



UC-NRLF



B 3 884 132

www.libtool.com.cn

LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF CALIFORNIA.

Class BIOLOGY
LIBRARY
G

www.libtool.com.cn

www.libtool.com.cn

www.libtool.com.cn

DIE PFLANZE IN IHREN BEZIEHUNGEN ZUM EISEN.

EINE PHYSIOLOGISCHE STUDIE

von

DR. HANS MOLISCH,
A. Ö. PROFESSOR DER BOTANIK IN GRAZ.

MIT EINER FARBigen TAFEL.



JENA.
VERLAG VON GUSTAV FISCHER.
1892.

www.libtool.com.cn

SEARCH

E i n l e i t u n g .

Die grosse Bedeutung, welche dem Eisen im Stoffwechsel höherer Pflanzen und Thiere zukommt, ist eine bekannte und unbestrittene Thatsache. Ich erinnere nur daran, dass einer der wichtigsten Farbstoffe des Thierreichs, der Blutfarbstoff, der von der Natur mit einer hervorragenden physiologischen Rolle betraut wurde, eine Eisenverbindung ist. Ich erinnere weiter daran, dass für die Entstehung des Chlorophyllfarbstoffs, der mit einem der wichtigsten chemischen Processe in der Zelle, nämlich mit der Production organischer Substanz aus anorganischer ursächlich verknüpft ist, Eisen unbedingt erforderlich ist.

Da das Eisen im Organismus mit so auffallenden physiologischen Leistungen bedacht erscheint, hielt ich es für eine dankbare Aufgabe, die verschiedenen Beziehungen zwischen der lebenden Pflanze und dem Eisen, soweit dies unsere derzeitigen Methoden gestatten, zu verfolgen. Je mehr ich mich in das berührte Gebiet vertiefte, desto mehr trat mir dasselbe als ein vielfach noch ganz unbebautes Feld, als eine terra incognita entgegen, voll anregender Fragen und geheimnisvoller Räthsel. Bald musste ich einsehen, dass es hier für Viele vollauf zu thun gibt, und dass die schwachen Kräfte

*

www.libtool.com.cn eines Einzelnen nicht ausreichen, die Aufgabe ihrem g
Umfange nach zu lösen. Ich musste mich daher besch
vor Allem die Grundlinien meines Planes auszuarbeiten
die weitere Ausführung künftigen Untersuchungen zu
lassen.

Zuvörderst war es mir darum zu thun, über das
kommen des Eisens im Pflanzenreiche und über die
theilung desselben in der Pflanze, ihren Organen und Z
in's Klare zu kommen, wozu die Chemie einige ihrer fei
Reactionen bot. Trotz dieser hätte ich jedoch die Frage
unvollständig lösen können, wenn es mir nicht gegückt
eine über alles Erwarten empfindliche und sichere Met
ausfindig zu machen, die es gestattet, auch jenes mit
nischen Körpern fest verbundene Eisen direct unterm Mikro
nachzuweisen, das für die gewöhnlichen Reactionen nich
gänglich war, weil es, um mit dem Chemiker zu reden
maskirten Zustande vorliegt. Mit Hilfe dieser meiner Met
konnte ich zeigen, dass das Eisen kurze Zeit nach se
Eintritt in die Pflanze sich an organische Substanzen k
und dann in maskirter Form auftritt, und ferner, dass in
Regel die Hauptmasse des in der Pflanze vorhandenen Ei
uns in solchem Zustande begegnet.

Dann machte ich mich daran, die den Systematikern :
wohlbekannten, von den Physiologen aber bislang gar
beachteten Eisenoxyd ausscheidenden Flechten zu stud
sowie die in jüngster Zeit in den Vordergrund treten
Eisenbacterien, die über dieselben ausgesprochenen Ansich
und endlich ihre Beziehungen zu der Bildung von Rasenei
erzen einer genauen Prüfung zu unterziehen.

Die Erscheinung der Chlorose und die noch immer of
Frage, ob das für die Chlorophyllbildung nothwendige E
auch an dem Aufbau des Farbstoffmoleküls selbst theilnin

www.libtool.doh.in dasselbe eintritt, konnten naturgemäss hier nicht übergangen werden.

Für die Ernährung der Pilze wird das Eisen namentlich auf die Autorität Nägeli's hin als bedeutungslos hingestellt, mit welchem Rechte werden meine Untersuchungen zeigen. Eine möglichst exacte Prüfung gerade des letzten Punktes erschien mir besonders wünschenswerth und von hohem physiologischen Interesse. Denn wenn das Eisen für die Pilze, oder sagen wir allgemeiner, für die chlorophylllosen Pflanzen keinen integrirenden Bestandtheil ihrer Nahrung bildet, dann wird es, wie bereits Pfeffer betonte, wahrscheinlich, dass das Eisen nur zum Process der Chlorophyllbildung in Beziehung steht. Ganz anders aber, wenn sich das Eisen als nothwendig erwiese. Dann müsste ihm zum mindesten bei den chlorophylllosen, mit einigem Rechte auch bei den grünen Gewächsen noch eine andere Rolle im Stoffwechsel zugesprochen werden.

Ueber die Bedeutung des Eisens für die Bildung blauer Hortensiablüthen werde ich mich in dieser Schrift nicht aussäern, da meine in dieser Richtung angestellten, bereits seit zwei Jahren im Gange befindlichen Versuche erst im nächsten Jahre ihren Abschluss finden dürften.

Graz, im Januar 1892.

Hans Molisch.

www.libtool.com.cn

Inhaltsübersicht.

	Seite
Einleitung.	
I. Abschnitt. Methode des Eisennachweises	1
A. Nachweis des locker gebundenen Eisens in der Zelle.	1
Nachweis der Ferriverbindungen mit gelbem Blutlaugensalz	1
Nachweis der Ferroverbindungen mit rothem Blutlaugensalz	3
Andere Eisenreactionen	4
Zu gebrauchende Vorsichten	4
Historisches	4
B. Nachweis des fest gebundenen („maskirten“) Eisens in der Zelle	6
Eine neue Methode	7
II. Abschnitt. Vorkommen und Verbreitung des locker gebundenen Eisens in der Pflanze	12
A. Algen	12
Allgemeines	12
<i>Cladophora aegagropila</i> Rabenh.	14
<i>Peysonnelia squamaria</i>	14
<i>Valonia utricularis</i> und <i>macrophysa</i>	15
Andere Algen	15
Die Eisengürtel von <i>Psichohormium</i> (<i>Conferva</i>)	17
B. Pilze	20
<i>Nectria cinnabarina</i>	21
<i>Rhizomorpha fusca</i> Nestl.	21
C. Flechten	21
Eisenflechten	21
D. Moose	30
Allgemeines	30
<i>Fontinalis</i> -Arten	31
<i>Mielichoferia nitida</i>	34
Eisenspeichernde Lebermoose	35
Eisenspeichernde Laubmooe	35
E. Samen	36
Andere Reservestoffbehälter	40

III. Abschnitt. Vorkommen und Verbreitung	
kirten Eisens in der Pflanze	
Allgemeine Verbreitung desselben	
Die Hauptmasse des in der Pflanze steckenden Eisen maskirt	
Specielle Beispiele:	
<i>Capsella bursa pastoris</i>	
<i>Selaginella cuspidata</i>	
<i>Aspergillus niger</i>	
<i>Usnea barbata</i>	
Zusammenfassung	
Auffallende Localisation von maskirtem Eisen:	
Bei verholzten Zellwänden	
Bei <i>Ceratophyllum demersum</i>	
Bei <i>Sedum Telephium</i>	
Bei <i>Phaseolus multiflorus</i>	
Natur der Eisenverbindungen	
Zweck der organischen Bindung des Eisens	
Die Globoide der Proteinkörper (Aleuron) als Eisenspeicher	
Wanderung des Eisens	
IV. Abschnitt. Die Eisenbakterien	
1. Historisches	
2. Winogradsky's Ansicht	
3. Eigene Untersuchungen	
4. Die Eisenbakterien in ihrer Beziehung zum Raseneisen	
V. Abschnitt. Ist der Chlorophyllfarbstoff eihaltig?	
VI. Abschnitt. Die Chlorose	
VII. Abschnitt. Ueber die Notwendigkeit des Eisens für die Pilze	
1. Historisches und Kritisches	
2. Das Eisen, ein normaler Bestandtheil der Pilze	
3. Ernährungsversuche	
Schwierigkeit der Herstellung von eisenfreien Nährösungen	
Reinigung der einzelnen Nährbestandtheile	
Versuchsreihen	
Ergebniss	
Das Aspergillin, eine Eisenverbindung	
Function des Eisens	
Tafelerklärung	



I. Abschnitt. Methode des Eisennachweises.

A.

Nachweis des locker gebundenen Eisens in der Zelle.

Zum Nachweis des Eisens bediente ich mich fast ausschliesslich des Kaliumferrocyanids oder gelben Blutlaugensalzes. Bekanntlich werden Ferrisalze durch den genannten Körper unter Bildung von Berlinerblau gleich dunkelblau gefällt. Diese Reaction — eine der feinsten und sichersten der Chemie — vollzieht sich innerhalb der verschiedenen Gewebe und Zellen ebenso deutlich, wie in der Eprouvette und eignet sich ganz besonders deshalb zu mikrochemischen Untersuchungen, weil das Berlinerblau in unlöslicher Form am Orte seiner Entstehung liegen bleibt und uns demgemäß selbst in dem mikroskopisch kleinen Raume der Zelle den Sitz des Eisens genau verräth. Zarte Objecte, beispielsweise Algenfäden, dünne Schnitte legt man einfach auf den Objectträger in ein Tröpfchen Blutlaugensalzlösung und fügt dann, um die etwa vorhandenen Eisenverbindungen in Lösung überzuführen, ein Tröpfchen verdünnte Salzsäure hinzu. Ferrisalze — und um solche handelt es sich in der Regel — werden sich hierbei sofort durch eine Blaufärbung, oder wenn

www.libtool.com nur Spuren davon da sind, durch eine blaugrünlische Färbung zu erkennen geben. Die beiden Reagentien sollen in nicht zu concentrirtem Zustande zur Anwendung kommen, weil dieselben sonst leicht zur Bildung von an der Luft sich rasch bläuender Ferrocyanwasserstoffsäure Veranlassung geben könnten. Für directe Untersuchungen auf dem Objectträger benütze ich in der Regel eine 2%ige Blutlaugensalzlösung und eine 10%ige Salzsäure¹⁾, doch leistet von der letzteren auch eine minder concentrirte gute Dienste. In allen Fällen muss man dafür sorgen, dass die zu untersuchenden Objecte vom Blutlaugensalz ganz durchtränkt werden. Darauf muss besonders bei dickeren Pflanzentheilen, z. B. bei Samen, Blättern, wenn dieselben in toto untersucht werden sollen, geachtet werden. Zu diesem Zwecke lasse ich die Objecte in kleinen verschliessbaren Glasdosen, welche mit verdünnter Blutlaugensalzlösung gefüllt waren; 1—24 Stunden, je nach Bedarf, liegen. Dann behandelt man mit Salzsäure entweder direct auf dem Objectträger oder bei dickeren Objecten wieder in Glasdosen. Gewöhnlich tritt bei Gegenwart von Eisen schon unmittelbar nach der Uebertragung in Salzsäure die Blaufärbung ein, nur bei dickeren Pflanzentheilen lässt sie einige Minuten auf sich warten. Hat die Salzsäure das Object ganz und gar durchdrungen, dann ist ihre weitere Einwirkung zu unterbrechen und das Präparat nach dem Auswaschen in destillirtem Wasser einzubetten. Bei längerem Contact der Salzsäure mit dem Blutlaugensalz könnte die erstere aus letzterer schon allein Ferrocyanwasserstoffsäure $H_4(CN)_6Fe$ als weissen Niederschlag fallen, der sich an der Luft rasch oxydiert und hierbei in Berlinerblau übergeht.

Tritt mit gelbem Blutlaugensalz und Salzsäure keine

¹⁾ Concentrirtre Salzsäure enthält bei 15° C. 42,9 Gewichtsprocente HCl.

www.libtool.com/en
Blaufärbung ein, dann fehlen Ferriverbindungen. Eisenoxydulverbindungen könnten aber immer noch vorhanden sein, und auf diese prüft man passend mit Ferricyankalium oder rothem Blutlaugensalz. Das letztere gibt nämlich mit Eisenoxydulverbindungen einen blauen Niederschlag von Turnbullsblau, mit Ferriverbindungen aber nicht. Ich verwende auch in diesem Falle in der Regel eine 2%-Lösung von Ferricyankalium und 10% Salzsäure. Zu beachten ist, dass diese Reaction bei kleinen Eisenmengen einige Zeit (Minuten) auf sich warten lässt. Indem man ein Gewebe zuerst mit gelbem und eine zweite Probe davon mit rothem Blutlaugensalz prüft, wird man sofort darüber klar werden, ob locker gebundenes Eisen überhaupt, und ferner ob dasselbe in Oxyd-, Oxydul- oder Oxydoxydulform vorhanden ist. Die Reaction mit gelbem Blutlaugensalz deutet nach dem Gesagten auf Eisenoxyd, die mit rothem auf Eisenoxydul, und tritt die Reaction mit beiden Salzen ein, dann liegt das Eisen in beiden Oxydationsstufen vor.

