werden, so verdient dieser Befund Erwähnung.

Wie die mitgeteilten Erfahrungen zeigen, wird nach vorausgegangener Plasmolyse den Chlorophyllkörnern von Elodea durch Behandlung mit Alkohol der Farbstoff nicht als solcher entzogen, sondern offenbar in Verbindung mit einer lipoiden Substanz, worauf es wohl beruht, daß die grüne Lösung auch bei nachherigem Einlegen in Wasser

sich nur äußerst langsam durch Austritt des grünen Pigmentes entfärbt. In Glyzerin erfolgt durch tropfige Entmischung eine anscheinend vollständige Ausscheidung jenes Substanzgemisches (Verbindung?) und zwar in nicht reversibler Form, denn jene grüne Tropfen sind in Alkohol nicht restlos wieder löslich.

Alle die geschilderten Erfahrungen brachten mich dazu, einmal den Rückstand einer einfachen alkoholischen Lösung von „Chlorophyll" mikroskopisch anzusehen. Ich verfügte über eine solche Lösung, die durch Einlegen der unter der Epidermis gelegenen grünen Gewebslage junger unreifer Bohnenschoten in Kochsalzlösung, Auswaschen der plasmolysierten Schnitte mit Wasser und darauffolgend Extraktion mit Alkohol gewonnen wurde und zunächst prachtvoll grün erschien. Im Laufe mehrerer Wochen war sie beim Stehen allmählich verblaßt und hatte eine grünlichgelbe Farbe angenommen. Beim Verdunsten im Uhrglas trübte sich die Lösung durch Ausscheidung ganz kleiner, stark lichtbrechender Tröpfchen und nachdem fast alle Flüssigkeit verdunstet war, blieben massenhaft größere Tropfen zurück, welche wie Öltropfen aussahen, aber einen komplizierten Bau zeigten. Jeder einzelne Tropfen war entweder allseitig oder nur auf einer Seite von einem hellen Hof umgeben und bot so ein sehr charakteristisches Aussehen. Bei Behandlung mit Osmium färbten sich die Tropfen graubraun bis schwarz, sie waren aber von vorneherein nicht ganz farblos, sondern zeigten einen freilich nur ganz schwachen grünlichen Schimmer. In Wasser waren die Tropfen unlöslich, flossen aber zu größeren Massen zusammen, die sehr charakteristische Myelinformen bildeten. Bei der makrochemischen Untersuchung erwies sich das „Fett" als sehr phosphorreich. Tropfen, welche den in den Zellen auftretenden im Aussehen und Verhalten durchaus entsprechen, erhielt ich dadurch, daß ich eine kleine Menge eines tiefgrünen alkoholischen Auszuges aus gekochtem Spinat auf einem Objektträger mit etwas Glyzerin vermischte und langsam verdunsten ließ.

Außerordentlich interessant ist die Wirkung des Chloralhydrates. Wenn man ein durch zwei Schnittflächen begrenztes frisches Blattstückchen in eine gesättigte Lösung bringt, so bemerkt man meist schon nach kurzer Zeit in der Nähe der Schnittränder die Bildung großer grüner Tropfen in den Zellen, die später auch inmitten des Blattstückes auftreten und durchaus den durch Glyzerinbehandlung entstandenen gleichen. In beiden Fällen (Alkohol- und Chloralbehandlung) erscheint der Zellinhalt durch eine aus den Chloroplasten herausgelöste Substanz, die aber zunächst in den Zellen verbleibt, gleichmäßig grün gefärbt.

Erst dann beginnt die Tropfenbildung als Folge einer Entmischung. Der Plasmaschlauch erscheint in der Regel etwas kontrahiert und von der Zellwand abgehoben.

Wenn man die erste Einwirkung des Chloralhydrats unter dem Mikroskop beobachtet, so sieht man, wie die Chlorophyllkörner verblassen und in dem Maße als sie sich entfärben eine eigentümlich fein punktiertes Aussehen gewinnen; mit der ausgetretenen grünen Substanz zusammen bilden sie eine durchsichtige Masse, in deren Innern man anfangs noch die Stärkeeinschlüsse sehr deutlich erkennt. Allmählich werden dann die Chloroplasten immer blasser und auch die Stärkekörnchen verlieren ihr starkes Lichtbrechungsvermögen, indem sie stark quellen. Sie platten sich dann gegenseitig ab und bilden so getrennt durch dünne Lamellen von Plasma und den Resten der Stromata der Chloroplasten ein zierliches Wabenwerk. Die hellen Wabenräume, die Vakuolen täuschend ähnlich sehen, sind nach Ausweis der Jodprobe mit gequollener Stärke ausgefüllt. Je nach der ursprünglichen Lage der Chlorophyllkörner entstehen so entweder inmitten der Zellen größere Ballen oder ein Wandbelag von zunächst diffus grüner Farbe. Ersterenfalls kann man oft sehr deutlich sehen, wie unter Entfärbung des Klumpens ein großer, grüner, ganz homogener Tropfen langsam hervorquillt, dessen Zähflüssigkeit sich durch seine Tränenform sofort verrät. Auch im Innern der Masse kann es zur Tropfenbildung kommen. In der Regel entstehen gleichzeitig an mehreren Orten zunächst kleine grüne Tröpfchen, die rasch heranwachsen und meist eine beträchtliche Größe erreichen (Fig. 6). Die Mehrzahl erscheint mehr gelblich grün, einige wenige blaugrün. Bisweilen füllt die ausgetretene zähe farbige Substanz, der man immerhin den von Pringsheim für ähnliche Tropfenbildungen gewählten Namen „Lipochlor“ geben kann, den Raum einer Zelle fast zu einem Drittel an, ohne sich zunächst zu Tropfen umzuformen. Bei längerer Einwirkung des Reagens verteilen sich die grünen Tropfen meist wieder im Zellinhalt, bilden sich aber, wenn man das Präparat in einem Schälchen mit Chloralhydratlösung aufbewahrt (nach mehreren Stunden), neuerdings doch zeigen sie dann nicht mehr das ursprüngliche schöne Grün, sondern erscheinen olivenfarbig. Mit Osmium färben sich diese Tropfen sofort dunkelbraun bis schwarz, außerdem erscheint aber auch der ganze übrige Zellinhalt durchsetzt von zahllosen, sehr

Fig. 6. Unterzellen. ¼ Tropfenbildung nach Einwirkung von Chloralhydrat.

kleinen schwarzen Tröpfchen. In den größeren Tropfen bilden sich bei Osmiumbehandlung oft farblose Vakuolen, so daß sie ein schaumiges Aussehen gewinnen. Werden solche Zellen mit verdünnter HCl (1:5 W) gekocht, so bilden sich massenhaft braunrote Tröpfchen von Chlorophyllan. Wenn man ein Präparat im Stadium der olivenfarbigen Tropfen in Äther bringt und einige Zeit stehen läßt, so verschwinden jene zunächst, bilden sich aber, wenn das Präparat ganz kurz mit Alkohol behandelt und dann in Glyzerin eingedeckt wird, fast sofort wieder; nur sammelt sich die wie vorher olivenfarbige Masse jetzt in wahren Riesentropfen an, die den größten Teil der Zelle oder sogar den ganzen Innenraum ausfüllen (Fig. 7), wodurch solche Präparate ein höchst charakteristisches Aussehen gewinnen. Mit der Größe der Tropfen ändert sich auch etwas die Intensität der Färbung, da ja annähernd gleiche Mengen des Farbstoffes auf verschieden große Massen eines an sich farblosen Substrates verteilt sind. Denn daß es sich um ein solches handelt, geht daraus hervor, daß man, wiewohl nur selten in einzelnen Zellen, auch farblose, sonst aber ganz gleiche Tropfen findet. Namentlich ist mir dies an einzelnen der eigenartigen „hyalinen Zellen“ aufgefallen, welche man fast immer zwischen den normalen eingestreut findet. Neben den gefärbten Tropfen erkennt man besonders in den großen Oberzellen meist sehr deutlich die zierlichen Stärkegitter, von denen schon die Rede war.

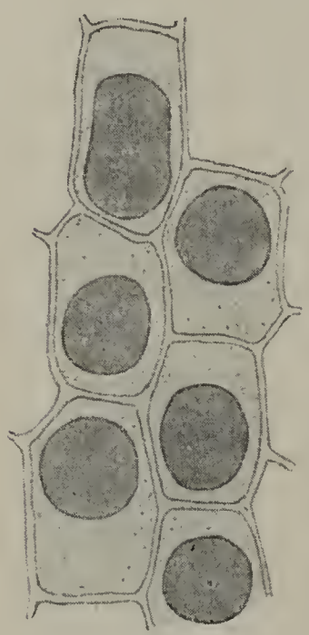


Fig. 7.

Bringt man ein solches Präparat in Wasser, so erleiden die Tropfen sehr auffallende Veränderungen, indem sie ruckweise, man möchte sagen „zuckend“, sich verkleinern und dabei entweder ihre Kugelform beibehalten oder, wenn sie der Wand anhaften, entsprechend abgeplattet erscheinen. Dabei dunkeln sie zusehends, um schließlich ganz undurchsichtig schwarz zu werden. Dieselben Veränderungen vollziehen sich, nur sehr viel langsamer, wenn ein solches Präparat in Glyzerin eingedeckt 2—3 Tage liegen bleibt. In beiden Fällen findet man einzelne Zellen, in welchen die Tropfenmasse nicht gleichförmig gedunkelt ist, sondern mit Beibehaltung der grünen Farbe bei genügender Durchsichtigkeit im Innern einen oder mehrere unregelmäßig gestaltete dunkle, offenbar feste Körper erkennen läßt (Fig. 8*a* und *b*), deren Umrisse man dann oft bei einiger Aufmerksamkeit auch in anderen scheinbar ganz homogen gedunkelten Tropfen zu erkennen vermag. Vielfach

läßt sich nun feststellen, daß die Schwärzung der Tropfenmasse durch sehr kleine, dicht beisammenliegende dunkle Körnchen verursacht wird, die zweifellos mit den größeren Körpern identisch sind und in der noch immer grünen, an sich durchsichtigen Grundsubstanz der Tropfen als feste Ausscheidungen eingeschlossen liegen (Fig. 8*c*). Dieser Vorgang, der an einem in Glyzerin eingeschlossenen Präparat ganz langsam verläuft und zu seiner Vollendung Tage beansprucht, vollzieht sich in Wasser innerhalb weniger Minuten und in 1%iger Osmiumsäure augenblicklich. Letzterenfalls kann man leicht der Täuschung verfallen aus der intensiven Schwärzung der Tropfenmasse auf die Anwesenheit von Fett oder einer fettähnlichen Substanz (Lecithin) zu schließen. Je kleiner die Tröpfchen sind, desto schwieriger wird im gegebenen Falle die Entscheidung sein. Wenn ich daher auch glaube, daß die Osmiumwirkung in allen bisher beschriebenen Fällen wenigstens zum Teil auf dem Vorhandensein eines lecithinartigen Lipoïds beruht und mich dabei hauptsächlich auf die Tatsache stütze, daß auch die farblosen, nach Verdunstung eines alkoholverblaßten Chlorophyllauszuges zurückbleibenden myeloïden Tropfen sich mit Osmium schwärzen oder wenigstens bräunen, so bin ich mir doch wohl bewußt, daß damit ein zwingender Beweis nicht gegeben ist, der sich nur auf makrochemischem Wege wird erbringen lassen.