Die anderen Eisenreactionen bieten, obwohl ihre Empfindlichkeit nichts zu wünschen übrig lässt, für mikrochemische Zwecke nicht im entferntesten jene Vortheile wie die Blutlaugensalzprobe. Die Reaction mit Rhodankalium deshalb nicht, weil das entstehende blutrote Ferrisulfocyanat in Lösung bleibt, sich im Präparat und Beobachtungstropfen rasch vertheilt und mithin über den Sitz des Eisens in der Zelle nichts Bestimmtes aussagt. Zudem ruft die mit dem Reagens zur Anwendung kommende Salzsäure mit verschiedenen in der Pflanze vorkommenden Farbstoffen, Chromogenen und mit verholzten Membranen unter gewissen Umständen Rothfärbungen hervor, die leicht zu Täuschungen Veranlassung geben können.

Noch weniger geeignet fand ich für mikroskopische Zwecke

www.libtool.com.cn die anderen bekannten Eisenreactionen, so die mit Säure (Violettfärbung), Tannin (Schwarzfärbung) und Säureammonium (Schwarzfärbung).

Doch können auch diese Proben, wenn es Controlversuche handelt, herangezogen werden.

Dass zur Ausführung der Reactionen stets e Reagentien benützt werden müssen und die Anwendung eiserner Instrumente möglichst zu vermeiden ist, besondere Beachtung.

Anstatt des gewöhnlichen Skalpells und der gleichen Stahlrasermesser bediente ich mich analoger mente, die ich eigens für meine Zwecke aus harter Alur bronze anfertigen liess. Derartige Messer schneiden sie auch bezüglich ihrer Härte den Stahlmessern nicht kommen, recht gut. Nur zur Herstellung sehr feiner Schnitte bediente ich mich des Stahlmessers, und zwar nur in blanken Zustande, weil dann vom Eisen nichts oder sehr in den Schnitt hineingelangt. Durch Vergleich der Schnitte mit solchen, die durch das Bronzemesser geworden, konnte leicht festgestellt werden, ob eine Eisenreaction vom Messer oder dem Präparat selbst he

Zum Uebertragen der Objecte auf den Objectträger wende ich anstatt der Stahlnadeln kleine zu einer Spitz gezogene Glasstäbe.

Historisches. Die Bedeutung des Eisens für das und den Menschen wurde viel früher erkannt als dessen Bedeutung für die Pflanze. Kein Wunder daher, dass die Versuche, das Eisen mikrochemisch nachzuweisen, von physiologen ausgingen. Zaleski¹⁾) sagt: „Soviel mi

¹⁾ Zaleski, St. Szcz., Studien über die Leber. Zeitschr. f. physiologische Chemie, X. Bd. 1886. S. 479.

www.libtoolkannt,cr war J. Vogel¹⁾ der Erste, der im Jahre 1845 zum directen Nachweis des Eisens in den Organen dieselben unmittelbar mit Schwefelammonium behandelte. 16 Jahre später hat Grohe²⁾ zu demselben Zweck das gelbe Blutlaugensalz verwandt, doch waren es nur Perls³⁾ und Quincke⁴⁾, die die Methoden dieser Untersuchung systematisch entwickelten. Perls bediente sich außerdem noch des Rhodankaliums; diese letzte Methode jedoch hat, wie es scheint, keine Nachahmer gefunden.“

In neuerer Zeit hat R. Schneider⁵⁾ das Vorkommen des Eisens in verschiedenen Thiergruppen zum Gegenstande ausführlicher Untersuchungen gemacht und die weite Verbreitung dieses Elements, sowie dessen ganz erstaunliche Anhäufung in gewissen Geweben und Organen verschiedener Thiere constatirt.

Unter den Botanikern gebührt Weiss und Wiesner⁶⁾ das Verdienst, die ersten Versuche zum Zwecke des mikrochemischen Nachweises in der Pflanze unternommen zu haben.

Die beiden Forscher bedienten sich hierbei einer wein-

¹⁾ Vogel, J., Patholog. Anatomie. 1845. S. 163.

²⁾ Grohe, Zur Geschichte der Melanämie etc., Virch. Archiv 1861, Bd. XX S. 306.

³⁾ Perls, 1) Nachweis von Eisenoxyd in gewissen Pigmenten. Virch. Arch. 1867, Bd. 39 S. 42. 2) Id. Journ. f. prakt. Chemie 1868, Bd. 105 S. 281.

⁴⁾ Quincke, Ueber die Arbeiten dieses Forschers siehe Zaleski l. c. S. 454 u. 455.

⁵⁾ Schneider, R., 1) Ueber Eisen-Resorption in thierischen Organen und Geweben. Abhandlungen der Königl. Akad. der Wissenschaften zu Berlin 1888. 2) Derselbe, Neue histologische Untersuchungen über die Eisenaufnahme in den Körper des Proteus. Sitzungsber. der Königl. preuss. Akad. der Wissenschaften zu Berlin 1890.

⁶⁾ Weiss, A., und Wiesner, J., Vorläufige Notiz über die directe Nachweisung des Eisens in den Zellen der Pflanze. Sitzungsber. der Kaiserl. Wiener Akad., 40. Bd. 1860 S. 276—278. Eine ausführliche Abhandlung über diesen Gegenstand erschien später nicht.

www.libtool.com.cn
geistigen Lösung von Rhodankalium und zur Herstellung der Schnitte eines Silber- oder Platinamessers.

Die Objecte wurden zuerst mit der genannten Lösung betupft und, wenn keine Reaction eintrat, noch Salzsäure hinzugefügt. Damit machten sie die Anwesenheit des Eisens im Schnitte als lösliche oder unlösliche Oxydverbindung ersichtlich. Um eventuell vorkommende Oxydverbindungen des Eisens zu erkennen, behandelten sie die Präparate vorher mit Chlorwasser oder Salpetersäure. Auf Grund ihrer Untersuchungen gelangten die beiden Forscher zu dem Schlusse, dass das Eisen als Oxyd oder Oxydul sowohl in der Membran als im Inhalt der Pflanzenzelle auftreten kann, und zwar stets in ungelöster Form.

Andere Botaniker haben meines Wissens dem mikrochemischen Nachweis des Eisens — ich sehe hier von ganz gelegentlichen Bemerkungen und Beobachtungen ab — keine speziellen Untersuchungen gewidmet.

B.

Nachweis des fest gebundenen („maskirten“) Eisens in der Zelle.

In gewissen organischen Eisenverbindungen, z. B. im Blutlaugensalz, im Blutfarbstoff ist das Eisen derart fest gebunden, dass dasselbe mit den gewöhnlichen Eisenreactionen nicht nachgewiesen werden kann. In der Asche solcher Substanzen gibt sich der Eisengehalt allerdings mit Hilfe der gewöhnlichen Mittel zu erkennen. Das Eisen tritt demnach in vielen organischen Körpern gewissermassen versteckt oder, wie sich der Chemiker ausdrückt, „maskirt“ auf.

Eine passende Methode, maskirtes Eisen mikrochemisch nachzuweisen, hat meines Wissens bisher Niemand bekannt

www.libto.de/gacht.cn Es ist nun klar, dass wir über das Vorkommen und die Vertheilung des genannten Elementes in der Pflanze eine nicht nur lückenhafte, sondern sogar ganz falsche Vorstellung gewinnen müssen, so lange wir nur immer das locker gebundene Eisen nachweisen, das fest gebundene aber nicht.

Je länger ich mich mit dem Studium der Beziehungen des Eisens zur Pflanze beschäftigte, desto mehr trat das Bedürfniss nach einer solchen Methode hervor, zumal dann, als ich auf Grund verschiedener Thatsachen zur Einsicht gelangte, dass die Hauptmasse des in der Pflanze vorkommenden Eisens an organische Substanz in maskirtem Zustande gekettet ist, aus welcher es nach den gewöhnlichen Methoden direct nicht gefällt werden kann.

Ich habe daher, da mir von Seite der Chemiker und Physiologen keine Erfahrungen vorlagen, selbst nach einer diesbezüglichen Methode gesucht und eine solche endlich auch gefunden: Die meisten organischen Verbindungen, welche Eisen in maskirter Form enthalten, lassen selbst in ganz ausserordentlich geringen Mengen ihr Eisen erkennen, wofern man die betreffenden Objecte ein oder mehrere Tage oder Wochen in gesättigter wässriger Kalilauge liegen lässt und dann nach raschem Auswaschen in reinem Wasser den gewöhnlichen Eisenreactionen, am besten der Ferrocyanalkalumprobe, unterwirft.

Offenbar führt die Kalilauge die maskirten Eisenverbindungen in solche über, wo das Eisen in lockerer Bindung und eben deshalb in einer mit den gewöhnlichen Mitteln leicht nachweisbaren Form vorliegt. In welcher Weise die Kalilauge einwirkt, um die genannten Eisenverbindungen für unsere Eisenreactionen zugänglich zu machen, vermag ich

www.libtool.com/mn nicht zu sagen. Es wäre aber meiner Meinung nach ein sehr dankbares Unternehmen, wenn ein Chemiker diesen Gegenstand einer besonderen Untersuchung unterziehen und uns über die Natur dieses chemischen Processes aufklären würde.

Die verwendete Kalilauge muss — dies sei besonders betont — gesättigt und selbstverständlich eisenfrei sein. Verdünnte Kalilauge führt zu undeutlichen oder unbrauchbaren Resultaten. Natronlauge wirkt ähnlich wie Kalilauge.

Für mikrochemische Zwecke fand ich es am zweckmässigsten, die zu prüfenden Schnitte in mit Kalilauge gefüllte und verschliessbare Glasdosen zu tauchen, weil so die Kohlensäure der atmosphärischen Luft abgehalten und die Kalilauge hierdurch durch viele Wochen ungeschwächt wirksam bleibt. Die Zeit der Einwirkung der Kalilauge hängt von der Natur des Objectes ab. Bei manchen genügen wenige Stunden, bei den meisten ein bis mehrere Tage, nur sehr wenige bedürfen noch längerer Einwirkung, bevor sie ihren Eisengehalt verrathen. Im Allgemeinen kann man sagen, dass die Reaction — natürlich innerhalb einer bestimmten Zeit — um so deutlicher eintritt, je länger die Objecte sich in Kalilauge befanden. Doch sei bemerkt, dass die Lauge, sobald das Optimum für die Reaction erreicht ist, eine schwächende Wirkung bei weiter andauernder Beeinflussung nicht ausübt, wie ich mich an verschiedenen Objecten (Blättern von Ampelopsis, Phaseolus, Stammquerschnitten von Vitis, Fichtenholz, Keimlingen des Senfs etc.), die seit $1\frac{1}{2}$ Jahren in Kalilauge liegen, überzeugt habe.

Nichtsdestoweniger möchte ich doch davon abrathen, die Objecte länger als nothwendig der Kalilauge auszusetzen, da es nicht wünschenswerth erscheint, den Zellinhalt, seine Theile und die Membran mehr als nöthig ist zu verändern. Um



www.libtool.com.cn sich von der Schönheit und Sicherheit dieser meiner Methode zu überzeugen, mache man folgenden Versuch. Zarte Schnitte durch Fichtenholz — mit eisenfreiem Messer angefertigt¹⁾ — geben direct auf Eisen geprüft ein negatives Resultat. Eben-solche Schnitte färben sich, nach 1—8 tägigem Liegen in g. Kalilauge und nach dem Auswaschen derselben in Wasser, mit angesäuerter g. Blutlaugensalzlösung tiefblau.

Derselbe Versuch im Grossen mit dünnen Hobelspänen ausgeführt, eignet sich in ausgezeichneter Weise zur Demonstration in Vorlesungen.

Es empfiehlt sich, die aus der Kalilauge herausgehobenen Objecte im Wasser von der Lauge durch Hin- und Herschwenken möglichst rasch zu befreien, möglichst rasch deshalb, weil sonst leicht Inhaltskörper, wie verseiftes Fett, modifiziertes Chlorophyll und dergleichen mehr, in Lösung gehen. Doch hat mit Rücksicht auf den Eisennachweis auch ein langes Verweilen der Objecte im Wasser nichts zu bedeuten, da die in der Zelle vorhandenen demaskirten Eisen-verbindungen — wenigstens soweit meine Erfahrungen reichen — ungelöst bleiben und mit Blutlaugensalz erst nach Zusatz von Salzsäure in Reaction treten. — Diese Eisen-verbindungen stellen ein Gemenge beider Oxydationsstufen des Eisens dar, also ein Gemisch von ungelöstem Oxyd und Oxydul.