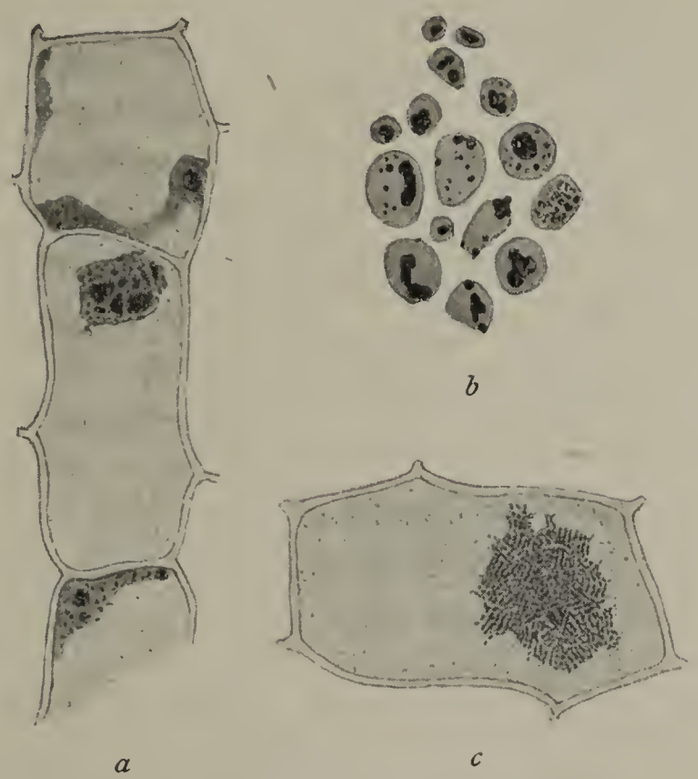


Fig. 8. *a* Oberzellen. Chlorhydrat, Äther, Alkohol, Glyzerin, Wasser. Die Tropfen erscheinen auseinandergeflossen mit dunklen Einschlüssen. *b* Eine ebenso behandelte Zelle mit äußerst feinen, dunklen Körnchen in der Masse des Tropfens. *c* Tropfen mit dunklen Einschlüssen aus ebenso behandelten Zellen.

Frägt man nun nach der Natur jener schwarzen geformten Niederschläge, so handelt es sich zweifellos nicht um Chlorophyllan im bisherigen Sinne, denn von diesem unterscheiden sich jene sowohl durch die Farbe wie auch durch die Form, welche letztere niemals deutlich kristallinisch ist. Nach dem ganzen chemischen Verhalten stimmen die olivgrünen Tropfen, sowie die in diesen durch Wasser oder Glyzerin

entstehenden schwarzen amorphen Niederschläge mit Willstätter's „Phäophytin“ überein. Er gibt folgende Charakteristik: „Phäophytin ist ein Wachs; es wird nicht in deutlich kristalliner Form erhalten, bildet aber baumähnliche kristallinische Gebilde. Es ist blauschwarz gefärbt, in Lösung olivenbraun und bei großer Schichtdicke in der Durchsicht rot. In heißem Alkohol ist es ziemlich schwer, in kaltem sehr schwer löslich; in Äther löst es sich träge, aber beträchtlich sehr leicht in Benzol, in Chloroform spielend, in Petroläther ist es fast unlöslich.“ Alles dies läßt sich auch mikrochemisch leicht feststellen. Setzt man zu einem Präparat, in welchem die Tropfen durch Wasserzusatz ganz schwarz geworden sind, zunächst Alkohol, dann Chloroform zu, so erfolgt sofort Lösung; man kann aber die Tropfen in ihrer ursprünglichen olivgrünen Farbe sofort wieder herstellen, wenn man nach dem Verdunsten des Chloroforms Glyzerin zusetzt. Das Phäophytin ist ein Produkt der Säurewirkung auf Chlorophyll oder auf die Phylline, die darin besteht, daß das komplex gebundene Magnesium quantitativ abgespalten wird, wobei die Farbe von Grün in Braun umschlägt. Da bei der angewendeten Darstellungsmethode keine Säure zugesetzt wurde, so kann die Spaltung nur durch den sauren Zellsaft verursacht sein. Schon die regelmäßige Anwesenheit von Kalkoxalat weist auf Oxalsäure hin, die ja auch Willstätter ursprünglich zur Gewinnung des Phäophytins benutzte. In der Tat reagiert der Zellinhalt stark sauer und enthält nachweislich freie Oxalsäure.

Während die Ausfällung von schwarzen Phäophytinkörnchen im Stadium der olivgrünen Tropfen bei Wasserzusatz verhältnismäßig langsam vor sich geht, geschieht dies fast momentan im Stadium der primären Tropfenbildung. Setzt man zu einem Präparat, welches schön ausgebildete große grüne Tropfen zeigt, Wasser, so entsteht in jenen sofort eine Fällung in Form kleinerer oder größerer ganz dunkler Körnchen, die offenbar den dunklen Zentralkörperchen entsprechen, welche sich in den durch Glyzerin an Alkoholpräparaten entstehenden Tropfen bei längerem Stehen immer ausbilden. Die Körnchen erfüllen entweder das Innere der Tropfen gleichmäßig oder lassen den Rand derselben teilweise frei; man erkennt dann, daß die grüne Färbung keineswegs verschwunden ist. Die meisten der Tropfen verlieren ihre sphärische Gestalt und ziehen sich mehr oder weniger in die Länge, so daß typische Myelinformen entstehen. Äußerst charakteristische Myelinformen entstehen oft an solchen Stellen, wo das Chloralhydrat rascher einwirkt, wie besonders in der Nähe der Schnittränder oder in direkt angeschnittenen Zellen. Dann kommt es nicht selten zu einer Verschmelzung der

Chloroplasten und zur Bildung einer zähflüssigen plastischen grünen Masse, in der sich vielfach farblose helle Tropfen ausbilden, wodurch solche Gebilde, abgesehen von der Farbe, völlig das Aussehen vorgequollenen Nervenmarkes gewinnen (Fig. 9). Teils sind es einzelne, von einer grünen Rindenschicht überzogene, stark lichtbrechende große Tropfen, teils unregelmäßig geformte, längliche oder verzweigte stumpflappige Körper.

Fig. 9.

Sehr bemerkenswert ist das Verhalten vergilbter Blattzellen bei gleicher Behandlung. Läßt man Elodeablätter in einer Glasdose mit ganz wenig Wasser 3—4 Wochen im Dunkeln stehen, so werden sie gelb und zeigen bei mikroskopischer Untersuchung intensiv gelbe sehr kleine Chloroplasten, deren Durchmesser kaum ein Viertel des normalen beträgt. Stärkeeinschlüsse fehlen ganz. In gesättigter Lösung von Chloralhydrat zerfließen anscheinend die Chloroplasten zu einer rein gelb gefärbten, zähflüssigen Masse, die sich teils in Tropfen sammelt, teils der Wand anliegende größere, unregelmäßig geformte Anhäufungen bildet, die den Zellraum teilweise ausfüllen. Behandelt man solche Präparate zunächst mit Äther und deckt sie dann in Glyzerin ein, so bilden sich alsbald sehr große kanariengelbe Tropfen, den olivgrünen ganz ähnlich, die an frischen Blättern unter gleichen Umständen entstehen. Vielfach sammelt sich auch die gelbe Masse in den Zellen zu unregelmäßigen Klumpen von Amöbenform an. Ersetzt man dann das Glyzerin durch Wasser, so dunkeln die Tropfen und sonstigen gelben Körper sofort, indem in ihnen Niederschläge in Form kleiner schwarzer Körnchen entstehen. In den meisten größeren Tropfen findet auch hier eine Sonderung der Substanz statt, indem sich ein dunklerer, meist rotgelb gefärbter, scharf umschriebener, zentraler Kern bildet, der von der rein gelben, viel schwächer lichtbrechenden Tropfenmasse umhüllt wird, wie ein Nucleolus vom Zellkern. In den spärlichen Zellen, die noch einen Rest grünen Farbstoffes bewahrt haben, erscheint der „Nucleolus“ der gelben Tropfen schön blaugrün gefärbt und nicht selten seinerseits wieder von einem farblosen Hof umgeben.

Wenn man die Umwandlung der gelben Riesentropfen bei Wasserzusatz unter dem Mikroskop näher verfolgt, so ist die erste und auf-

fallendste Erscheinung eine sofortige sehr beträchtliche Verkleinerung der Tropfen, wobei die Farbe auch abgesehen von dem Auftreten kleiner schwarzbrauner Körnchen in ein ziemlich dunkles Rötlichgelb umschlägt. Nach einiger Zeit beginnt dann die Sonderung der Substanz, indem an der Oberfläche der Tropfen eine hellgelbe Masse in Gestalt kleiner Höcker und Tröpfchen austritt, die dann zusammenschmelzen und einen gelben Hof um einen kleinen sehr dunklen rotbraunen Zentralkörper bilden. Beim Übertragen solcher Präparate in Glyzerin lösen sich die dunklen Körnchen, die in den äußeren hellgelben Hof niemals übergehen, meist völlig auf und die Zentralkörper erscheinen dann bräunlichgelb gefärbt. Bringt man ein Präparat mit reingelben Riesentropfen aus Glyzerin direkt in 1%ige Osmiumsäure, so entstehen unter bedeutender Verkleinerung der Tropfen sofort massenhaft dunkle Körnchen in denselben, wobei aber auch die Grundsubstanz stark dunkelt und schließlich werden die Tropfen tiefschwarz. Da dies auch dann der Fall ist, wenn die Tropfen, wie es nicht selten vorkommt, so wenig gelben Farbstoff (Xanthophyll) enthalten, daß sie nahezu farblos erscheinen, so kann nicht bezweifelt werden, daß die Grundsubstanz sich auch unabhängig von der Niederschlagsbildung mit Osmium schwärzt. Mit konzentrierter Schwefelsäure färben sich die gelben Tropfen schön blau.

Alle diese Beobachtungen sprechen entschieden dafür, daß die Chloroplasten reich an einer lipoïden Substanz sind, mit der vereint der Farbstoff sowohl bei der Behandlung mit Chloralhydrat wie mit Alkohol austritt. Auch Willstätter (l. c. pag. 175) vertritt die Anschauung, daß „die Auflösung des Chlorophylls in den verschiedenen Fällen und seine Wiederabscheidung sich durch die lösende Wirkung der mit Alkohol sich vermischenden lipoïden Chloroplastenbestandteile erklärt". Es scheint daher, daß ebenso, wie es chemische Beziehungen zwischen Blattgrün und rotem Blutfarbstoff gibt, auch Analogien in der Zusammensetzung der Stromata der roten Blutkörperchen und der Chloroplasten existieren, die sich hauptsächlich in dem reichen Gehalt an Lipoïden geltend machen.

Bekanntlich hat schon vor langen Jahren Pringsheim beobachtet, daß aus Chlorophyllkörpern unter gewissen Umständen „ölartige" grüngefärbte Tropfen austreten. Er setzte chlorophyllhaltige Zellen heißen Wasserdämpfen aus oder kochte direkt mit Wasser und bekam dann, wenn eine bestimmte, für verschiedene Gewebe verschieden hohe Temperatur innegehalten wird, stets eine Ausscheidung grüner, in Alkohol und Äther löslicher Tropfen, von denen er annahm, daß sie

nicht aus Chlorophyllfarbstoff allein bestehen, sondern, „wie schon der unmittelbare Augenschein lehrt“, aus einer öligen Grundlage, — dem Träger des Farbstoffes — der diesen selbst und die ihn sonst noch begleitenden Substanzen in Lösung hält und als „Lipochlor“ bezeichnet wurde. Ohne von den Untersuchungen Pringsheim's Kenntnis zu haben, fand ich bei anhaltendem (2—3stündigen) Kochen von plasmolysierten Elodeablättern in 2%iger Kochsalzlösung, deren Volum durch Wiederersatz des verdunsteten Wassers konstant erhalten wurde, in vielen, wenn auch nicht in allen Zellen eine Ausscheidung grüner Tropfen, welche durchaus der Beschreibung Pringsheim's entsprechen und in der Tat ganz den Eindruck gefärbter Fettropfen machten. Ich hatte solche Versuche hauptsächlich in der Absicht angestellt, durch Koagulation das Vorhandensein von genuinen Eiweißstoffen im Zellsaft nachzuweisen. Fig. 10*a* gibt ein gutes Bild von Lage und Anordnung dieser Tropfen, die von sehr verschiedener Größe, meist aber viel kleiner sind, als die früher beschriebenen, mit denen sie wohl wesensgleich sind. Ihre Form ist, wie auch Pringsheim angibt, nicht immer genau sphärisch, so daß man mehr den Eindruck erhält, als ob sie aus einer weichen, jedenfalls nicht dünnflüssigen Masse bestünden. Ihre Herkunft aus den Chlorophyllkörnern verrät sich, abgesehen von der meist prachtvoll blaugrünen Farbe, auch schon durch ihre Lagerung in der Umgebung und zum Teil auch im Inneren des zentralen Körnerballens. Daß in diesen Tropfen wirklich eine lipoïde Substanz enthalten ist, scheint aus ihrem Verhalten gegen Osmiumsäure hervorzugehen, durch die sie tiefschwarz gefärbt werden. Dagegen konnte ich mich nicht davon überzeugen, daß sie, wie Pringsheim angibt, sich in Alkohol und Äther schnell und restlos auflösen. Sie werden dann zwar entfärbt, bleiben aber in ihrer Form und anscheinend auch in ihrer Größe erhalten, haben aber nun die Fähigkeit, sich mit Osmium zu schwärzen, eingebüßt, desgleichen auch ihr starkes

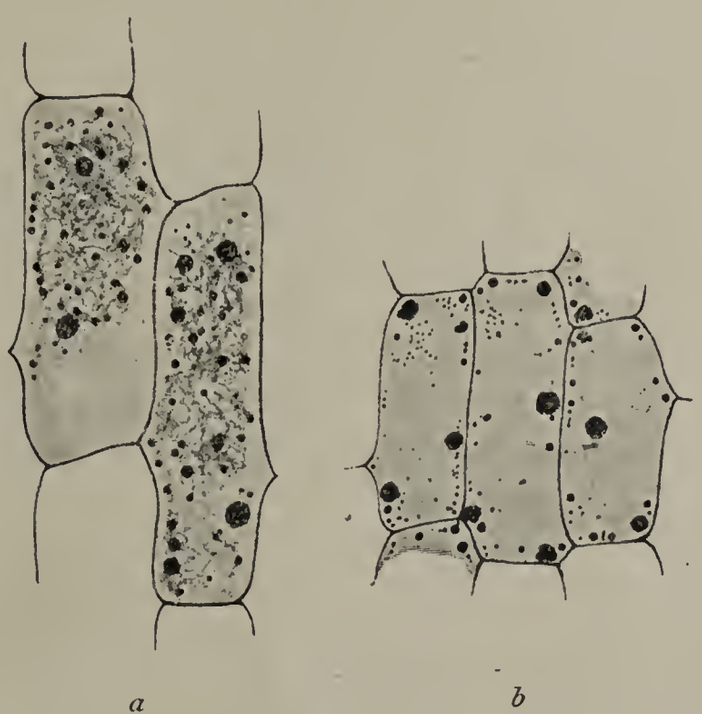


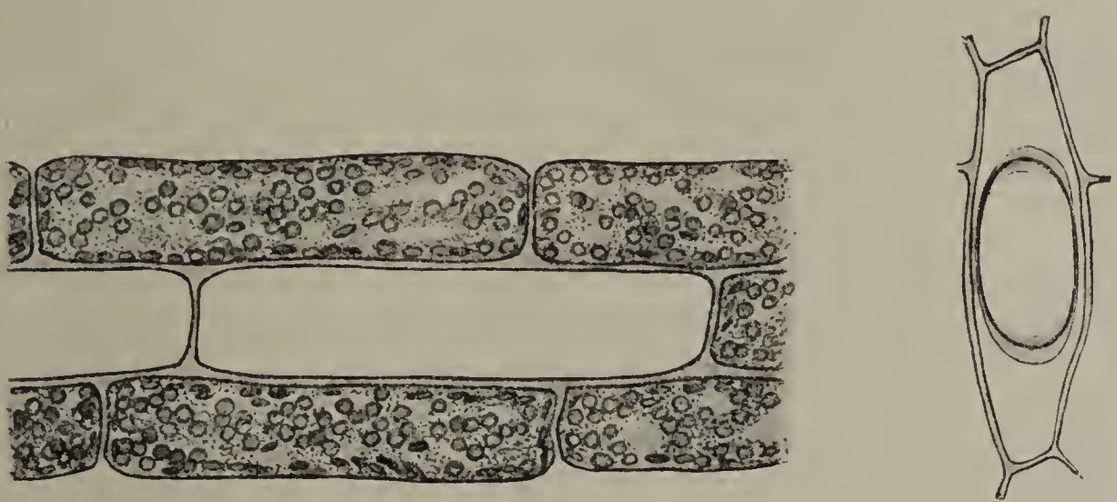
Fig. 10.

Lichtbrechungsvermögen. Jeder „Lipochlor"-Tropfen besteht aus einer in Alkohol und Äther unlöslichen Grundsubstanz, die vielleicht eiweißartiger Natur (Lipoproteïd?) ist und an der außer dem grünen Chlorophyllfarbstoff auch noch ein alkohollöslicher, fettähnlicher Körper haftet, der sich mit Osmium intensiv schwärzt.