An Empfindlichkeit lässt meine Methode jedenfalls nichts zu wünschen übrig, denn nach approximiativen Berechnungen dürfte diese der durch ihre überaus grosse Feinheit ausgezeichneten spectralanalytischen Natriumprobe nicht nachstehen. Es ist eine sehr bemerkenswerthe Thatsache, dass man in den

¹⁾ Bei trockenen, keine Pflanzensäuren enthaltenden Geweben, wie Holz, leistet auch ein blankes Stahlmesser ganz gute Dienste, da in das Object kein oder so gut wie kein Eisen hineinkommt.

www.libtool.de Zellen noch Eisenmengen nachzuweisen vermag, die in der Asche dieser nicht mehr zu constatiren sind. Verascht man einen *Spirogrya*-, einen Baumwollfaden oder eine Holzzelle auf dem Deckglas, so kann man zwar die zurtickbleibende Asche mikroskopisch constatiren, aber in dieser nicht das Eisen. Die genannten Objecte geben jedoch insgesammt mit meiner Probe in ihrer Wand sehr deutliche Reaction. Worauf diese Steigerung der Empfindlichkeit beruht, ob auf der ausserordentlich feinen Vertheilung des Eisens in der Pflanzensubstanz oder ob auf dem Umstand, dass die Eisentheilchen innerhalb dieser, also in dichter Lagerung, fixirt bleiben, mithin im Reagenstropfen nicht vertheilt werden — oder auf anderen Ursachen, lasse ich unentschieden.

Zu bedauern ist, dass die Kalilauge einzelne Theile der Zelle (Kern, Chlorophyllkörper, Vacuolen) oder die Zelle selbst (manche Pilze) derart desorganisirt, dass man häufig bezüglich der Vertheilung des Eisens innerhalb dieser Zellorgane nichts aussagen kann. Für unsere Zwecke hat dies jedoch nicht viel zu bedeuten, weil man ja schon eine genügend klare Vorstellung von der topographischen Vertheilung des Eisens erhält, wenn man nur überhaupt nachweisen kann, welche Zellen das Metall enthalten und welche nicht¹⁾.

Ein weiterer Uebelstand meiner Probe liegt darin, dass sie den Eisennachweis nicht in allen maskirten Eisenverbindungen ermöglicht, wenigstens ist mir ein solcher nach mehrmonatlicher Einwirkung von Kalilauge beim Ferrocyankalium,

¹⁾ Meiner Meinung nach wäre es eine sehr dankbare Aufgabe, wenn irgend ein Zoologe meine Methode zum Nachweis von maskiertem Eisen auch im thierischen Organismus verwerten würde; die Feststellung zahlreicher neuer Thatsachen wäre die Folge davon, auch dann, wenn vielleicht in vielen Fällen die Kalilauge thierische Gewebe voraussichtlich stärker angreifen sollte als die pflanzlichen.

www.libtool.com.cn
beim Blutfarbstoff und bei einigen Pilzen (siehe S. 104) nicht gelungen¹).

¹) Gelegentlich meiner mikrochemischen Arbeiten lernte ich ein auffallendes Verhalten der gesättigten Kalilauge zum Chlorophyllfarbstoff kennen. Sobald eine chlorophyllhaltige Zelle in ges. Kalilauge getaucht wird, färben sich die grünen Chlorophyllkörper augenblicklich hellbraun, nach einiger Zeit (wenige Minuten oder $\frac{1}{4}$ Stunde) allmählich wieder grün. Das Umschlagen von Braun in Grün erfolgt sofort und viel schöner beim Erwärmen oder beim Hinzufügen von Wasser oder Alkohol. Diese Reaction ist ausserordentlich empfindlich und sicher, denn sie gelingt nach meinen Erfahrungen nur mit Chlorophyll und kann an jedem einzelnen Chlorophyllkorn direct unterm Mikroskop verfolgt werden. Ebenso verhält sich der feste aus einer alkoholischen Lösung durch Verdampfen des Alkohols gewonnene Farbstoff, nur tritt die Reaction viel langsamer ein. Andere Farbstoffe, wie Xanthophyll (Etiolin) oder der grüne Farbstoff von *Peziza aeruginosa*, geben die Reaction nicht. Vorläufig mögen über diesen Gegenstand die obigen Daten genügen, später hoffe ich denselben eingehender verfolgen zu können.

II. Abschnitt.

Vorkommen und Verbreitung des locker gebundenen Eisens im Pflanzenreiche.

A.

Algen.

Ich habe etwa 100 Gattungen mariner und Süßwasser-Algen aus den verschiedensten Familien theils frisch, theils als Herbarexemplare untersucht und bei etwa 20 Gattungen Eisen¹⁾ gewöhnlich in unbedeutenden, seltener in grösseren oder sogar in beträchtlichen Mengen gefunden. Das Eisen liegt als Oxyd oder mit etwas Oxydul vermengt der Membran meist auf, seltener steckt es innerhalb derselben, noch seltener im Zellinhalt. Es überzieht in den meisten Fällen die Membran in Form von mehr minder grossen, gelblichen bis rostrothen Körnchen oder Brocken, die zuweilen wie bei gewissen *Conferv-a-* (*Psichohormium*), *Oedogoni u m-* und *Cladophora*-Arten stellenweise um die Membran eine ziemlich dicke Kruste bilden können.

¹⁾ Wenn in diesem und in den folgenden unter II. angeführten Capiteln von Eisen die Rede ist, so bezieht sich dies stets nur auf locker gebundenes, das „maskirte“ Eisen bleibt vorläufig ganz unberücksichtigt.

www.libtool.com.cn Schwache Reaction liess sich an älteren Exemplaren oder deren Theilen constatiren bei:

Amphiroa rigidia.
Antithamnion plumula Thur.
Bryopsis plumosa Ag. (sehr alte Membranen).
Callithamnion byssoides Arn.
Chylocladia articulata Grev.
Cladophora sp.
Cotenella opuntia Grev.
Crouania attenuata Ag.
Digenea simplex Ag.
Liagora viscosa Ag.
Lomentaria clavata J. Ag.
Padina Pavonia Gaillon.
Spyridia filamentosa Harv.

Deutliche Reaction zeigten:

Batrachospermum moniliforme Roth.
Cladophora aegagropila Rabenh.
Closterium-Arten¹⁾.
Gomphonema-Arten (Gallertstiele).

¹⁾ Auf den Eisengehalt der Zellhaut bei *Closterium*-Arten (*didymotocum angustatum*, *striolatum*) hat zuerst G. Klebs aufmerksam gemacht. („Ueber die Organisation der Gallerte bei einigen Algen und Flagellaten.“ Untersuchungen aus dem botan. Institut zu Tübingen II. Bd. S. 383.)

Die Zellhaut der genannten Arten ist nach Klebs in Folge des Gehaltes an Eisenoxyhydrat gelb bis rothbraun gefärbt und hinterlässt beim Glühen ein vorwiegend aus Eisenoxyd bestehendes Skelet. Die Gallertschicht der Closterien dagegen ist eisenfrei.

Unter den Euglenaceen haben nach demselben Autor besonders *Trachelomonas*-Arten, in viel geringerem Grade *Ascoglena* die Fähigkeit, in unseren Gewässern Eisenoxyhydrat in ihre Gallerthülle einzulagern, so dass dieselbe sich zu einem spröden, harten Panzer gestaltet. l. c. S. 407.

www.libtool.com.cn *Oedogonium*-Arten.

Peyssonnelia squamaria Decne } nur die
" *Dubyi* Crouan } Rhizoiden.
Valonia utricularis Ag. u. *V. macrophysa*
Kütz.

Einzelne Beispiele:

Cladophora aegagropila Rabenh. Diese Alge bildet die in manchen Alpenseen, z. B. im Zeller-See, vorkommenden sogenannten „Seeknödel“: kugel- oder flachrunde, im Innern hohle Ballen von durchschnittlich Faustgrösse, die äusserlich an die im Magen verschiedener Thiere auftretenden Bezoare erinnern.

Nahezu alle ausgewachsenen Fäden dieser Alge erscheinen mit einem gelblichen oder rostrothen Ueberzug von Eisenoxyd-oxydul versehen, der bald inselartig, bald in dünner oder in dickerer Schicht als geschlossene Kruste die Membran bedeckt. Aber auch die Zellhaut selbst erscheint bei vielen Fäden auf kurze Strecken hin von Eisen durch und durch imprägnirt, so dass sie stellenweise ganz braun erscheint. Mit gelbem Blutlaugensalz und Salzsäure färben sich die Fäden tiefblau, mit rothem aber in viel schwächerem Grade und viel langsamer. Das Eisen liegt demnach in beiden Oxydationsstufen vor, der Hauptmasse nach in der Oxyd-, zum geringen Theile in der Oxyduiform.

Die meisten anderen *Cladophora*-Arten, welche mir im Laufe meiner Untersuchungen begegneten, hatten in ihrer Membran gleichfalls etwas Eisenoxyd eingelagert, nur wenige gar keines, wie z. B. *Cl. Rudolphiana* Harv. Das Eisen tritt am reichlichsten in alten Membranen und zwar in den äussersten Theilen derselben auf.

Peyssonnelia squamaria Decne. Der blattartige gelappte Thallus haftet mittelst zahlreicher, einen schmutzig-

www.libtool.de gelbbräunlichen Filz bildenden Wurzelfäden dem Substrat gewöhnlich an. Diese führen an ihrer Oberfläche vorzugsweise Eisenoxyd mit Spuren von Oxydul. Ob das Eisen hier der Membran nur aufgelagert und nicht auch in der peripheren Schicht eingelagert ist, konnte ich nicht entscheiden. Der lappige, flache Thallus gibt die Eisenreactionen nicht. *Peyssonnelia Dubyi* verhält sich ebenso.

Valonia utricularis Ag. u. *V. macrophysa* Kütz. sind an ihrer Oberfläche mit Eisenoxyd und Spuren von Eisenoxydul inselartig in Form von mehr minder grossen Körnchen derart bedeckt, dass der Thallus in Folge dessen mit Blutlaugensalz eine blaue Färbung annimmt. Theilweise röhrt die letztere auch von dem Eisenoxyd her, welches eine auf dem Thallus häufig epiphytisch lebende Diatomee an ihrer Oberfläche niederschlägt.

Dass die Fähigkeit mancher Algen, auf oder in der Membran Eisen anzuhäufen, mit der Natur derselben zusammenhangt, kann wohl kaum einem Zweifel unterliegen. Es geht dies schlagend aus der Thatsache hervor, dass verschiedene Algen, die man aus ein und denselben Tümpel oder Culturgefäß herausfischt, sich bezüglich des Eisens, obwohl unter denselben Culturbedingungen stehend, ganz verschieden verhalten. Ich habe oft *Oedogonium* und *Spirogyra* in demselben Tropfen nebeneinander beobachtet und die erstere, namentlich von einem gewissen Alter an, gewöhnlich mit Eisen reichlich inkrustiert gefunden, die letztere dagegen auch nicht spurenweise.

Dass gelegentlich an jeder Alge in ähnlicher Weise wie an abgestorbenen Pflanzenteilen sich hier und da Eisen niederschlagen kann, will ich damit nicht bestreiten.

Andererseits können auch äussere Bedingungen von massgebender Bedeutung für die Eiseninkrustation sein, denn

www.libtool.manche Algen, welche unter normalen Verhältnissen nicht eine Spur von Eisen niederschlagen, thun dies, wofern man dieselben in eisenreiches Wasser bringt. So bleiben viele *Oscillaria*-Arten in den natürlichen Wässern gewöhnlich eisenfrei. Sobald sie aber in ein relativ eisenreiches Wasser, etwa in eine verdünnte Eisenvitriollösung gelangen, lagern sie reichlich Eisenoxyd auf ihrer Oberfläche und innerhalb ihrer Scheiden ab.

Ob die Eiseninkrustation aus denselben Ursachen erfolgt wie die bei Algen auftretende Kalkinkrustation, bleibt zu untersuchen. Jedenfalls ist zu beachten, dass Algen, die sich an ihrer Oberfläche gerne mit kohlensaurem Kalk beschlagen, häufig auch mit Eisenoxyd inkrustirt sind (*Cladophora* und *Oedogonium*), während andere, denen das Vermögen der Kalkinkrustation abgeht, auch kein Eisenoxyd an ihrer Oberflächenieder zuschlagen pflegen (*Spirogyra* *Zygnema*). Doch darf nicht übersehen werden, dass Kalkalgen par excellence, wie *Acetabularia mediterranea* Lamour, *Amphiroa cryptarthrodia* Zanard und *Corallina rubens* L. nur Spuren oder keine nachweisbaren Mengen von Eisen in ihrem Kalkpanzer enthalten.

Nicht unerwähnt will ich lassen, dass Algen aus einigermassen eisenreichen Tümpeln, abgesehen von der Membran (zumal der Querwände), auch im Zellinhalt Eisenoxydoxydul oder Oxydul allein enthalten. So *Mesocarpus*, *Spirogyra*, *Confervula* und verschiedene Diatomeen¹⁾.