Die Untersuchung eines vergilbten Exemplares einer kleinblätterigen Elodea, das aber noch lebte und sogar schwache Plasmaströmung zeigte, bot mir erwünschte Gelegenheit, die Tropfenbildung in einem Falle zu prüfen, wo Chlorophyllgrün überhaupt fehlte. Die vergilbten Blätter ließen sich sehr gut plasmolysieren, wobei sich aber entsprehend der geringen Zahl und Kleinheit der offenbar atrophischen, gelblich gefärbten Chlorophyllkörner in der Mitte jeder Zelle nur ein verhältnismäßig kleines Klümpchen aus Plasma und eingeschlossenen Körnern bildete. Nach etwa 2stündigem Kochen in Kochsalzlösung hafteten demselben fast in jeder Zelle kleinere und größere Tropfen von blaßgelber Farbe an, welche bei Behandlung mit Osmiumsäure tiefschwarz wurden, während die Masse des Ballens einen bräunlichen Farbenton annahm. Es fällt hier besonders auf, daß auch die einzelnen gelblichen Chlorophyllkörner durch Osmium deutlich gebräunt werden. Werden solche Blätter ohne vorhergehende Plasmolyse mit Kochsalzlösung gekocht, so sieht man bei darauffolgender Osmiumbehandlung, namentlich in den kleinen Unterzellen, fast jedes einzelne Chlorophyllkorn mit einem schwarzen Tröpfchen behaftet, welches offenbar aus jenem ausgetreten ist, während die großen Oberzellen förmlich umrahmt sind von größeren und kleineren randständigen Tropfen (Fig. 10*b*); außerdem sind aber auch noch solche enthalten, die einer Gruppe von Chlorophyllkörnern anhaften und so ihre Entstehung aus diesen ganz deutlich erkennen lassen. Viel besser geeignet sind Elodeablätter, welche in der oben angegebenen Weise durch wochenlanges Liegen vergilbt sind. Solche Blätter zeigen aber auch sonst ein sehr bemerkenswertes Verhalten. Bringt man solche nach vorhergehender Plasmolyse ohne Alkoholbehandlung sofort in 1%ige Osmiumsäure, so dunkeln sie sofort sehr stark und man sieht bei mikroskopischer Untersuchung, daß der flüssige Inhalt aller Zellen eine ähnliche, nur mehr bräunliche Purpurfarbe angenommen hat, wie sie in vereinzelten Zellen auch normal vorkommt; bei längerer Einwirkung tritt das Rot immer mehr zurück und es bleibt schließlich nur eine mehr oder weniger starke Bräunung zurück, die sich beim Aufbewahren der Präparate in Glyzerin meist noch erheblich vertieft. Aber nicht nur der

Zellsaft reagiert in dieser Weise mit Osmium, sondern auch das Plasma und die Chlorophyllkörner des zentralen Ballens färben sich bei längerer Einwirkung der Osmiumsäure dunkelbraun bis schwärzlich. Die Intensität dieser Färbung ist nicht in allen Zellen die gleiche, am dunkelsten erscheinen immer die stärkereichen Zellen der Mittelrippe und zwar sowohl der Zellsaft, wie der feste Inhalt, nach dem Außenrande zu blaßt die Färbung sehr deutlich ab.

Dieser Befund scheint darauf hinzudeuten, daß lipoïde Substanzen (Lecithin) nicht nur, wie schon Hoppe-Seyler zeigte, einen wesentlichen Bestandteil der Chlorophyllkörner



a *b*

Fig. 11.

bilden, sondern auch im Plasma der betreffenden Zellen und vielleicht gelegentlich sogar im Zellsaft enthalten sind. Da sich an normalen grünen Elodeablättern niemals ein ähnliches Dunkeln des Zellinhaltes in Osmiumsäure zeigt, muß man wohl schließen, daß bei dem Prozeß des Vergilbens sich mehr oder weniger tiefgreifende Veränderungen des gesamten Zellinhaltes vollziehen, durch welche die sonst „maskierten“ Lipoïde direkt reaktionsfähig gemacht werden.

Sehr weitgehende chemische Umwandlungen bleiben auf einzelne Zellen beschränkt und finden sich auch bei ganz normalen Blättern, namentlich an der Unterseite, wo gewisse Zellen durch ihr besonderes Aussehen sofort auffallen, indem an Stelle des normalen Zellinhaltes eine völlig farblose stark lichtbrechende Substanz getreten ist, welche den Zellraum entweder ganz ausfüllt (Fig. 11 *a*) oder, wie es regelmäßig bei plasmolysierten Blättern der Falt ist, in der Mitte einen eiförmigen Körper bildet, dessen kleinerer Durchmesser oft den Querdurchmesser der Zelle

übertrifft, so daß diese entsprechend aufgetrieben erscheint. Immer ist dieser Körper dann noch umgeben von einer Vakuole, die er aber im Gegensatz zu dem Plasma-Chlorophyllballen in normalen Zellen fast ganz ausfüllt, so daß nur ein schmaler Raum zwischen der Vakuolenhaut und der Oberfläche des Körpers bestehen bleibt (Fig. 11 *b*). Von Struktur ist in solchem Falle meist keine Spur zu bemerken. Doch lassen sich in anderen Fällen ganz zweifellos geformte Inhaltskörper erkennen, die nach Aussehen, Lage und Anordnung nicht wohl etwas anderes sein können als umgewandelte Chlorophyllkörner. Bisweilen erscheinen sie noch ganz deutlich als runde, ziemlich stark lichtbrechende und etwas grünlich gefärbte Körperchen, welche durch die ganze Masse gleichförmig zerstreut liegen (Fig. 12). Weiterhin scheint ihre Größe immer mehr abzunehmen und schließlich erscheinen sie nur als stark lichtbrechende Pünktchen von eigentümlichem Glanz.

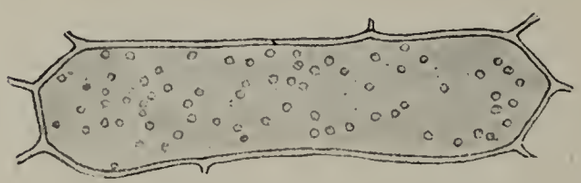


Fig. 12.

An mehreren Exemplaren von Elodea densa ist es mir gelungen, sozusagen die ganze Entwicklungsreihe in normalen chlorophyllhaltigen Zellen bis zu den völlig homogenen farblosen zu verfolgen, so daß ich trotz der ungeheuren Verschiedenheit nicht mehr daran zweifeln kann, daß die hyalinen Inhaltskörper durch eine ganz allmähliche Umwandlung des normalen Zellinhaltes entstanden sind. Leider ist es mir nicht gelungen über die Ursachen und das Wesen derselben ins klare zu kommen, da ich gezwungen war die vorliegenden Untersuchungen vorzeitig abzubrechen. Das mikrochemische Verhalten dieser Zellen ist sehr merkwürdig. Wenn man ein frisches Blatt einfach mit Jodjodkaliumlösung behandelt, so nehmen die fraglichen Inhaltskörper eine gelbrote, zum Teil wohl auch eine fast rein rote Farbe an und zwar bevor noch die Stärkeeinschlüsse der Chlorophyllkörner sich merklich färben. Da sich geformte Stärke in den hyalinen Zellen niemals nachweisen läßt, so liegt es nahe, an gelöste und aufgespaltene Stärke (Dextrine) zu denken, um so mehr als es mir einigemal gelungen ist, in denselben auch Zucker nachzuweisen. Bringt man plasmolysierte Blätter direkt aus der Salzlösung in Alkohol und untersucht man sie in diesem am nächsten Tage mikroskopisch, so findet man die hyalinen Zellen sämtlich verändert, aber keineswegs in ganz gleicher Weise. Während der Inhalt der einen aus einer feinkörnigen Masse besteht, sieht man in anderen blasse, schwach lichtbrechende, teils runde, teils unregelmäßig geformte tropfenartige Gebilde, während wieder andere eine große Menge stark lichtbrechender kleinerer

und größerer Tropfen enthalten, die Fettropfen zum Verwechseln gleichen (Fig. 13*a* und *b*). Endlich finden sich oft auch inmitten einer feinkörnigen trüben Masse Drusen von nadelförmigen Kriställchen, die entweder sphäsich gruppiert sind oder unregelmäßige Aggregate bilden, die der Zellwand meist seitlich anhaften. Sehr oft ragen nur die Spitzen der Kristallnadeln aus einer stark lichtbrechenden Masse hervor, die offenbar den untereinander verschmolzenen unteren Abschnitten der Nadeln entspricht. Alle diese Bildungen verschwinden sofort bei Zusatz von Wasser und etwas langsamer in Glyzerin, aber auch in Alkohol sind sie nicht unbegrenzt haltbar. Meist noch schöner entwickelt findet man in vielen der hellen Zellen ganz ähnliche Drusen nach längerer Einwirkung von Eisessig (Fig. 13*c*) und diese entsprechen durchaus der Abbildung, die A. Meyer[1]) auf Taf. I, Fig. 7 und 9 seiner Abhandlung von Chlorophyllankristallen gegeben hat. Nur sind sie natürlich ganz farblos.

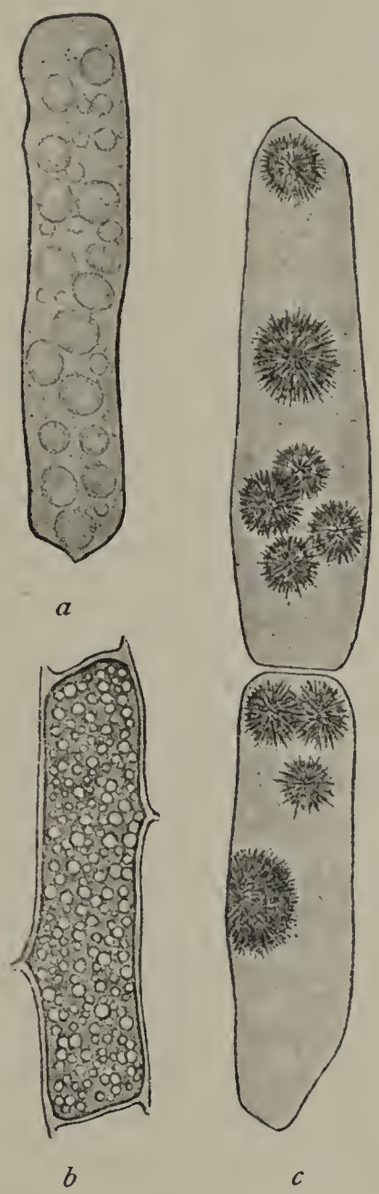


Fig. 13.