¹⁾ Auf den hohen Eisengehalt in den Membranen der Diatomee *Gallionella ferruginea* |Ehb. (Syn. mit *Gloeotila ferruginea* Kg. und *Melosira minutula* Bréb.) hat bereits Ehrenberg aufmerksam gemacht, desgleichen auf die Thatsache, dass dieser Organismus bei der Bildung von Raseneisenerzen hervorragenden Anteil nehmen kann. Vgl. das auf S. 73 dieser Schrift Gesagte.

www.libtool.com

Bei *Mesocarpus* ist das Eisenoxydul auf kleine, im Cytoplasma liegende Körnchen beschränkt oder es durchdringt den ganzen Zellinhalt sammt Kern und Chlorophyllband. Dabei verhalten sich die Fäden sehr ungleich; manche enthalten viel, manche wenig oder gar kein Eisen. Ich habe in der Regel bemerkt, dass namentlich die auf absterbenden Pflanzenteilen epiphytisch festsitzenden Fäden viel Eisenoxydul enthalten.

Auch in den Gallertstielen von *Gomphonemen* habe ich zu wiederholten Malen Eisenoxydoxydul beobachtet. All' diese Algen reagirten nur dann auf Eisen, wenn ich sie aus eisenreichen Wässern schöpfte. Nach mehrtägigem Aufenthalt im gewöhnlichen Leitungstrinkwasser konnte kein Eisen mehr nachgewiesen werden, ein Umstand, der uns auch den Widerspruch in den Beobachtungen zwischen *Trollius*¹⁾ und *Klebs*²⁾ erklärt, von denen der Erstere in den Gallertstielen von *Gomphonemen* Eisenoxydul auffand, der Letztere dieses aber vergeblich suchte.

Psichohormium. Besonderes Interesse verdienen gewisse Algen aus der Gruppe der Conferven, welche, wie seit langem bekannt, die Eigenthümlichkeit besitzen, sich mit Röhren und Gürteln aus Eisenoxyd zu umgeben (Fig. 10). Kützing³⁾ hat diese Conferven unter der Gattung *Psichohormium* vereinigt.

Ich selbst habe die Erscheinung ausgeprägt gefunden bei *Psichohormium antliarium* Kütz., weniger deutlich bei

¹⁾ Beobachtungen über die Diatomaceen der Umgebung von Jena, Inaug.-Diss. 1882 S. 97.

²⁾ l. c. S. 390.

³⁾ Kützing, Tabulae physiologicae III, T. 48 u. 49, ferner dessen Species algarum S. 374 und Rabenhorst's Flora Europaea algarum III S. 290 f. 93 b u. S. 324 f.

www.libtool.com *Psinina equale* Kütz., *Conferv a rufescens* Kütz.¹⁾ und
Oedogonium sp.

Hanstein²⁾ hat seiner Zeit einen hierher gehörigen Fall eingehender beschrieben, und da seine treffliche Beschreibung mit meinen Beobachtungen im Wesentlichen übereinstimmt, so will ich dem genannten Autor selbst hier das Wort lassen: „Die recht feinen Conferven“ — er fand dieselben in einem Graben, der zuerst das sehr warme Wasser einer Dampfmaschine und danach noch eisenhaltige Tagwässer aufnahm — „waren bald auf kurze, bald auf längere Strecken, bald unterbrochen, bald zusammenhängend mit dickeren oder dünneren ockerfarbigen Hüllen umgeben, durch welche sie bald in steife, zerbrechliche Borsten, bald in zierliche, perlchnurförmige oder feinknotige Fäden gestaltet wurden. Wo viele Gürtel noch auf einander folgen, bilden ihre äussere Contoure fortlaufende Linien, so dass man sieht, dass sie ursprünglich zusammengehangen haben, wofür auch die von correspondirenden Bruchflächen begrenzten Klüfte zwischen ihnen Zeugniß ablegen. Hieraus folgt, dass die im Zusammenhang erzeugten Panzerröhren durch späteres Längenwachsthum der Zellenreihe zerklüftet und aus einander gerückt sind. Der Querdurchmesser dieser Eisenpanzer ist nicht allein an verschiedenen Fäden sehr verschieden, sondern wechselt ebenso stark an den Gliedern eines und desselben Fadens. Ja, die continuirlichen Panzer- oder Gürtelreihen werden bald dicker, bald dünner in sehr auffallender Weise. Die stärksten Ablagerungsmassen übertreffen wohl das 20fache des Fadendurchmessers, während die schwächsten als kaum sichtbare Ringe auftreten.“

¹⁾ Das Herbarmaterial (aus Marienbad i. B.) verdanke ich der Güte des Algologen Herrn S. Stockmayer. Später habe ich lebende Psichoh. gefunden und dieselben gleichfalls geprüft.

²⁾ Hanstein, Verhandlungen des naturhist. Vereins d. preuss. Rheinlande u. Westphalens 1878, S. 73 der Sitzungsberichte.

www.libtool.com.cn

Die zusammenhängenden Panzerröhren sowie die Gürtel sind nach Hanstein von einer deutlichen Membran umhüllt. Die Eisenmasse liege stets unter der äussersten Zellhautschichte. Hier von konnte ich mich an einem Untersuchungsmaterial nicht überzeugen. Direct konnte ich davon überhaupt nichts wahrnehmen, und wenn ich die Eisenverbindung mittelst Salzsäure löste und entfernte, so blieb stets eine farblose, mit Fuchsinslösung leicht deutlich zu machende gallertige Masse von der Form und Dicke der ursprünglichen Röhre zurück. In dieser war das Eisen eingelagert (Fig. 11)¹⁾.

Bekanntlich hat Klebs²⁾ gezeigt, dass eine Reihe verschiedener Algen von einer eigenen Gallerthülle umgeben ist oder solche nur an bestimmten Stellen producirt, welche eine besondere Oberflächenanziehung für Eisenoxyd-, Thonerde- und Chromoxyd-Verbindungen besitzt. Was nun Klebs in seinen Versuchen künstlich hervorruft, geschieht aller Wahrscheinlichkeit nach hier bei *Psichohormium* unter natürlichen Verhältnissen in eisenreichen Wässern. Die Alge bildet Gallerte und lagert Eisenoxyd ein. Ob die Eisengürtel, wie Hanstein annimmt, ursprünglich die Algenfäden als geschlossene Eisenröhren umgaben und diese erst später in Folge von Längenwachsthum der Zellen in mehrere gesonderte Gürtel zerrissen, oder ob die Gürtel gleich von vornherein angelegt werden, wie das bei den bekannten analogen Ablagerungen von kohlensaurem Kalk an Algen (*Oedogonium*) und Characeen nach meinen Beobachtungen der Fall ist, will ich vorläufig nicht entscheiden.

¹⁾ Die Einlagerung von Eisenoxyd in Gallertmassen unter normalen Verhältnissen steht übrigens nicht vereinzelt da; ich erinnere nur an einschlägige Beobachtungen bei Flagellaten (Klebs) und an das markanteste Beispiel in dieser Richtung, an die Eisenbacterien.

²⁾ l. c. S. 333.

www.libtool.com.cn Physiologisch erklärt Hanstein die Eisenablagerung mit der Annahme, dass die nach Kohlensäure gierigen Algen den im Wasser gelösten Spattheisenstein aufnehmen, die Kohlensäure desselben an sich reissen und das mittelst des freiwerdenden Sauerstoffs oxydirte Eisen wieder abscheiden. Diese Erklärung bedarf zwar vorderhand der experimentellen Begründung, sie hat aber jetzt viel für sich, da nach den Untersuchungen von Pringsheim¹⁾ und Hassack²⁾ Wasserpflanzen tatsächlich im Stande sind, einen Theil der Kohlensäure den gelösten Alkalibicarbonaten zu entziehen und zu assimiliren. Es ist daher in hohem Grade wahrscheinlich, dass die oberflächliche Abscheidung von Eisenoxyd bei Psychotrichium und vielleicht auch die anderer, bereits oben genannter Algen mit einer Dissociation des doppelt-kohlensauren Eisenoxyduls durch die Pflanze zusammenhängt, und dass somit gewisse Wasserpflanzen nicht bloss befähigt wären, die für die Assimilation nöthige Kohlensäure Bicarbonaten der Alkalimetalle, sondern auch denen des Eisens zu entnehmen.

B.

Pilze.

Die meisten der untersuchten Pilze entnahm ich v. Thuemen's Sammlung (*Fungi austriaci exsiccati*); ein kleiner Bruchtheil wurde im lebenden Zustande geprüft. Unter etwa 100 Gattungen habe ich, abgesehen von den Eisenbacterien, deren auffallende Eisenspeicherung in einem besonderen Capitel ausführlich geschildert werden soll, Eisen nur nachweisen

¹⁾ Ueber die Entstehung der Kalkinkrustationen an Süßwasserpflanzen. Pringsheim's Jahrb. f. w. B., XIX S. 138.

²⁾ Ueber das Verhältniss von Pflanzen zu Bicarbonaten und über Kalkinkrustation. Unters. a. d. bot. Institut zu Tübingen, II S. 465.

können bei der unter den Namen *Tubercularia vulgaris* auf abgestorbenen Zweigen in Form zinnoberrother Knöpfchen erscheinenden Conidienform von *Nectria cinnabrina* Tode, deren Hyphen mit gelbem Blutlaugensalz schwache Eisenoxyd-Reaction (Grünfärbung) gaben.

Ferner fand ich viel Eisenoxyd in den früher unter dem Namen *Rhizomorpha fusca* Nestl bekannten, auf faulem Holz lebenden strangartigen Dauermycelien. Die quer durchschnittenen Stränge lassen eine dünne, schwarze, glänzende Rinde und eine dicke, helle, bräunliche Markschicht erkennen. Die dichtgefügten Rindenschichten nehmen auf Zusatz von Ferrocyanium und Salzsäure eine tieblaue Färbung an, die von einer in den Membranen und anscheinend zwischen denselben eingebetteten Eisenverbindung herröhrt. Eine andere von mir untersuchte *Rhizomorpha*, die sich in obiger Sammlung unter dem Namen *Rh. aquaeuctorum* Thüm. voraufand, enthielt kein Eisen.

C.

Flechten.

Seit langem sind den Flechtenkundigen gewisse Krustenflechten bekannt, die unter gewissen, noch nicht bekannten Bedingungen anstatt ihrer normalen Farbe in ihrer ganzen Ausdehnung oder partienweise in Folge der Abscheidung einer braunen Eisenverbindung eine rostbraune Färbung annehmen. Solche Flechten bezeichnen die Systematiker als „oxydirte“ Flechten, als „*formae oxydatae*“, „*ochraceae*“ oder als Flechten „*thallo ferrugineo*“. Ich will dieselben im Folgenden kurzweg „Eisenflechten“ nennen.

In der Literatur findet sich darüber, abgesehen von der Erwähnung der nackten Thatsache, äusserst wenig; die Systematiker schenkten derselben nur insofern Aufmerksamkeit, als

sie ihnen Veranlassung zur Aufstellung neuer Formen bot; die Physiologen nahmen davon meines Wissens gar keine Notiz, und so erklärt es sich, dass man selbst in der klassischen, nach jeder Richtung hin so gründlichen Geschichte der Lichenologie von Krempe lhuber¹⁾) jeden einschlägigen Literaturnachweis vermisst.

Der Erste und der Einzige, welcher unseren Flechten einige Aufmerksamkeit schenkte, war Güm bel²⁾). Er zählt eine Reihe von Eisenflechten auf und stellt fest, dass die braune Farbe von einer Eisenverbindung und, wie er überdies bemerkt, von einem pflanzensauren Eisensalz herrührt, ohne aber mit einem Worte den Ort der Abscheidung, d. h. den anatomischen Sachverhalt zu berühren. Mit Rücksicht darauf zog ich auch die als „formae oxydatae“ beschriebenen Flechten in den Kreis meiner Untersuchungen und will, da sie sich in Bezug auf die Eisensecretion im Wesentlichen

¹⁾ Krempe lhuber, A. v., Geschichte und Literatur der Lichenologie etc., 3 Bände 1867—1872, München.

²⁾ Güm bel, C. W., Mittheilungen über die neue Färberflechte *Lecanora ventosa* Ach. Denkschriften der Kaiserl. Wiener Akademie d. Wissenschaften, m.-n. Cl. XI. Bd. 1856 2. Abth. S. 23. — Güm bel's Angabe von dem Vorhandensein des Eisens scheint später wieder in Vergessenheit gerathen zu sein, denn Uloth sagt in seinen „Beiträgen zur Flora der Laubmoose und Flechten etc.“ Flora 1861 S. 570: „Die oxydirten Flechtenkrusten entstehen bekanntermassen dadurch, dass die, besonders in den Zellen der Rindenschicht enthaltenen organischen Verbindungen (Orcin und verschiedene Säuren) durch Einwirkung von Ammoniak eine Zersetzung erleiden, deren Ausgang ein röthlicher Farbstoff ist.“ Hiermit werden die durch verschiedene Flechensäuren rostroth gefärbten Flechten mit den Eisenflechten unrichtigerweise zusammengeworfen. Hingegen hat Th. M. Fries Recht, wenn er von der oxydirten *Acarospora fuscata* (Schrad.) Th. fr. β *rufescens* (Turn) bemerkt: „in acido hydrochlorato si coquitur et cyanetum ferroso-kalicum (K²Cfy) additur, color ille rubiginosus in pulchre caeruleum mox mutatur“. Auf zahlreiche „formae oxydatae“ macht Fr. Arnold aufmerksam, und zwar in seinen: „Lichenologischen Ausflügen in Tirol“ XXI, Verhandl. der zool.-bot. Gesellsch. Wien, Bd. XXX Jg. 1880 S. 112 u. d. f.

gleichverhalten, die Erscheinung an einer typischen Eisenflechte genauer schildern.

Lecidea declinans Nyl.

Der Thallus der von mir untersuchten, auf Syenit und Porphyrr wachsenden Flechte ist mit Ausnahme der kohlschwarzen Apothecien intensiv ockerartig gefärbt. Auf zarten Längs- und Querschnitten durch den Thallus überzeugt man sich, besonders nach Aufhellung in Chloralhydrat, leicht, dass die rostbraune Färbung von kleinen Körnchen herrührt, deren Grösse gewöhnlich zwischen Bruchtheilen $1\text{ }\mu$ bis $3\text{ }\mu$ schwankt und die die äussere Oberfläche der Thallus bildenden Hyphenenden derart incrustiren, dass die oberste Schicht des Thallusdurchschnittes als ein nahezu undurchsichtiger brauner Streifen erscheint. Die Inkrustation ist stets nur auf eine kurze Strecke der senkrecht zur Oberfläche auslaufenden Hyphenenden beschränkt (Fig. 9). So mass beispielsweise die Dicke eines Thallus etwa $430\text{ }\mu$, die inkrustirte Schichte im Maximum aber nur $10\text{ }\mu$.

Die Körnchen treten nicht im Lumen der Zellen auf, sondern liegen an der Aussenfläche der Membran und, wo die Zellhäute sich innig berühren, zwischen den letzteren, hier gewissermassen eine Art Inter-cellularsubstanz bildend. In Folge dieses Umstandes lösen sie sich auch leicht von den Wänden los und schwimmen dann unter lebhafter Brown'scher Molecularbewegung im Beobachtungstropfen umher. In dieser Beziehung verhalten sich die Eisenkörnchen genau so wie die körnigen, aus verschiedenen Flechtenäuren bestehenden Secrete der Flechten: auch diese erscheinen, wie bereits Schwendener¹⁾ richtig

¹⁾ Schwendener, S., Untersuchungen über den Flechtenthallus.
In Nägeli's Beitr. z. wissensch. Bot., II. Heft S. 142.

www.libtool.com
hervorgehoben und nachher Fr. Schwarz¹⁾), den Angaben Borscowa entgegen, bestätigt hat, stets ausserhalb der Hyphen. Die abgelagerte Eisenverbindung bildet eine Art Zwischensubstanz, die von dem farblosen Lumen der Hyphe absticht und der von oben betrachteten Thallusoberfläche unter'm Mikroskop stellenweise ein facettirtes Aussehen verleiht (Fig. 7). In seltenen Fällen können bei sehr starker Eisenabscheidung die Körnchen in Form eines ausserordentlich dünnen Ueberzuges den Thallus geradezu bedecken.

Die Körnchen leuchten im Polarisationsmikroskop bei gekreuzten Nicols nicht auf. Sie lösen sich langsam in concentrirter Salzsäure, geben mit Rhodankalium eine rothe Färbung, mit Schwefelammonium einen schwarzgrünen, mit gelbem Blutlaugensalz rasch einen tiefblauen und mit rothem langsam gleichfalls einen blauen Niederschlag.

Die rostartige, den Eisenflechten eigenthümliche Substanz besteht somit aus einer Eisenoxyd-oxydulverbindung, wobei es zweifelhaft bleibt, ob dieselbe organischer oder anorganischer Natur ist. Gumbel hat zwar bestimmt behauptet, dieselbe gehöre einem „pflanzensauren“ Salz — ein, nebenbei bemerkt, wohl nicht statthafter Ausdruck —, also einem organischen Salz an; allein der Versuch, auf den sich Gumbel hierbei stützt, erscheint mir nichts weniger als beweisend. Er sagt: „Der aus der salzauren Lösung mit Ammoniak gefällte, sorgfältig ausgewaschene Niederschlag gibt beim Erhitzen einen deutlichen brenzlichen Geruch zu erkennen, wie er beim Verbrennen der Flechte selbst wahrgenommen wird. Daraus ist zu schliessen, dass das die Rostfarbe mancher Flechtenspecies verursachende

¹⁾ Schwarz, F., Chemisch-botan. Studien über die in den Flechten vorkommenden Flechtensäuren. In Cohn's Beitr. z. Biologie d. Pflanzen, III. Bd. 2. Heft S. 261.

www.libtoocloud.com Eisensalz eine Verbindung von Eisenoxyd mit einer Pflanzensäure sei, welches Salz in Wasser unlöslich ist¹⁾. Dieser Schluss ist wohl nicht erlaubt. Denn es ist in hohem Grade wahrscheinlich, dass durch die Salzsäure in dem Versuch G ü m b e l ' s auch andere organische Körper aufgenommen und hierauf durch Ammoniak gefällt wurden, welche zur Entstehung eines brenzlichen Geruches Veranlassung geben konnten.

Weit entfernt davon, die Möglichkeit von der organischen Natur der Eisenverbindung zu leugnen, halte ich mich, so lange es nicht gelingt, die ockerartige Substanz in reinem Zustande, also völlig separirt von der Flechte, zu untersuchen, nicht für berechtigt, die G ü m b e l ' sche Schlussfolgerung zu ziehen. In solchen Dingen soll man möglichst rigoros sein und nicht weiter gehen, als es die tatsächlichen Beobachtungen erlauben, weil dergleichen unberechtigte Schlüsse von dem nicht chemisch gebildeten Botaniker gerne als bewiesene Thatsache hingenommen und nur allzu rasch weiter verbreitet werden. —

Um über die Bedingungen, unter welchen eine Inkrustation des Thallus durch Eisenoxydoxydul erfolgt, ein Urtheil zu gewinnen, empfiehlt es sich, möglichst viele Flechten zu untersuchen und bezüglich ihrer Natur und ihrer Lebensbedingungen zu vergleichen²⁾. Im Folgenden gebe ich eine Zusammenstellung der mir bekannt gewordenen Eisenflechten;

1) l. c. S. 38.

2) Der ausgezeichnete Flechtenkenner Fr. Arnold stellte mir in zuvorkommendster Weise zahlreiche von ihm in Tirol gesammelte und bestimmte Eisenflechten, auf welche sich meine Untersuchungen vorzugsweise stützen, zur Verfügung. Ich danke ihm hierfür herzlichst. Manche Exemplare habe ich selbst auf der Spitz des Bösenstein in Steiermark gefunden, einzelne der bekannten Exsiccaten-Sammlung: *Lichenes helveticae* von L. E. Schaeffer entnommen.

www.libtool.com

dieselbe dürfte wohl die meisten, wenn auch nicht alle derselben enthalten. Die mit einem ! versehenen Flechten habe ich selbst anatomisch und chemisch untersucht.

1. *Acarospora fuscata* (Schr.) Th. Fr. forma *sino-pica* Whlbg.!
2. *Aspicilia cinereorufescens* (Ach.) Th. Fr. f. *diamarta* (Ach.).
3. *Aspicilia sanguinea* Kplh. f. *diamarta*.!
4. *Lecidea tesselata* fl. f. *ochracea* Arn.
5. " *lithophila* Ach. f. *ochracea* Ach.
6. " *Dicksonii* Ach. *melanophaea* fr.!
7. " *confluens* fr. f. *oxydata* Koerb.!
8. " *lactea* fl. f. *ochromela* Sch.!
9. " *silacea* Ach. !¹⁾.
10. " *armeniaca*.
11. " *declinans* Nyl.!
12. " *dubia* Schaer.
13. " *declinascens* Nyl.
14. " *Morio* β *cinerea* Schaer.
15. " *subterluescens* Nyl. f. *oxydata* Anzi.!
16. " *petraea* b. *oxydata*.
17. " *platycarpa* Ach. f. *oxydata* Koerb.!
18. " *atrobrunnea* Schaer.!
19. " *albocaeruleascens* Wulf. f. *flavo caeruleascens* (Horn?)!
20. " *confervoides* *oxydata* Schaer.
21. " *crustulata* Ach. f. *oxydata* Rbh.
22. " *contigua* b. *oxydata* fr.
23. *Jonaspis chrysophana* Koerb. f. *oxydata* Arn.

¹⁾ Diese Flechte kommt fast immer als „*Forma oxydata*“ vor; Arnold versicherte mir, dieselbe in Tirol nur in dieser Form gefunden zu haben.

www.libtool.24nrr Rhizocarpon obscuratum Ach. f. oxydatum Koerb. !

25. Urceolaria Oederi Schaer. !

26. " cinerea ochracea Schaer.

Wie das vorstehende Verzeichniß lehrt, beläuft sich die Zahl der jetzt bekannten Eisenflechten auf etwa 26 Arten. Wenn auch die Zahl in Zukunft durch neue Beobachtungen auf das Doppelte anwachsen sollte, so wäre das noch immer eine sehr geringe, ja eine verschwindend kleine Anzahl im Vergleich zu dem grossen Heer der beispielsweise in Deutschland aufgefundenen Lichenen überhaupt, die man auf etwa 1300 Arten schätzt.

Ein Blick auf die Tabelle lehrt weiter, dass alle Eisenflechten sich unter 6, und zwar nahe verwandte Gattungen unterbringen lassen, und dass es durchwegs auf Urgestein lebende Krustenflechten sind. Auf Kalk hat man bisher keine Eisenflechte gefunden. Sie leben auf Granit, Gneiss, Syenit, Phyllit, Porphyry und anderen Urgebirgsgesteinen, und wie schon die oberflächliche Betrachtung lehrt, mit Vorliebe auf eisenreichen. Im Kalkboden treten zwar auch Eisenverbindungen auf, aber doch in viel geringerem Grade als in den krystallinischen Gesteinen, welche gewöhnlich relativ eisenreiche Mineralien bergen. Der Eisengehalt des Kalkbodens ist eben zu gering, um Eisenflechten hervorzubringen. Je eisenreicher der Urgebirgsboden, desto häufiger erscheinen „formae oxydatae“, und die Sammler wissen sehr wohl und bemerken dies auch in den Floren, dass die genannten Formen sich stets auf eisenreichem Substrat ansiedeln. Ich zweifle nicht daran, dass der geringere oder grössere Eisengehalt eines Gesteins eine von den Hauptursachen ist, ob die Flechte einen normal oder einen ockerartig gefärbten Thallus ausbildet. —

Die mit ihren Rhizoiden in das Gestein eindringenden

Flechten lösen offenbar durch saure Ausscheidungen, ähnlich wie die Wurzeln höherer Pflanzen kleine Mengen des Gesteins, beziehungsweise des hier vorhandenen Eisens. Unsere Flechten nehmen nun von dem gelösten Eisen mehr auf, als sie benötigen, und diesen Ueberschuss scheiden sie in Form deutlicher brauner Körnchen an der Oberfläche des Thallus aus. Sowie der kohlensaure Kalk am Blattrande zahlreicher Saxifragen secernirt und hier ein für allemal abgelagert wird, um nie mehr in den Stoffwechsel einbezogen zu werden, so wird bei gewissen Flechten eine Eisenoxydoxydulverbindung — als Auswurfstoff im wahren Sinne des Wortes — ausserhalb der Zellwände deponirt. Wenn man dieses Eisen als Secret bezeichnet, so setzt dies voraus, dass das Eisen auch tatsächlich in der Pflanze darin war und erst später von derselben, um sich einer zu grossen Eisenanhäufung im Innern zu erwehren, nach Aussen geschafft wurde. Denn die andere Möglichkeit, dass die Oxyde des Eisens aus dem über den Thallus von Zeit zu Zeit rieselnden Regen- und Schneewasser durch die Flechte einfach niedergeschlagen werden, hat keine Wahrscheinlichkeit für sich. — Die *Lecidea declinans* besitzt normal, also wenn sie nicht als „forma oxydata“ vorliegt, ebenso wie die anderen hierher gehörigen *Lecidea*-Arten eine weissliche oder blassgraue Farbe. Auch bei den normal gefärbten lässt sich gewöhnlich Eisen in Thallus und Frucht nachweisen, stets aber in unvergleichlich geringeren Mengen als bei den oxydirten Formen.

Geringe Eisenmengen enthalten nicht selten die den typischen Eisenflechten systematisch nahe stehenden Krustenflechten, wofern dieselben auf Steinen leben: *Lecidea*-, *Aspicilia*-, *Lecanora*-, *Bilimbia*- und andere Arten.