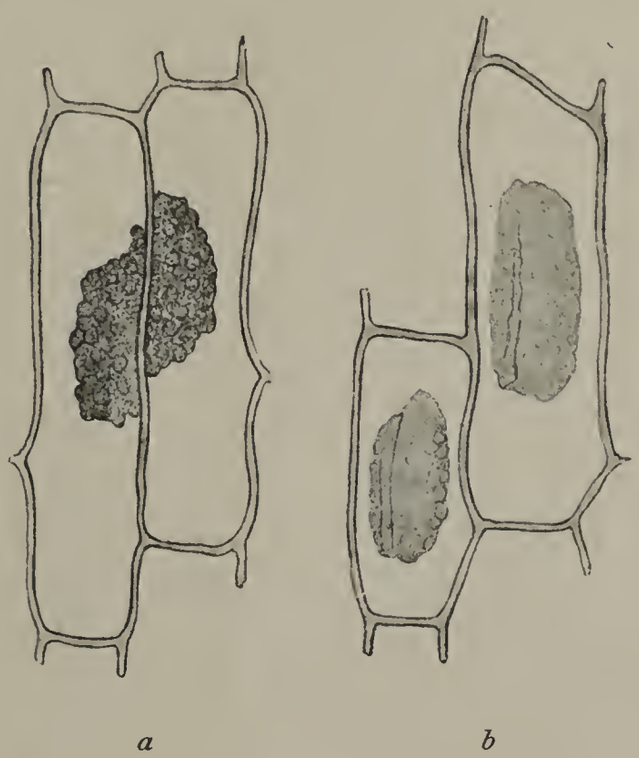
Auf Grund der mitgeteilten Beobachtungen darf es als sicher gelten, daß die Chloroplasten reichlich lipoïde Substanzen enthalten, welche offenbar zu dem Chlorophyllfarbstoff in naher Beziehung stehen. Schon Pringsheim hat den Chlorophyllkörnern eine bestimmte Struktur zugeschrieben, er nahm an, daß jedes Korn aus einem schwammförmigen Gerüst (Stroma) bestehe, welches im normalen Zustande von dem ölartig flüssigen Träger des Farbstoffes und von dem „Hypochlorin“ (das sich in der Folge als ein Derivat des Chlorophyllfarbstoffes erwies [Chlorophyllan]) durchtränkt sei. An geeigneten Objekten läßt sich, wie A. Meyer (l. c.) zeigte, schon an noch lebendigen Chlorophyllkörnern eine eigentümliche Struktur erkennen, „die den Eindruck macht, als seien in eine mehr oder weniger farblose Grundsubstanz und von dieser überall umschlossen, dunkelrgüne Körner oder Kugeln (‚Grana‘) eingelagert“. Da diese wenigstens in manchen Fällen in Wasser quellen, ohne daß sich der

1) Das Chlorophyllkorn. 1883.

Farbstoff löst, so würde nach A. Meyer zu folgern sein, „daß sie eine Grundlage besitzen müssen, welche aus der Gerüstsubstanz besteht und welche dann von Chlorophyll durchtränkt zu denken wäre“. Was nun die entfärbten Stromata selbst betrifft, so ist über ihre chemische Zusammensetzung bisher nur wenig bekannt geworden. Nach der herrschenden Auffassung hätte man dieselben als „Protoplasma“ aufzufassen und damit schienen auch die Reaktionen zu stimmen, welche nach Sachs den durch Alkohol entfärbten Gerüsten zukommen sollen. Er fand, daß sie durch Jod braun, durch HNO_3 und Kalilauge gelb gefärbt werden; $CuSO_4$ und KOH-Lauge soll sie violett färben; konzentrierte Kalilauge läßt die Form der Gerüste unverändert, bei nachherigem Wasserzusatz sollen sie aber zerstört werden. Nach A. Meyer dehnt Chlorallösung die Stromata etwa um die Hälfte ihres Volums, ohne daß ihre Struktur verloren geht, durch Wasserzusatz werden sie unter Kontraktion wieder deutlich erkennbar. Eisessig quellt wie Chloral; die so behandelten Autoplasten speichern, wie der Rest des übrigen Plasmas, kein Methylgrün, wenn man sie in eine wässerige Lösung desselben bringt, während der Zellkern sich noch färbt. Osmiumsäure hindert (nach 12stündiger Einwirkung) die Quellung durch Chloral nicht.

Nach meinen Erfahrungen verhalten sich die entfärbten Stromata der Chlorophyllkörner von Elodea nicht wesentlich verschieden vom umgebenden Plasma, wenigstens gilt dies hinsichtlich des Verhaltens gegen Säuren, Alkalien und Verdauungsfermente. Was nun das Plasma selbst betrifft, so war mir am meisten überraschend sein Verhalten gegen Alkohol, Äther und Chloroform, indem sich herausstellte, daß diese Substanzen bei längerer Einwirkung gewisse Stoffe herauslösen und so zu sehr auffallenden, mikroskopisch nachweisbaren Veränderungen der Präparate führen. Wenn man nicht zu chlorophyllreiche Elodeablätter nach etwa 4stündiger Plasmolyse nur kurze Zeit mit Alkohol behandelt, so daß der Farbstoff nicht ganz extrahiert ist, so bleibt die Form des zentralen Plasma-Chlorophyllballens meist gut erhalten, der dann nach Zusatz von Glyzerin prachtvoll grün gefärbt erscheint. Untersucht man zunächst die Zellen der vorderen Hälfte eines solchen Blattes (die sich wegen der kleineren oder ganz fehlenden Stärkeeinschlüsse als besonders geeignet erweisen) in Glyzerin, so fällt sofort auf, daß die Chlorophyllkörner nicht mehr oder nur ganz undeutlich als gesonderte Körper zu erkennen sind, sie erscheinen wie verklebt und eingehüllt durch eine sehr feinkörnige trübe Masse, die nichts anderes ist als Plasma, dessen ursprüngliche Durchsichtigkeit

offenbar durch Ausfällung eiweißartiger Substanzen wesentlich beeinträchtigt erscheint. An keiner Stelle sind die Chlorophyllkörper noch als gut begrenzte einzelne Scheibchen zu sehen, obschon sie als solche sicher erhalten sind. Denn bringt man ein frisches Elodeablatt ohne vorhergehende Plasmolyse sofort in Alkohol, so überzeugt man sich leicht, daß nach beliebig langer Einwirkung die Chlorophyllkörner weder in Form noch Größe merkliche Veränderungen erleiden. Oft verraten die Chlorophyllkörner ihre Anwesenheit im Ballen nur dadurch, daß sie das einhüllende Plasma hier und da etwas höckerig erscheinen lassen oder an Stellen, wo die Masse des Ballens dünner ist, infolge der stark lichtbrechenden Stärkeeinschlüsse bei einer gewissen Einstellung hell durchschimmern. In Zellen, deren Chlorophyllkörner stärkefrei sind, erhält man selbst nach nur kurzdauernder Alkoholbehandlung oft den Eindruck, als ob die ganze Chlorophyllplasmamasse aus einer homogenen feinkörnigen Substanz bestünde (Fig. 14*a*). Das beste Mittel, um sich über Lage und Anordnung der „agglutinierten" Chlorophyllkörner zu orientieren, liefert die Behandlung mit Jod. Dann färben sich alle, auch die kleinsten Stärkeeinschlüsse, dunkelviolett, während die umgebende Masse (Plasma + Stromata) gelb wird, der ganze zentrale Ballen erscheint daher in zierlicher Weise punktiert oder gefleckt, doch sind die Konturen der Stärkekörnchen infolge der trüben Hüllmasse stets unscharf und verwaschen. Sehr häufig ordnen sich bei der Plasmolyse die Chlorophyllkörner in Form einer nach oben (nach dem Beschauer zu) scheinbar offenen Halbrinne an, als wäre der ursprüngliche Hohlzylinder der Länge nach gespalten (Fig. 14*b*). Es erklärt sich dies aus der ursprünglichen Anordnung der Chlorophyllkörner, die zumeist den Seitenwänden der Zellen anliegen, die Oberfläche aber freilassen oder doch nur in geringerer Zahl bedecken. Bei der durch den Alkohol bewirkten Schrumpfung des durch die Plasmolyse entstandenen Ballens bilden sich dann in der Regel zwei dickere seitliche Wülste, die eine chlorophyllfreie Mittelzone begrenzen,



a *b*

Fig. 14.

innerhalb deren sich die Plasmahaut an der der Blattoberfläche zugekehrten Zellwand einstülpt.

Vergleicht man nun das Bild solcher nur kurz mit Alkohol behandelter, plasmolysierter Zellen mit solchen, die zunächst mit kochendem Alkohol und schließlich mit Chloroform extrahiert werden, so macht sich immer eine meist sehr deutliche Aufhellung der ganzen Chlorophyllplasmamasse bemerkbar (Fig. 14 *b*). Da es keinem Zweifel unterworfen ist, daß weder die Stärkeeinschlüsse der Chlorophyllkörner noch deren entfärbte Gerüste durch Behandlung mit Alkohol und Chloroform irgendwelche sichtbare Veränderungen erleiden, so muß das so auffallend veränderte Bild, welches plasmolysierte Zellen unter gleichen Umständen darbietet, wohl im wesentlichen auf das Zellplasma bezogen werden. Auf eine teilweise Lösung desselben weist auch oft das eigentümlich zerrissene, wie angenagte Aussehen des in nicht extrahierten Zellen in der Regel mehr kompakten und geschlossenen zentralen Ballens hin, welches offenbar durch Korrosionswirkungen seitens des Lösungsmittels erzeugt wurde. Dafür spricht auch die veränderte Färbbarkeit derartiger Präparate. Schon bei Behandlung mit Jodjodkaliumglyzerin erscheinen nicht extrahierte Blätter immer merklich dunkler und die zentralen Plasmaballen haben einen mehr bräunlichen Farbenton angenommen, während sie nach Alkoholchloroformbehandlung viel blasser gelb erscheinen. Gerade umgekehrt verhält es sich bei Färbung mit Methylenblau, welches aus sehr verdünnten Lösungen von den mit Chloroform extrahierten Zellen wesentlich rascher und stärker gespeichert wird. Hinsichtlich der Frage nach der Natur der in Lösung gehenden Stoffe wäre wohl am ehesten an Lipoproteïde (Lecithalbumine?) oder an Lecithin selbst zu denken.

Auch das Verhalten gegen Alkalien, Säuren und Verdauungsfermente scheint auf eine höchst eigenartige Zusammensetzung des Plasmas im vorliegenden Falle hinzuweisen. Legt man ein Blatt, welches in der beschriebenen Weise plasmolysiert und dann mit Alkohol entfärbt wurde, für 12—24 Stunden in konzentrierte Kalilauge, so erscheint dasselbe dann glashell durchsichtig und man erkennt bei mikroskopischer Untersuchung in der Lauge selbst zunächst keine Spur geformter Inhaltsbestandteile im Innern der Zellen. Nach sorgfältigem Auswaschen mit Wasser jedoch bemerkt man bei günstiger Beleuchtung kleine stärker lichtbrechende Körperchen an der Stelle, wo vorher die geballten Chlorophyllkörner lagen. Entwässert man nun mit Alkohol und setzt vorsichtig Jodglyzerin zu, so färbt sich das Präparat sofort dunkel und man erkennt dann genau in der

Ausdehnung des ursprünglichen Ballens dunkelviolette oder rotbraune Körperchen, die oft sehr deutlich die Form kleiner Kreuzchen zeigen und offenbar Reste der Stärkeeinschlüsse der Chlorophyllkörner darstellen (Fig. 15). Beobachtet man die Einwirkung der Lauge direkt unter dem Mikroskop, so sieht man an Zellen, welche Chlorophyll mit Stärkeeinschlüssen enthalten, daß die letzteren sofort stark aufquellen, wodurch die Stromata, sofern sie nicht platzen, stark ausgedehnt werden. Die benachbarten Körner platten sich dann bei der Berührung gegeneinander ab und es entsteht so ein zierliches Maschennetz, welches einem kleinzelligen Parenchym nicht unähnlich sieht. In der Folge werden dann bei längerer Einwirkung sowohl die gequollenen Stärkeeinschlüsse, wie auch die Stromata anscheinend gelöst bis auf jene sich mit Jod färbenden Reste, welche der Lauge gegenüber völlig widerstandsfähig sind. Vom Plasma ist an einem solchen lange mit Wasser ausgewaschenen Präparat keine Spur zu sehen, fügt man aber dann verdünnte Essigsäure zu, so entsteht in jeder Zelle, und zwar den ganzen Raum derselben erfüllend, ein dichter, sehr feinkörniger Niederschlag (Alkalialbuminat?), in welchem jene Stärkereste eingebettet liegen (Fig. 15). In Zellen, welche reichlicher Stärke enthalten, beobachtet man nach Jodzusatz auch eine diffuse grauviolette Färbung, die an den feinkörnigen Niederschlag im Zellinnern gebunden zu sein scheint und offenbar auf dem Vorhandensein gelöster Stärke beruht. Die Entstehung der erwähnten zierlichen Gitter läßt sich am besten an Zellen beobachten, deren Chlorophyllkörner größere Stärkeeinschlüsse besitzen, da in diesem Falle durch Quellung der letzteren ein grobes Netzwerk gebildet wird, dessen Wände aus stark lichtbrechender Substanz bestehen, die wohl in der Hauptsache auf die Stromata der Chlorophyllkörner, andereseits aber auch auf das einhüllende Plasma zu beziehen sein dürfte. Wenn diese Gitter bei längerer Einwirkung der Lauge zu verblassen beginnen, kann man sie jederzeit durch Zusatz verdünnter Essigsäure wieder deutlich machen. Sehr interessanten Aufschluß geben solche Präparate, wenn sie zunächst mit starker Salzsäure (1:3) etwa $^1/_2$ Stunde lang gekocht und dann nach Auswaschen mit Wasser mit Jodglyzerin gefärbt werden Es zeigt sich dann, daß keine Spur von Stärke mehr vorhanden ist

Fig. 15.

dagegen bleiben nicht nur die die Grenzen des früheren zentralen Plasmachlorophyllballens markierenden Gitter vollständig erhalten, sondern man erkennt nun auch, daß das Plasma selbst durchaus nicht, wie es an den nur mit verdünnter Essigsäure behandelten Präparat den Anschein hatte, vollständig durch die Kalilauge aufgelöst wurde, sondern offenbar nur stark gequollen war, sonst aber ganz unverändert erhalten bleibt. In jeder der kleinen Unterzellen sieht man nämlich dann, daß sich der zentrale durch das Gitterwerk umschriebene Ballen beiderseits in eine ganz feinkörnige Substanz fortsetzt, so daß ein den Zellraum nicht ganz ausfüllender, etwa rechteckiger Körper entsteht, der offenbar dem ursprünglich durch die Plasmolyse entstandenen zentralen Ballen und den darüber beiderseits herausragenden Enden der ovalen von der Plasmawandschicht umgrenzten Zellsaftvakuole entspricht (Fig. 16).

Fig. 16.

Es sind also trotz der langdauernden Einwirkung der konzentrierten Kalilauge und dem anfänglichen Anschein völliger Lösung aller geformten Inhaltsbestandteile der Zellen, diese, wenn man von der Lösung der Stärke absieht, sämtlich, wenigstens im morphologischen Sinne, noch erhalten und lassen sich durch geeignete Maßnahmen sichtbar machen.

Wenn man ein mit Kalilauge behandeltes, vorher plasmolysiertes und mit Alkohol entfärbtes Blatt nach gründlichem Auswaschen und Ausäuern mit verdünnter Essigsäure vorsichtig mit Jod behandelt, ohne vorher mit Alkohol zu entwässern, so färbt sich oft der ganze Zellinhalt gleichmäßig violett oder braunrot (Erythrodextrin). In solchen Fällen hebt sich dann das erwähnte Netzwerk farblos auf farbigem Grunde sehr deutlich ab, während die Netzmaschen farbig erscheinen. Wenn man aber vor dem Jodzusatz mit Alkohol entwässert, so wird das Gitterwerk undeutlich, dafür aber treten in dessen Bereich jene stark lichtbrechenden Körperchen auf, die innerhalb der Wabenräume gelegen sich mit Jod sehr dunkel färben. Ob und in welchem Maße sich die Zellen in toto färben, hängt in erster Linie von der Menge der in den Chlorophyllkörnern enthaltenen Stärke ab.

Auch selbst durch Kochen mit Kalilauge (auf dem Objektträger) wird der Zellinhalt nicht gelöst und die Befunde an solchen Präparaten sind im wesentlichen dieselben, wie sie eben geschildert wurden. Sehr interessante

Bilder erhält man, wenn man ein nicht zu stärkereiches Elodeablatt zunächst plasmolysiert, dann in der gewöhnlichen Weise mit Alkohol entfärbt, einmal mit Kalilauge am Objektträger aufkocht und dann noch 12 Stunden in kalter konzentrierter Kalilauge mazeriert. Nach Auswaschen mit Wasser scheinen die Zellen leer zu sein, setzt man aber verdünnte Essigsäure zu, so entsteht ein sehr feinkörniger Niederschlag, der das Zellinnere ganz auszufüllen scheint und nur ganz undeutliche Andeutungen der beschriebenen Gitter erkennen läßt. Kocht man nun, um zu entstärken, ¼ Stunde mit Salzsäure (1:4) und wäscht dann mit Wasser aus, so sieht man die großen Oberzellen durchzogen von einem zarten Plasmanetzwerk, welches von zahlreichen kleinen Körnchen und Tröpfchen durchsetzt ist und runde, helle und farblose Räume umschließt, welche in ihrer Anordnung durchaus der der ehemaligen Chlorophyllkörner entsprechen und offenbar die etwas gequollenen entfärbten Stromata sind, welche das Eosin nicht aufnehmen und in den Maschen des roten Plasmanetzes liegen. In den kleinen Unterzellen tritt dies in der Anordnung der hellen Flecken noch wesentlich deutlicher hervor, zumal hier der Zellraum mehr gleichmäßig von der feinkörnigen Substanz ausgefüllt wird, welche dem teilweise durch die Kalilauge gequollenen und durch die Säure wieder gefällten Plasma entspricht, von dem sicher die Hauptmasse in ihrer ursprünglichen Form und Anordnung erhalten geblieben ist.

Fig. 17. Oberzelle, plasmolysiert, Alkohol, mit konz. KOH-Lauge gekocht, dann noch 12 Stunden in Kalilauge mazeriert, Auswaschen mit Wasser, Ausfällen mit verdünnter Essigsäure, Kochen mit Salzsäure. Eosinfärbung.

F. J. Noll (Bot. Zentralbl. 1885, Bd. XXI, pag. 377) hat seiner Zeit Eau de Javelle als Aufhellungs- und Lösungsmittel für Plasma empfohlen und ich habe daher nicht versäumt, auch dieses sehr energisch wirkende Reagens anzuwenden. Nicht wenig war ich überrascht, daß fast sofort nach dem Eindecken eines Elodeablattes, welches plasmolysiert und dann durch langes Liegen in Alkohol fast völlig entfärbt war, braunrote Kristalle in sehr vielen Zellen anschießen, die nach Form und Gruppierung durchaus den Chlorophyllan entsprechen und jedenfalls mit den braunen Kristallen identisch sind, die nach Zusatz von Glyzerin zu plasmolysierten und dann mit Alkohol behandelten Blättern oft entstehen (Fig. 18*a*). Es ist bemerkenswert, daß die Bildung derselben in beiden Fällen nicht in jeder Zelle erfolgt, sondern immer

nur auf einzelne beschränkt bleibt. Immerhin findet man fast in jedem Gesichtsfeld einige solche.