Die kohlschwarzen Apothecien der Eisenflechten stechen von dem sie umgebenden „verrosteten“ Thallus auffallend ab.

www.libtood.com

Die schwarze Farbe röhrt von einem schwarzblauen oder schwarzgrünen Farbstoff her, dessen Träger die Spitzen der Paraphysen sind. Unter der Schlauchschicht tingirt ein anderer brauner Farbstoff die Hyphen, der die dunkle Farbe der Früchte mitbedingt. Die Apothecien nehmen nie ein ockerartiges Aussehen an, sie enthalten aber doch etwas Eisen, im Vergleich zu dem Thallus immer aber bedeutend weniger. Auffallender Weise erscheint das Eisen gewöhnlich da, wo der schwarzblaue Farbstoff seinen Sitz hat, also an den Paraphysenden und deren unmittelbaren Umgebung. Dieses Zusammenvorkommen ist so auffallend, dass ich einige Zeit glaubte, die Eisenreaction röhre von dem Farbstoff selbst her. Dies ist nun nicht der Fall; denn wenn man Schnitte mit den schwarzgefärberten Paraphysen auf kurze Zeit ($\frac{1}{4}$ Stunde) in verdünnte Salzsäure legt, so löst sich die Eisenverbindung auf, der Farbstoff aber bleibt zurück. Nun gelingen die Eisenproben mit den Paraphysen nicht mehr. — Aehnlich wie die schwarzen Apothecien unserer Eisenflechten verhält sich der schwarze Hypothallus von *Catocarpus effiguratus* Anzi, *Rhizocarpon geographicum* (L.) Dl., *Sporastatia testudinea* (Ach.) und wahrscheinlich verwandter Krustenflechten.

Abgesehen von den genannten Lichenen führen auch einige im Wasser lebende Flechten Eisenoxydoxydulverbindungen (in leicht nachweisbaren Mengen). Es gehören hierzu: *Polyblastia robusta* Arn., *Verrucaria elaeomelaena* Mass.¹⁾, *V. pachyderma* Arn. und *V. aethiobola*

¹⁾ Im Vorbeigehen sei erwähnt, dass die drei genannten Flechten reichlich fettes Oel enthalten, und dass das fettglänzende Aussehen des Thallus von *Verrucaria elaeomelaena* sich in dessen Umgebung dem nackten Gestein mittheilt. Der Stein fühlt sich auch da, wo mikroskopisch keine Spur von Hypothallus zu finden ist, fettig an, er wird beim

www.libtool.com Wahlb. Spuren enthielten *Jonaspis suaveolens* (Ach.) und *Thelidium aenovinosum* Anzi. Analog wie bei den Eisenflechten liegt auch hier das Eisen in der äusseren peripheren Schicht des dunkelgefärbten Thallus und der Früchte, jedoch nicht in deutlichen, etwa rostrothen Körnchen, sondern in nicht sichtbarer Form und vielleicht auch in anderer chemischer Bindung.

Ueberdies untersuchte ich aus den verschiedensten Familien des Flechtesystems etwa 150 Arten; Eisen habe ich jedoch in der Regel keines oder nur in ganz geringen Spuren vorgefunden. Es zeigt sich also ähnlich so wie bei den Algen und Pilzen, dass leicht fällbares Eisen auch bei den Flechten im Grossen und Ganzen nicht gerade häufig ist, und dass das Vorkommen grösserer Eisenmengen vornehmlich auf die im Urgebirge lebenden Krustenflechten beschränkt erscheint.

D.

M o o s e.

Auch bei der Untersuchung von 100 Moosgattungen mit etwa 250 Arten lernte ich einige bemerkenswerthe Beispiele eisenreicher Pflanzen kennen. Es sind dies fast durchgehends Arten, welche im Wasser, an sehr feuchten Orten oder auf sehr eisenreichem Substrat gedeihen, und die in Folge dessen leicht Gelegenheit finden, sich das hier in grösserer Menge gelöste Eisen zu verschaffen und in erheblichem Grade zu

Erhitzen schwarz und entwickelt Acroleindämpfe. Mir erscheint es wahrscheinlich, dass das poröse Substrat aus den absterbenden Theilen des Thallus Fett aufsaugt und dadurch sein fettes Aussehen erhält. Was das Vorkommen von Fett in Flechten anbelangt, so hat bereits Zukal dasselbe für einige *Verrucaria*-Arten und ferner für *Hymenelia caerulea* Körb. und *Petractis exanthemica* Kb. constatirt (Bot. Ztg. 1886 Sp. 761).

www.libtool.de/chem Besonderes Interesse verdienen in dieser Beziehung die Gattungen *Fontinalis* und *Mielichhoferia*. Da hier die Art des Eisenvorkommens ganz besonders prägnant entgegentritt und sich die andern, weiter unten angeführten Moose wesentlich ebenso und nur graduell anders verhalten, so will ich gerade bei dieser Gattung ein wenig verweilen.

Fontinalis antipyretica L.

Als ich die Blätter dieses in Bächen, Quellen und Teichen häufig vorkommenden Laubmooses mit g. Blutlaugensalz und Salzsäure behandelte, war ich erstaunt über die Intensität der eintretenden Eisenreaction. Alte Blätter färben sich tiefblau, mittelalte grünblau, junge hingegen nicht. Unterm Mikroskop erscheinen die Zellhäute älterer Blätter in Folge ihres Eiseoxydgehaltes schwach hellbräunlich und nach der Ausführung der Reaction als tiefblaue, scharf begrenzte Linien. Am deutlichsten erkennt man dies an den dem Blattrand und der Blattspitze genäherten Zellen. Nur die Membranen zeigen die Reaction; der Zellinhalt lebender Zellen mit allen seinen Inhaltskörpern lässt davon auch nicht die leiseste Spur erkennen¹⁾.

Die Eiseneinlagerung ist an den Randzellen oft eine so mächtige, und die Reaction eine so intensive, dass das mikroskopische Bild der tiefen Blaufärbung undeutlich wird. Derartige

¹⁾ In zahlreichen Blattzellen von *Fontinalis* finden sich häufig eigenthümliche gelbliche bis rothbraune Massen von gewöhnlich halbkugeliger oder unregelmässiger Gestalt, die der Membran aufsitzen und auf's Innigste mit derselben verschmolzen sind. Sie zeigen zumal nach der Behandlung mit Salzsäure oder Kalilauge parallel zu ihrer Oberfläche eine deutliche Schichtung. Obwohl sie in jeder Zelle ohne nachweisbare Ursache entstehen können, bilden sie doch vorzugsweise die an abgestorbenen Zellen angrenzenden Elemente aus. Hierdurch erscheinen derartige tote Zellen wie mit einem Walle umgeben und es macht auf den Beobachter den Eindruck, als ob sich die lebende Zelle gegen den schädlichen Einfluss der absterbenden und abgestorbenen Elemente schützen wollte.

www.libtool.com

Blätter liefern bei der Veraschung ein sehr eisenreiches Kieselskelet. Stellenweise bedecken auch mehr minder grosse Eisenoxydbrocken die Oberfläche des Blattes. Die der Blattoberfläche aufsitzenden epiphytischen Algen wie *Cocconeis communis*, *Navicula*-, *Pediastrum*-, *Scenedesmus*- und *Palmeilla*-Arten erweisen sich in den von mir untersuchten Fällen stets frei von d. Eisen — wieder ein neuer Beweis, dass die Eisenspeicherung eben eine Eigenthümlichkeit bestimmter Pflanzen, in dem vorliegenden Falle der Gattung *Fontinalis* ist, die ihr im Gegensatze zu den auf ihr vorkommenden und unter ganz denselben Bedingungen lebenden Algen in hervorragendem Masse zukommt.

Die Elemente des Stengels speichern das Eisen nicht, die Rhizoiden desgleichen, oder nur in geringem Grade.

Das Eisen ist der Hauptmasse nach in der Oxydform in kleineren Mengen auch als Oxydul vorhanden.

Fontinalis squamosa L. verhielt sich im Wesentlichen ebenso wie die vorige Art; nur hatte die Eisenspeicherung hier in meinem Untersuchungsmaterial einen noch viel höheren Grad erreicht namentlich insofern, als das Eisenoxyd das Blatt oft auf kleinere Strecken in Form einer dünnen Decke inkrustierte.

Die grossen Eisenmengen bei *Fontinalis* legen den Gedanken nahe, dass für das Gedeihen des genannten Mooses eine grössere Eisenmenge nothwendig ist. Wenn dem so wäre, dann sollte man auch bei allen von verschiedenen Standorten herrührenden Individuen grössere Eisenmengen vorfinden.

Der bekannte Mooskenner Herr J. Breidler hatte die Güte, mir auf mein Ersuchen *Fontinalis* von zahlreichen Localitäten zur Verfügung zu stellen, und diese habe ich auf Eisen geprüft.

www.libtool.com.cn

1. *Fontinalis antipyretica* L. von Andritz b. Graz
enthieilt viel Eisen.
- 2a. *Fontinalis antipyretica* L. von Friedberg in Steierm. enthielt viel Eisen.
- 2b. *Fontinalis antipyretica* L. von Salzburg in Steierm. enthielt viel Eisen.
3. *Fontinalis antipyretica* L. von Baden in Nieder-Oesterr. Spuren von Eisen.
4. *Fontinalis antipyretica* v. *gigantea* L. von Kraggan in Steierm. Spuren von Eisen oder gar keines.
5. *Fontinalis squamosa* L. von Todmosden in England sehr viel Eisen.
6. *Fontinalis squamosa* L. von Nieder-Oesterreich sehr viel Eisen.
7. *Fontinalis squamosa* von Eupen (Rheinland) sehr viel Eisen.
8. *Fontinalis squamosa* L. von Schladming (Steierm.) sehr viel Eisen.
9. *Fontinalis squamosa* L. von Friedberg in Steierm.
enthieilt viel Eisen.
10. *Fontinalis squamosa* L. von Schaueregg am Wechsel enthielt viel Eisen.
11. *Fontinalis squamosa* L. von Demmeldorf am Wechsel enthielt viel Eisen.

Ein grösserer Eisengehalt ist, wie die Tabelle lehrt, bei *Fontinalis* die Regel, aber durchaus nicht Gesetz. Die Nummern 3 und 4 enthielten nur Spuren, viele Blätter zeigten gar keine Reaction.

Wenn ich weiter hinzufüge, dass ich Monate lang das genannte Moos in Brunnenwasser, welches nur Spuren von Eisen enthielt, mit bestem Erfolge zog, und dass erst die

www.libtool.com.cn

alteren ausgewachsenen Blätter Eisen in erheblicheren Mengen speichern, so folgt daraus, dass *Fontinalis* zwar Eisen, wofern dasselbe zur Verfügung steht, gierig aufnimmt und aufsammelt, dass aber ein grösserer Eisengehalt für das Fortkommen des Mooses durchaus nicht nöthig ist.

Mielichhoferia nitida N. u. H.

Dieses merkwürdiger Weise gewöhnlich in der Nähe von Kupferbergwerken auftretende Laubmoos erregte deshalb meine Aufmerksamkeit, weil gewöhnlich nur dessen abgestorbene Theile Eisen speichern. Nur der basale Stammtheil mit den braunschwarzen todten Blättern und nur die abgestorbene Seta und Theka führen Eisen. Die Reaction ist bei den genannten Theilen ausserordentlich intensiv und erstreckt sich nicht nur auf die Wand, sondern auch auf den Zellinhalt. Die Erscheinung erklärt sich am einfachsten so: das in der Pflanze aufsteigende Eisen wird in den abgestorbenen Organen theilweise zurückgehalten und im Laufe der Zeit in auffallenden Mengen gespeichert, in den lebenden Theilen hingegen assimiliert und in die maskirte, nicht direct nachweisbare Form übergeführt. Bemerkenswerth erscheint die Thatsache, dass die erwähnte Erscheinung nur solche Individuen zeigten, welche auf einem sehr eisenreichen Boden wuchsen, Exemplare von eisenarmem Graphitschiefer aber auch nicht im geringsten Grade.

Durch die beiden im Vorhergehenden geschilderten zwei Beispiele habe ich das Auftreten von Eisen bei den Moosen zu kennzeichnen versucht.

Was die anderen eisenspeichernden Moose anbelangt, so handelt es sich auch bei diesen, soweit meine Erfahrungen reichen, stets um eine Ansammlung des Eisens in oder auf

www.libtool.com.cn

der Membran oder um beides zugleich, doch niemals um eine Anhäufung im lebenden Zellinhalt.

Schliesslich lasse ich eine Zusammenstellung jener Moose folgen, bei welchen ich das Vorkommen von Eisen durch deutliche oder intensive Reactionen feststellen konnte. Ein dem Namen beigefügtes ! bezeichnet grossen, !! sehr grossen Eisengehalt.

Nach meinen Erfahrungen übt, abgesehen von der specifischen Eignung des Mooses zur Eisenansammlung, der Eisengehalt des Substrates den grössten Einfluss auf den der Pflanze, und so wird es erklärlich, warum ein und dieselbe Art von verschiedenen Standorten sich bezüglich der Intensität der Eisenreactionen nicht selten verschieden verhält. Von diesem Gesichtspunkte möge man auch das folgende Verzeichniss betrachten.

Eisenspeichernde Lebermooe:

Jungermannia inflata Huds. !

„ *obovata* Nees !

„ *polyanthos* L.

Riccia fluitans L. !

Eisenspeichernde Laubmooe:

Andraea petrophila Ehrh. ! (Nur auf gewissen Standorten eisenreich.)

Coreinodon cribrosus Hedw. !!

Fontinalis antipyretica L. !!

„ *squamosa* L. !!

Hypnum fluitans L.

Mielichhoferia nitida N. u. H. !

Schistidium alpicola (Sw.) var. *rivulare* Wahlbg. !!

Sphagnum recurvum P.B. ! Die abgestorbenen Theile.

Wenig oder Spuren von Eisen enthalten gewöhnlich folgende Moose in ihren älteren Theilen:

- Andreaea nivalis* Hook.
Brachythecium rivulare Br. eur.
Cinclidotus aquaticus L.
Fissidens grandifrons Brid.
Geheobia cataractarum Schimp.
Grimmia Hartmanni.
Mnium hornum L.
Racomitrium lanuginosum Brid.
Rhynchostegium rusciforme Weis.
Scapania undulata Nees.
Sphagnum — die meisten Arten.
Tortula latifolia Bruch.

E.

S a m e n .

Ein besonderes Interesse erheischt das Auftreten des Eisens in den Samen. Dass es in denselben vorhanden ist, haben zahlreiche Analysen gelehrt. Es muss dies aber auch aus der von Sachs festgestellten Thatsache gefolgert werden, dass junge Sämlinge in der ersten Zeit ihrer Entwicklung, ohne von aussen Eisen zu erhalten, gut gedeihen und grüne Blätter entwickeln. Das zur Entstehung von Blattgrün nothwendige Eisen musste also schon im Samen deponirt gewesen sein, und erst nach dem Aufbrauch dieses Reserve-Eisens werden die Blätter bleich oder chlorotisch.

Der Versuch, das Eisen direct im Samen nachzuweisen, ist bisher Niemandem geglückt, und doch gelingt derselbe mit Sicherheit, falls man das richtige Material hierzu auswählt und methodisch vorgeht. In vorzüglicher Weise lässt sich das Vorkommen und die Localisation des Eisens bei den Cruciféren, beispielsweise beim weissen Senfsamen, studiren.

www.libtool.com *Sinapis alba.* Der Same besteht aus der Samenschale, sodann aus dem aus zwei in einander gefalteten Keimblättern und dem Würzelchen aufgebauten Embryo. Ein Endosperm fehlt bekanntlich den Cruciferen. Nach der Quellung des Samens lässt sich der Embryo durch leichten Druck aus der Samenschale herausquetschen und in die einzelnen Theile zerlegen. Lässt man den Embryo oder dessen Organe einige Zeit ($\frac{1}{2}$ Stunde) in Blutlaugensalz und dann in Salzsäure (20 %) liegen, so erhält man ein auffallendes und überraschend schönes Bild: das vorher unsichtbare Procambiumnetz der Keimblätter tritt als blaues zierliches Geäder mit grosser Deutlichkeit in Erscheinung, genau so, als ob man dasselbe mit irgend einem blauen Farbstoff ausgefärbt hätte (Fig. 2). Die Eisenreactionen können in diesem Falle thatsächlich dazu benutzt werden, den Verlauf der Gefäßbündelanlagen zur Ansichtung zu bringen. Zu demselben Resultat gelangt man übrigens auch, wenn man direct die beiden Reagentien auf dem Objectträger einwirken lässt. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde erreicht die Färbung die höchste Intensität, und wenn dann das Object in Chloralhydrat gebettet wird, so gewinnt es noch an Klarheit und Durchsichtigkeit.

Querschnitte lehren deutlich, dass vorzugsweise die peripheren Elemente der Gefäßbündelanlagen, und hier ganz besonders die jungen Scheiden, das Eisen speichern, wie man namentlich an dem Centralstrang der Wurzel sehen kann (Fig. 1).

Das Eisen liegt im Zellinhalt, und zwar vorzugsweise in Form einer Oxydverbindung. In der Samenschale fehlt es.

Während der Keimung verschwindet diese Eisenverbindung innerhalb der ersten oder zweiten Woche völlig, gleichgültig ob man die Keim-

www.libtool.collegen im Lichte oder im Finstern zieht. Das Eisen tritt eben in die maskirte Form ein.

Das von Sinapis Gesagte gilt zweifellos für die Mehrzahl der Cruciferen, ganz bestimmt aber für *Brassica nigra*, *B. oleracea*, *B. Napus*¹⁾, *Raphanus sativus*, *Rapistrum perenne*, *Capsella bursa pastoris*, *Peltaria alliacea* und *Arabis Turrita*.

Gramineen. Bei den Gräsern, deren Samenkern der Hauptsache nach aus einem Endosperm und nur zum geringen Theile aus einem winzigen Embryo besteht, sitzt das Eisen ausschliesslich in dem Keimblatt oder Scutellum, ein Theil auch in der Kleberschicht, und zwar vorzugsweise in jenem Theil, welcher den Embryo umspannt. Der übrige Theil des Endosperms reagirt direct nicht auf Eisen.

So fand ich den angedeuteten Sachverhalt bei Weizen, Roggen, Gerste, Hafer und Mais. Im Keimblatt fungirt hauptsächlich die an das Nährgewebe anstossende und unterhalb des Epithels liegende Gewebepartie als Eisenspeicher. (*Zea*)

Im Allgemeinen lässt sich nach meinen, auf zahlreiche Familien ausgedehnten Untersuchungen sagen, dass überall da, wo der Samen Endosperm, bzw. Perisperm und Embryo enthält, gewöhnlich der Embryo allein in den Procambiumsträngen, zumal in den

¹⁾ Die von A. Johnstone („Der Farbstoff in der Samenschale des Rapses, *Brassica Napus*“, Nature 1888, Vol. XXXIX, p. 15) aufgestellte Behauptung, die dunkelbraune Färbung der Samenschale des Rapses röhre von einer die Zellhäute tingirenden Ferriverbindung, und zwar von Eisoxyd oder Limonit her, beruht offenbar auf einem Irrthum. Die braunen Zellwände reagiren gar nicht direct auf Eisen, sie enthalten dasselbe nur in maskirter Form, und wenn dieses schliesslich in der Asche zu Tage tritt, so ist man wohl nicht berechtigt, dasselbe auf den braunen Farbstoff zu beziehen. Vergleiche darüber auch meine „Histo-chemie der pflanzlichen Genussmittel etc.“. Jena 1891. S. 30.

www.libtoocorp.org peripheren Theilen derselben, das Eisen führt, das Endosperm gar nicht oder nur in Spuren (*Ricinus*, *Coniferen*). Intensive Eisenreactionen gibt der Embryo bei zahlreichen Gramineen, Chenopodiaceen, Amaranthaceen, Caryophylleen, Cruciferen und Violaceen, schwache bei den Solaneen, Euphorbiaceen, Verbenaceen und vielen Coniferen, gar keine bei Ranunculaceen (*Ranunculus acris*, *Thalictrum minus*, *Clematis angustifolia*).

Die fast oder ganz endospermlosen Samen der Labiaten, Cannabineen, Cucurbitaceen und Papilionaceen enthalten viel, die der Compositen sehr wenig Eisen.

Bei *Calendula officinalis* fand ich insofern eine Abweichung, als das Eisen hier, abgesehen von den Procambiumsträngen, auch in der Epidermis des Embryo abgelagert ist. —

Trapa natans. Einen ganz merkwürdigen Eisenreichtum weist die Fruchtschale der Wassernuss auf. Die etwa 1 Millimeter dicke dunkle Schale stellt vielleicht das eisenreichste Gewebe dar, das es überhaupt gibt. Erreicht der Prozentgehalt in der Asche der Vegetationsorgane hier schon eine ganz abnorme Höhe (23—29 %), so gilt dies in noch viel höherem Maasse von der Schale der Frucht, denn die Asche derselben enthält etwa 68 %¹⁾) Eisenoxyd!

Ein Extract aus der Schale in verdünnter Salzsäure, Schnitte und die Asche, welche nebenbei bemerkt wie Eisenocker aussieht, geben intensive Eisenreactionen.

Das gegen die Oberfläche zu dichtere, fast sklerenchymatische Gewebe geht nach Innen zu in ein lockeres Parenchym über. Die peripheren Zellen enthalten braunen bis schwarzen

¹⁾ Wolff, E., Aschenanalysen von landwirthschaftlichen Producten. Berlin 1871. S. 133.

www.libtool.com/CH Inhalt, das Parenchym vorwiegend Luft. Der dunkle Inhalt und alle Membranen reagiren auf Eisenoxydoxydul.

Welche Bedeutung die ganz vereinzelt dastehende Eisenanhäufung in der Fruchtschale der Wassernuss hat, darüber lässt sich wohl heute Bestimmtes nicht aussagen. Wenn man jedoch erwägt, dass das Eisen in der Natur die Rolle eines Sauerstoffüberträgers spielt, und dass die Wassernuss tief im Wasser untergetaucht zu keimen vermag, also da, wo andere Samen in Folge mangelhaften Sauerstoffs niemals zur Keimung gelangen würden, so drängt sich unwillkürlich die Vermuthung auf, dass möglicherweise das Eisen der Schale den im Wasser vorhandenen Sauerstoff gierig bindet und ihn dann dem Embryo während der Keimung überlässt. Die Richtigkeit dieser Vermuthung vorausgesetzt, müsste die Keimung entschälter Wassernüsse unter Wasser unterbleiben oder langsamer verlaufen. Leider stand mir keimfähiges Material nicht zu Gebote, und ich war deshalb ausser Stande, die geäusserte Vermuthung auf ihre Richtigkeit zu prüfen. Ueber die Bedeutung des Eisens im Samen werde ich in einem späteren Capitel, welches sich mit dem maskirten Eisen des Samens beschäftigen wird, meine Ansichten mittheilen. So viel über die Samen.

Nach dem Gesagten darf es nicht überraschen, dass auch in anderen Reservestoffbehältern Eisen deponirt wird; ich habe solches in den jungen Gefäßbündeln der Zwiebelschuppen der gemeinen Küchenzwiebel (*Allium Cepa*) (ein sehr geeignetes Object!), ferner in den Knollen der Kartoffel und im Rhizom der Schwertlilie gefunden. Für den Nachweis des Eisens erscheint es in diesen Fällen zweckmässig, eine dicke Scheibe aus den genannten Organen mit g. Blutlaugensalz und Salzsäure zu betupfen. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde etwa geben sich dann die Gefäßbündel in Folge ihres Eisengehaltes durch ihre blaue Farbe zu erkennen. Nach genaueren Untersuchungen an der Zwiebel

www.libtockholm.se hat das Eisen im Inhalt der jungen Gefäßbündelscheiden-elemente und der Phloemzellen seinen Sitz. Dass in allen diesen Organen neben dem fällbaren Eisen überall auch mas-kirtes nachweisbar erscheint, sei nebenher erwähnt.

In den Laubknospen habe ich in der Regel kein fäll-bares Eisen gefunden. (*Aesculus Hippocastanum*, *Fa-gus silvatica*, *Viburnum Lantana*, *Syringa vul-garis*, *Syphoricarpus racemosus*, *Cornus alba*, *Cytisus Laburnum*.) Spuren davon zeigten sich in dem jungen Gefäßbündelring an der Basis der Knospen von der Hainbuche.

III. Abschnitt.

Vorkommen und Verbreitung des maskirten Eisens.

In den vorhergehenden Capiteln habe ich alle jene Vorkommnisse von direct fällbarem Eisen, die mir im Laufe meiner Untersuchungen bekannt geworden sind, besprochen. Es hat sich hierbei als Hauptresultat herausgestellt, dass derartiges Eisen zwar bei vielen Gewächsen constatirt werden konnte, dass aber dasselbe, wenn man von den Reservestoffbehältern grüner Pflanzen, von Algen und Moosen absieht, nicht gerade häufig, ja von den Gefässkryptogamen aufwärts überhaupt eine Seltenheit ist. Dieses Resultat scheint auf den ersten Blick in Widerspruch zu stehen mit den Erfahrungen der Chemiker, denen zufolge Pflanzenaschen gewöhnlich Eisen enthalten. Zur Orientirung des zuletzt Gesagten schlage man nur Wolff's bekanntes Werk „Aschenanalysen“ auf oder blicke in Ermangelung dieses die beiden folgenden daraus von mir construirten Tabellen an. Es erhellt daraus, dass Eisen in verschiedenen Organen der Pflanze anzutreffen ist, gewöhnlich in nicht sehr bedeutenden (Tab. 1), manchmal jedoch in ziemlich grossen Mengen (Tab. 2).