Wenn man gleicherweise vorbehandelte Blätter nach langem Liegen in Alkohol zu dem Versuche verwendet, so daß keine Spur von grüner Färbung mehr erkennbar ist, so bleibt nach Zusatz von Eau de Javelle die Kristallbildung keineswegs aus, aber man kann den Vorgang nun leicht übersehen, denn die entstandenen Kriställchen sind zwar in Größe und Form den rotbraunen ganz gleich, aber völlig farblos und durchsichtig (Fig. 18*b*). Es scheint daher, daß der offenbar aus dem Chlorophyll stammende Farbstoff mit einer an sich farblosen kristallisierenden Grundsubstanz verbunden ist, die sich auch dann ausscheidet, wenn kein Chlorophyllgrün mehr vorhanden ist. Unter allen Umständen tritt bei Einwirkung des in Rede stehenden Reagens eine überraschend schnelle Lösung des Plasmas, sowie der Chlorophyllkörner ein und bleiben davon höchstens Spuren einer feinkörnigen Masse zurück. Anders verhält es sich mit den früher erwähnten stark lichtbrechenden Körperchen, welche in plasmolysierten Zellen bei Alkoholbehandlung auftreten und nach Wasserzusatz kleine, sich mit Osmium schwärzende Tröpfchen abspalten (vgl. Fig. 4*a*). Aus jenen Körperchen entstehen bei Zusatz von Eau de Javelle sofort farblose, sehr stark lichtbrechende Tröpfchen, welche das Zellinnere meist dicht erfüllen und dann nebst den Stärkeeinschlüssen der Chlorophyllkörner und eventuell jenen Kristallen die einzigen geformten Inhaltsbestandteile der Zellen bilden. Trotz ihrer auffallenden Ähnlichkeit mit Fett sind sie doch sicher keines, denn so haltbar sie in dem zugesetzten Reagens sind, verblassen sie doch sofort bei Wasserzusatz und werden, ohne sich etwa zu lösen, so schwach lichtbrechend, daß man sie nur schwer zu erkennen vermag. Behandelt man jetzt mit Osmium, so färben sich die Tropfen grauschwärzlich und verraten dadurch ihre fettähnliche (lipoïde) Natur. Nicht selten entstehen bei Wasserzusatz aus jenen Tropfen durch teilweises Zusammen- und Auseinanderfließen förmliche Netze und Schlieren ganz ähnlich, wie sie unter Umständen auch Fette beim Ausschmieren auf einer Glasplatte bilden. Mit Osmium färben

Fig. 18.

sich auch diese schwärzlich, was namentlich dann sehr auffallend wird, wenn bei Glyzerin oder Wasserzusatz jene Schlieren sich zu größeren Tropfen zusammenziehen, die nun fast schwarz erscheinen. Es liefern, wie mir scheint, diese Befunde, eine weitere Bestätigung für die oben ausgesprochene Ansicht, daß das, was durch Alkohol, sowie durch feuchte Wärme aus den Chlorophyllkörnern herausgelöst wird, eine sehr kompliziert zusammengesetzte Substanz ist, die außer Chlorophyllfarbstoff auch einen „lecithoïden" Körper, sowie wahrscheinlich eine Eiweißkomponente enthält (Lecithalbumin?).

Da durch Eau de Javelle wirklich eine fast restlose Lösung der Chloroplasten sowohl, wie des Plasmas bewirkt wird, so wäre es von großem Interesse, eine solche Lösung makrochemisch zu untersuchen, wozu mir aber bisher die Zeit fehlte. Bei der außerordentlichen Widerstandsfähigkeit, welche der Zellinhalt im gegebenen Falle selbst gegen stärkste Laugen und Mineralsäuren, auch sogar beim Kochen, zeigt, lag es nahe, sein Verhalten gegen Verdauungsfermente zu prüfen. Schon vor Jahren hatte ich beobachtet, daß der Verdauungssaft von Schmetterlingsraupen imstande ist, pflanzliches Plasma, sowie die eingeschlossenen Chlorophyllkörner restlos zu lösen, vorausgesetzt, daß der Zellinhalt bloßliegt. Dagegen erwies sich das gleiche, sehr wirksame (tryptische) Ferment als ganz unfähig durch die geschlossene Zellmembran hindurch den Inhalt zu beeinflussen. Gleich der erste Versuch, den ich mit frischen Elodeablättern und einem sehr kräftigen Pepsinpräparat anstellte, überzeugte mich, daß von einer verdauenden Wirkung an den geschlossenen Zellen auch bei noch so langer Dauer des Versuches gar nicht die Rede sein kann. Alle Veränderungen, die sich in solchem Falle geltend machen, sind nichts anderes als reine Säurewirkungen, die in ganz gleicher Weise eintreten, wenn man das Pepsin wegläßt. Ebensowenig war ich in der Lage, peptische Verdauungswirkungen an lange gekochten, sowie an plasmolysierten und dann mit Alkohol behandelten Blättern festzustellen. Benützt man frische, nicht weiter vorbereitete Blätter, so kommen, da ja vom Plasma so gut wie nichts zu sehen ist, nur die Chloroplasten in Betracht. Diese nehmen in Verdauungssalzsäure sehr bald eine gelbliche Farbe an und in der Regel kommt es auch zu mehr oder weniger reichlicher Bildung von Chlorophyllan, welches sich in bekannter Weise entweder deutlich kristallinisch oder in Gestalt von den einzelnen Körnern anhaftenden rotbraunen Tröpfchen ausscheidet (vgl. Molisch, Mikrochemie der Pflanze 1913, pag. 223). Im übrigen habe ich aber keinerlei sichtbare

Veränderungen der Chloroplasten feststellen können. Der Zellkern bleibt stets gut sichtbar und zeigt ein feinkörniges Aussehen.

Wie man sieht, liefern diese Befunde keine sichere Entscheidung darüber, ob der Zellinhalt von Pepsinsalzsäure überhaupt nicht angegriffen wird oder ob die Wirkung nur deswegen ausbleibt, weil das Ferment als kolloïdale Substanz gar nicht eindringt. Bei der prinzipiellen Bedeutung dieser Frage war ich bemüht, eine sichere Entscheidung herbeizuführen, um so mehr als die künstliche Pepsinverdauung bereits mehrfach in der Mikrochemie nicht nur tierischer, sondern auch pflanzlicher Gewebe Verwendung gefunden hat. Handelt es sich um membranlose nackte Plasmakörper, dann ist ein solches Verfahren natürlich ohne weiteres gerechtfertigt, nicht so aber bei Pflanzenzellen mit Zellulosemembranen. Hier hätte doch unter allen Umständen erst der Nachweis geführt werden müssen, daß die benützten Fermente auch wirklich eindringen. Von Botanikern hat namentlich Zacharias[1]) die Einwirkung der Verdauungsfermente auf den Zellkern und das Zytoplasma studiert. Seiner Ansicht nach besteht „die Hauptmasse der N-haltigen, in Alkohol unlöslichen Substanzen des Zellinhaltes aus Eiweißstoffen, Nuklein und Plastin". Das letztere soll in den erwachsenen Laubblättern einen wesentlichen Bestandteil des Plasmas, sowie auch der Chloroplasten und des Kernes bilden. Man sucht in den Abhandlungen von Zacharias vergeblich nach einer genaueren Begründung der Zulässigkeit der Verdauungsmethode in der von ihm gewählten Form. Er scheint es für selbstverständlich zu halten, daß das Ferment in die unverletzten Zellen eindringt und hier seine Wirkung entfaltet und auch andere sind ihm hierin gefolgt. Aus den Versuchsergebnissen von Zacharias geht dies nicht unmittelbar hervor. Die Veränderungen, die er an pflanzlichen Zellkernen als Folge künstlicher Verdauung mit Pepsin beobachtete, unterscheiden sich nicht erheblich von jenen, welche auch reine verdünnte Salzsäure (0,1 %) hervorbringt. Letzterenfalls „quillt der Nucleolus, während die Körperchen (d. h. das Chromatin) sehr scharf hervortreten" . . . . . „Unterwirft man Schnitte aus frischen Wurzeln (von Phajus grandifolius) der Verdauung in künstlichen Magensaft, so werden die Körperchen ungemein stark lichtbrechend und scharf konturiert, während Nucleoli und Zwischensubstanz ein etwas gequollenes, blasses Aussehen erhalten, was auch bei den unverdaulichen Teilen des Protoplasmas der Fall ist." Zacharias gibt weiter noch an, daß das Plastin sich dadurch mikro-

1) Ber. d. D. Bot. Gesellsch. 1883, Bd. XI.

chemisch von den Nukleïnen unterscheidet, daß es nach Behandlung mit Pepsinlösung in 10%iger Kochsalzlösung nicht verquillt. Es sind also im wesentlichen negative Merkmale, durch welche die fragliche Substanz charakterisiert erscheint und es mußte daher zunächst gezeigt werden, daß die Unverdaulichkeit des Plastins nicht etwa nur durch das Nichteindringen des Pepsins in die Zellen vorgetäuscht wird, sondern auch dann besteht, wenn der Zellinhalt freiliegt. Dies läßt sich nun in einfachster Weise zeigen, wenn man in kleine Stücke zerschnittene frische oder sonstwie vorbehandelte Blätter der Verdauung unterwirft. Bleiben dann auch angeschnittene und so eröffnete Zellen unversehrt, so ist der gewünschte Beweis geliefert. Zu solchen Versuchen eignen sich Elodeablätter ganz ausgezeichnet und liefern mit aller Sicherheit den Beweis, daß sowohl die Chlorophyllkörner wie auch das Plasma völlig unverdaulich sind. Von den ersteren behauptet Zacharias, daß sie in Magensaft lösliche Substanz enthalten; ich habe mich davon nicht überzeugen können. Zur Verwendung kamen bei meinen Versuchen nicht nur frische Blätter, sondern auch solche, die vorher plasmolysiert und dann mit Alkohol behandelt worden waren und es lieferten namentlich diese letzteren außerordentlich klare und übersichtliche Präparate. Gerne hätte ich noch nach Analogie meiner früheren Versuche mit Raupen völlig isolierten Zellinhalt nach Lösung der Zellulose mittels Schneckencytase geprüft, mußte dies aber bis zum Eintritt der wärmeren Jahreszeit verschieben. Doch gelang es den Zellinhalt in seiner Gesamtheit, wiewohl nicht unverändert, durch Behandlung mit Schwefelsäure frei zu machen und zu prüfen. Schon H. v. Mohl (Bot. Zeitg. 1844) machte auf die Widerstandsfähigkeit des „Primordialschlauches“ gegen Schwefelsäure aufmerksam und Zacharias erwähnt, daß „englische Schwefelsäure von dünnen Schnitten junger Blätter von Allium cepa die Zellwände vollkommen auflöst und die Primordialschläuche übrig läßt; dasselbe geschieht bei in Alkohol entfärbten Blättern“.

Bringt man zu einem Blattstück von Elodea konzentrierte H_2SO_4, so lösen sich unter den Augen des Beobachters nicht nur die Zellmembranen, sondern auch der Zellinhalt anscheinend vollständig auf. Einer solchen Behandlung mit nur wenig verdünnter Schwefelsäure (zwei Teile Säure, ein Teil Wasser) hat man sich in neuerer Zeit mit Vorteil zur Aufschließung sonst schwer zugänglichen Zellinhaltes bedient, so namentlich bei Bakterien. Sakae Tamura[1]) erhielt bei Zerreiben

1) Zur Chemie der Bakterien. Zeitschr. f. phys. Chem. 1914, Bd. LXXXIX, pag. 293.

entfetteter und getrockneter Diphtheriebazillen mit in dem angegebenen Verhältnis verdünnter H_2SO_4 vollständige Zerstörung des Bakterienleibes. Beim Verdünnen der schwefelsauren Lösung mit Wasser entstand eine Fällung, die im wesentlichen aus „Eiweiß“ bestand und fast alle bekannten Eiweißreaktionen gab. Die Masse war teilweise löslich in Wasser, verdünnter NaCl-Lösung, verdünnten Alkalien und konzentrierter H_2SO_4. Während also in diesem Falle wirkliche Lösung des Zellinhaltes erfolgt, gilt dies für Elodeazellen keineswegs und zwar weder im frischen noch im gehärteten Zustande. Behandelt man ein frisches Blatt auf dem Objektträger mit konzentrierter H_2SO_4, so verändert sich die Farbe sofort zu einem schönen Blaugrün und man bemerkt, daß Membranen und Zellinhalt stark aufquellen. Der letztere verwandelt sich bald in eine anscheinend ganz homogene Masse, welche den Zellraum aber nicht ganz ausfüllt und hier und da noch Andeutungen einer Struktur in Form von kleinen Körnchen oder Tröpfchen erkennen läßt, die offenbar den Chloroplasten entsprechen. Wenn die Säure längere Zeit eingewirkt hat, möchte man wohl glauben, daß nun wirklich der Zellinhalt gelöst ist, denn alles scheint zu einer gleichförmigen Masse zerflossen. Wäscht man solche Präparate aber sorgfältig mit Wasser aus, so findet man jeder Zelle entsprechend einen scharf konturierten, wurstförmigen, bräunlichgelb gefärbten Körper, der offenbar den größten Teil des stark geschrumpften Zellinhaltes darstellt und entweder ganz homogen erscheint oder eine schaumige (wabige) Struktur zeigt, die auch hier in der Hauptsache durch die Herauslösung der Stärkeeinschlüsse zustande kommt. Der Raum außerhalb des wurstförmigen Inhaltskörpers erscheint ausgefüllt von einer sehr zart granulierten, farblosen Substanz, die offenbar eine Fällung darstellt, welche durch den Wasserzusatz entstanden ist.

Nicht so heftig, aber im Ganzen ebenso, wirkt Schwefelsäure, die im Verhältnis von 2:1 mit Wasser verdünnt wurde. Außerordentlich zierliche und sehr instruktive Präparate erhält man, wenn plasmolysierte und mit Alkohol entfärbte Blätter längere Zeit (4—12 Stunden) mit solcher Schwefelsäure behandelt werden. Dabei wird eine große Menge von Zellen gesprengt und die Inhaltskörper liegen dann völlig frei, schwimmen in der umgebenen Flüssigkeit oder kleben der Oberfläche des Blattes an. Nach dem Auswaschen mit Wasser besitzt jeder solche Körper im optischen Längsschnitt etwa die Form eines je nach der Länge der Zelle mehr oder weniger gestreckten Rechteckes, dessen Seiten den

entsprechenden Grenzflächen der Zelle parallel laufen. In der Mitte des in Wirklichkeit etwa zylindrischen Körpers befindet sich entsprechend dem zentralen, durch die Plasmolyse entstandenen Plasmachlorophyllballens eine spindelförmige, meist etwas gelblich gefärbte Anschwellung, welche dicht nebeneinanderliegende, runde oder länglich-spaltförmige helle Lücken zeigt, so daß das Ganze oft täuschend an gewisse Radiolariengehäuse erinnert, zumal der Wulst aus einer ziemlich stark lichtbrechenden homogenen Grundsubstanz gebildet wird (Fig. 19*a* und *b*). Da diese scheinbaren Löcher nur dann zustande kommen, wenn die Chloroplasten Stärkeeinschlüsse besitzen und um so deutlicher werden, je größer diese letzteren sind, so kann es nicht zweifelhaft sein, daß sie durch Herauslösung derselben entstandene Lücken darstellen. Daß Stärke als solche nicht mehr vorhanden ist, läßt sich durch Jodzusatz leicht erweisen. Im übrigen sind die Chloroplasten als solche auch nicht andeutungsweise mehr zu erkennen, sie sind mit dem umgebenden Plasma unter dem Einfluß der Säure zu einer anscheinend ganz homogenen Masse zusammengeschweißt. Gleichwohl gelingt es durch nachträgliche Behandlung solcher Präparate mit konzentrierter Kalilauge dieselben als wohl voneinander getrennte Scheibchen mit bei gewisser Einstellung dunklerer Mitte und hellem Rande wieder ganz deutlich sichtbar zu machen (Fig. 19*c*). Die über die mittlere scheinbar gegitterte Anschwellung beiderseits hinausragenden Enden des ganzen Gebildes entsprechen selbstverständlich der Plasmaumhüllung der ursprünglichen, in der Längsrichtung der Zelle gestreckten, den Chlorophyllballen umschließenden Zellsaftvakuole. Sie erscheinen nach Schwefelsäurebehandlung immer fein granuliert, farblos und viel schwächer lichtbrechend als die Mitte, so daß das relativ starke Lichtbrechungsvermögen dieser wohl nur dem Stroma der Chloroplasten zuzuschreiben sein dürfte. Die eben gegebene Beschreibung bezieht sich in erster Linie auf die kleineren schmalen Unterzellen, bei den Oberzellen verhält sich alles

Fig. 19.

ebenso, nur sind natürlich die Formen entsprechend der bedeutenderen Größe viel plumper. Es muß noch erwähnt werden, daß in den mit H_2SO_4 behandelten Blattzellen sich sowohl die Chlorophyllkörner wie das Plasma sehr intensiv mit Methylenblau färben.

Hier bietet sich nun Gelegenheit, die Einwirkung der Pepsinsalzsäure auf völlig freiliegenden, wenn auch natürlich durch die Säure schon mehr oder weniger veränderten Zellinhalt zu prüfen und dabei zeigt sich nun wiederum, daß bei noch so lange fortgesetzter Verdauung keine Spur einer Veränderung an den isolierten Inhaltskörpern zu bemerken ist. Sie verhalten sich absolut widerstandsfähig. Wenn also etwas vom Inhalt der Zellen im gegebenen Falle bei Einwirkung von künstlichem Magensaft gelöst wird, so kann es sich nur um die geringen Eiweißmengen handeln, welche von vorneherein im Zellsaft gelöst vorkommen. Da man allen Grund hat anzunehmen, daß sich pflanzliches Plasma verschiedener Herkunft nicht prinzipiell verschieden verhalten wird, so ergibt sich in praktischer Hinsicht, daß Pflanzenzellen, gleichgültig ob roh oder gekocht oder sonstwie zubereitet, vom sauren Magensaft auch dann so gut wie gar nicht angegriffen werden, wenn sie vollkommen eröffnet sind. Nicht nur die Kerne sind in Pepsin-HCl unverdaulich, sondern ebenso auch die Chlorophyllkörner und wenigstens zum weitaus größten Teil das Plasma. Hält man demnach die Unverdaulichkeit in Pepsin-HCl für ein charakteristisches Merkmal des sogenannten „Plastins", so müßte man sagen, daß auch das strömende Plasma der Elodeazellen in der Hauptsache aus einem solchen Proteïd besteht. Unter allen Umständen muß der größte Nachdruck auf die ganz erstaunliche Widerstandsfähigkeit des lebendigen Zellinhaltes gelegt werden. Die Eigenart desselben in chemischer Hinsicht macht sich, wie schon mehrfach beobachtet wurde, auch darin geltend, daß fast alle bekannten Farbenreaktionen auf Eiweißkörper negativ ausfallen.

Im höchsten Grade überraschend ist nun das Verhalten des Zellinhaltes gegen Trypsin, über das ich hier nur in aller Kürze berichten möchte.

Die ersten Versuche mit frischen Blättern fielen durchweg negativ aus, denn ich konnte selbst bei tagelang fortgesetzter Verdauung mit äußerst wirksamem Trypsin in 0,5 Sodalösung keine irgend erheblichen Veränderungen feststellen. Die Chloroplasten blieben auch in angeschnittenen Zellen in Form und Farbe erhalten, dagegen war rasche Verdauung an plasmolysierten und dann mit Alkohol

extrahierten Präparaten auch in den geschlossenen Zellen nachzuweisen. Schon nach kurzer Zeit trat völlige Lösung des Plasmas, wie auch der Chloroplasten ein, so daß die Stärkeeinschlüsse der letzteren ganz isoliert wurden und ihr völliges Freisein durch Brown'sche Molekularbewegung verrieten. Es scheint also, daß alkohollösliche (lipoïde) Substanzen des Plasmas und der Chloroplasten einen sehr wirksamen Schutz gegen die Einwirkung des Trypsins verleihen. Äußerst energisch wirkte Trypsin auch nach vorhergehender Schwefelsäurebehandlung. Wird ein solches Präparat nach gehörigem Auswaschen mit Wasser mit Trypsinsodalösung eingedeckt, so erfolgt schon bei gewöhnlicher Zimmertemperatur rasche und vollständige Lösung des gesamten Zellinhaltes. Es wird sich auf Grund dieser Erfahrung leicht ein Verfahren ausarbeiten lassen, um von anderen Beimischungen nach Möglichkeit befreites „Plastin" einer makrochemischen Analyse zugänglich zu machen, die über die besonderen Eigenschaften dieses eigenartigen Proteïds Aufschluß zu geben verspricht. Ich darf schon jetzt sagen, daß pflanzliches Plasma in allen von mir bisher geprüften Fällen das gleiche Verhalten zeigte, so daß die bisherigen Versuche über künstliche Verdauung von Pflanzenstoffen einer gründlichen Revision bedürfen.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Flora oder Allgemeine Botanische Zeitung

Jahr/Year: 1918

Band/Volume: 111-112

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

Artikel/Article: Mikrochemische Beobachtungen an den Blattzellen von Elodea. 560-605