¹⁾ Wolff, E., Aschenanalysen. Berlin 1871.

Tabelle 1.

100 Theile Reinasche enthalten Fe_2O_3 in Procenten:

	Samen	Wurzel	Blätter
Futterrunkelrübe	0,46	0,76	1,32
Turnips (Brassica)	1,97	1,07	1,29
" "	—	5,99	2,60—6,18
Möhre	0,99	1,20	2,74
Cichorie	0,87	2,62	1,98
Artischocke	—	0,51	1,51
Kohlrabi	—	0,46	6,05
Rettig	—	1,16	8,72
Rübsen	0,48	—	—
Krapp	3,74	1,18	—
Wallnuss	1,32	—	0,42
Buche	2,66	—	1,44
Orangenbaum	0,80	1,02	0,52
Kiefer	3,01	—	4,63
Tanne	1,31	—	1,19
Lupine, gelb	0,61	—	7,40

Tabelle 2.

100 Theile Reinasche enthalten Fe_2O_3 in Procenten:

<i>Festuca elatior</i>	4,36
Spinat	4,60
<i>Carex vesicaria</i>	4,90
Lärchennadeln	6,41
Lauch, Zwiebel	7,04
Rettigblätter	8,72
<i>Juncus conglomeratus</i>	2,70—9,03
Kiefernadeln	8,08
Leinfaser	3,95—9,15
<i>Lemna trisulca</i>	9,89
Kieferholz	10,00
<i>Elodea canadensis</i>	1,70—10,23

Sphagnum palustre	13,60
Fichtenholz	14,03
Parmelia-Arten	14,37
Chlorangium Jussuffii	19,01
Theeblätter	4,75 — 19,31 ¹⁾
Trapa natans, Pflanze	26,51
" Fruchtschale	68,60

So weist, um nur ein Beispiel herauszugreifen, Kiefernholzasche etwa 10 Procent Eisenoxyd auf. Das Holz aber, direct auf Eisen geprüft, gibt ein negatives Resultat.

Dieser Widerspruch schwindet sofort, wenn ich mittheile, dass die Hauptmasse, ja man kann sagen, nahezu das ganze Eisen in organischer maskirter Form in der Pflanze steckt²⁾ und dass ich bei keiner der Hunderten von mir untersuchten Pflanzen solches Eisen vermisste. Mit Hilfe meiner Kali-Blutlaugensalzprobe konnte ich die weite Verbreitung des maskirten Eisens in der Pflanze, in ihren Organen, Geweben und Zellen auf das Genaueste verfolgen und aus der verschiedenen Intensität der Reaction auch einen Rückschluss auf die Vertheilung und die Localisation desselben machen.

In Anbetracht der allgemeinen Verbreitung des maskirten Eisens in der Pflanze hätte es wenig Sinn, eine grosse Reihe von Beispielen zu behandeln; hier genügt es, zur Orientirung und Darstellung des Sachverhaltes einige wenige Fälle zu schildern und daran jene Vorkommnisse zu reihen, die in physiologischer Beziehung von Wichtigkeit sind.

¹⁾ Sollte dieser hohe Eisengehalt nicht zum Theil von einer sog. Farbaufbesserung durch Eisensalze herrühren?

²⁾ Ich habe mehrere Thatsachen kennen gelernt, welche darauf hindeuten, dass sich die Sache im thierischen Organismus ebenso verhält. Uebrigens hat Bunge bereits gezeigt, dass das Eisen im Eidotter und in der Milch nicht in salzartiger, sondern in fester organischer Bindung auftritt. Lehrbuch der physiol. u. pathol. Chemie. Leipzig 1889. S. 91.

Capsella bursa pastoris.

Die Pflanze stammte aus dem Freien. Die Methode des maskirten Eisennachweises war die auf Seite 6—11 geschilderte. Quer- und Längsschnitte durch die verschiedenen Organe wurden durch 8 Tage in gesättigte Kalilauge eingelegt und dann auf Eisen geprüft. Wenn nicht ausdrücklich etwas Anderes bemerkt ist, bezieht sich die Blaufärbung auf die Zell-Membran.

Wurzel. Die Schnitte geben längs ihrer ganzen Ausdehnung sehr starke Reaction. Epidermis, Rindenparenchym, Phloem-, Holz- und Wurzelhaubenzellen färben sich tiefblau. Mit einem Worte: alle Elemente der Wurzel, bei den Rindenparenchymzellen auch der Zellinhalt.

Stengel. Die Schnitte werden tiefblau. Die Oberhaut gibt sehr starke, das chlorophyllhaltige Rindenparenchym in den Wänden sehr schwache, im grünen Inhalt anscheinend keine Reaction. Hingegen enthalten die Phloem-, Holz-, Cambium- und Markzellen viel Eisen. Besonders das Stranggewebe erscheint beinahe schwarzblau. Also auch im Stengel enthalten alle Zellen Eisen.

Blatt.

- a) Blattstiel beziehungsweise Mittelrippe der Blattspreite. Alle Zellen eisenhaltig.
- b) Blattspreite. In der Epidermis, den Haaren und dem Stranggewebe viel Eisen. Im chlorophyllhaltigen Mesophyll sehr wenig. Hier nur die Wände etwas, der grüne Inhalt nicht deutlich gefärbt.

Da, wo der Zellinhalt der chlorophylllosen Elemente erhalten ist, erweist auch dieser sich als eisen-

haltig. Das Eisen ist in der Blattlamina deutlich localisirt, denn das Stranggewebe und die Epidermis enthalten relativ viel, das Mesophyll fast gar kein Eisen. Die beiden zuerst genannten Gewebe heben sich bei schwacher Vergrösserung durch ihre tiefblaue Farbe von dem letzteren ab.

Blüthe. Der Eisengehalt ist hier entschieden geringer, als bei den anderen Organen der Pflanze. Es färben sich zwar alle Theile der Blüthe (Kelch-, Blumen-, Staubblätter, Pollen, Carpelle, Samenkospfen) blau, aber ich konnte wegen der geringen Intensität der Färbung unmöglich entscheiden, ob alle Zellen gefärbt sind. Am deutlichsten zeigen die Reaction stets die verholzten Elemente. Sicherlich enthält auch der Pollen Eisen, und zwar nicht nur die Wand, sondern auch der Inhalt.

Reife Frucht. Abgesehen von der Scheidewand, die farblos bleibt oder sich nur stellenweise ganz schwach färbt, wird die ganze Frucht tiefblau. Die unreife, noch grüne Frucht enthält entschieden weniger Eisen, wie man namentlich an den faserartigen Elementen ersehen kann. Diese verholzen nämlich mit dem Reifen bezw. dem Trockenwerden der Frucht immer mehr und mehr, und mit dem Grade der Verholzung scheint auch ihr Eisengehalt zuzunehmen.

In vielen, namentlich parenchymatischen Zellen enthält auch der Inhalt Eisen.

Same. Ueber den Eisengehalt des Samens gilt das bereits auf S. 38 Gesagte. Es sei hier nur kurz mitgetheilt, dass der Same im Procambiumnetz des Embryo direct fällbares, und dass überdies alle

www.libtool.com.zo Zellen Eisen in maskirter Form enthalten, theils in der Membran, theils im Inhalt, theils in beiden.

Aus dem Obigen geht hervor, dass *Capsella b. p.* in den meisten Zellen mehr minder grosse Mengen von maskirtem Eisen enthält, im Procambiumnetz des Samens auch direct fällbares.

Selaginella cuspidata.

Wurzel. Alle Zellen stark eisenhätig. Auch die Wurzelhaare. Bei vielen auch der Inhalt.

Stengel. Wand und Inhalt fast aller Zellen stark eisenhätig.

Blatt. Epidermis und Gefässbündelelemente enthalten viel Eisen. Hingegen lässt sich in den Mesophyllzellen nur sehr wenig oder gar kein Eisen nachweisen.

Die Makro- und Mikrosporangien enthalten in allen ihren Theilen Eisen, desgleichen die Makro- und Mikrosporen.

Aspergillus niger von Tieghem.

Es enthalten alle Zellen dieses Pilzes Eisen. Die Hyphen erscheinen nach der Eisenreaction häufig tiefblau, ihr Inhalt hebt sich gewöhnlich als eine perlchnurartige blaue Linie von der Wand ab.

Die Conidienträger enthalten in ihrer aufgeblasenen Spitze viel Eisen, ebenso die Sterigmen, anscheinend weniger die Sporen. Doch ist in den etwas grösseren der Eisengehalt an der deutlichen Blaufärbung unzweifelhaft zu erkennen.

Usnea barbata.

Alle Elementarorgane der Pflanze, die des Thallus, der Apothecien einschliesslich der Schläuche und deren Sporen

www.libtool.com geben mehr minder deutliche Eisenreaction — mit Ausnahme der grünen Gonidien. Es verhalten sich also diese wie die meisten chlorophyllhaltigen Mesophyllzellen höherer Pflanzen. Das Eisen liegt vornehmlich in den peripher gelegenen Zellen der Flechte.

Mit diesen wenigen, aus den verschiedensten Abtheilungen des Pflanzenreichs herausgegriffenen Beispielen sind selbstverständlich meine Untersuchungen über die Verbreitung des maskirten Eisens noch nicht erschöpft. Im Laufe der verflossenen zwei Jahre habe ich dieselben auf Hunderte von Gewächsen ausgedehnt — man vergleiche diesbezüglich auch die Versuche mit Pilzen auf S. 102 —; da ich aber im Grossen und Ganzen zu demselben Resultate gelangte, so sehe ich, abgesehen von einigen gleich zu behandelnden Eisenvorkommnissen, von einer weiteren Detailschilderung ab.

Alle meine Erfahrungen zusammengenommen gestatten den Schluss, dass jede Pflanze Eisen enthält, und wenn diese mehrzellig ist, auch die meisten ihrer Zellen, bald im Inhalt, bald in der Wand, bald in beiden.

Ob auch jede Zelle Eisen führt, wage ich nicht zu entscheiden, weil ich dasselbe nicht in jeder nachweisen konnte. Wenn man jedoch bedenkt, dass die Empfindlichkeit jeder Reaction schliesslich ihre Grenzen hat, zumal unter'm Mikroskop, wo ja aus naheliegenden Gründen Farbenreactionen stets schwächer erscheinen müssen, und in Folge dessen sehr geringe Spuren des Eisens nicht mehr angezeigt werden, so wäre es trotz meiner negativen Resultate noch immer möglich, dass auch jede Zelle Eisen enthält.

Bei meinen Untersuchungen habe ich bemerkt, dass die verholzten Zellwände stets maskirtes Eisen in relativ grossen Mengen enthalten und dass die

www.lib.tum.de Eisenanhäufung mit dem Grade der Verholzung gleichen Schritt hält. Es speichern zwar häufig auch unverholzte Wände Eisen in grösseren Mengen, ja nicht selten in noch bedeutenderem Masse (Bast-, Collenchym-, Mark-, Epidermiszellen); aber es ist dies nicht so gesetzmässig der Fall, wie bei verholzten Zellwänden. Es geht daraus von Neuem die Richtigkeit der von Wiesner zu wiederholten Malen ausgesprochenen Ansicht hervor, dass die vegetabilische Zellhaut, zumal die verholzte, eine sehr complicirte chemische Zusammensetzung besitzen muss¹⁾. —

Hier muss ich noch einer auffallenden localisirten Eisenansammlung gedenken, die ich in gewissen Zellen bei *Ceratophyllum demersum* L. und bei *Sedum Telephium* L. beobachtet habe.

Aeltere Blattzipfel von C. d. bergen im Mesophyll zerstreute parenchymatische Zellen, die sich bei greller Beleuchtung in Folge von Anthokyanbildung roth färben. Nach Durchführung meiner Reaction bläuen sich zwar alle Zellen, aber die anthokyanhältigen so intensiv (Fig. 4), dass man hier unwillkürlich an eine Beziehung des Farbstoffes zum Eisen denkt. Existirte eine solche wirklich, dann könnte sie darin bestehen, dass das Anthokyan selbst eine Eisenverbindung darstellt oder aus einer solchen entsteht, oder dass sich der Farbstoff hier an eine Eisenverbindung kettet²⁾). Keine dieser Möglichkeiten lässt sich mit Sicherheit aus meiner Beobachtung ableiten, denn es könnte ja das Eisen einer Ver-

¹⁾ Wiesner, J., Die Elementarstructur und das Wachsthum der lebenden Substanz, Wien 1892, S. 140.

²⁾ Unter den Farbstoffen, welche die Farbe dunkler Weintrauben hervorrufen, soll sich nach Arm. Gautier neben einem rothen eisenfreien ein blauer befinden, welcher ein Eisensalz von der Formel $C_{68}H_{60}FeN_2O_{30}$ darstellt. Siehe Bulletin de la société chimique de Paris 1879, nouv. sér. T. 32, S. 103.

www.libtool.com.cn

bindung angehören, die mit dem Anthokyan gar nichts zu thun hat und die sich aus ganz anderen Ursachen gerade in den rothen Zellen anhäuft¹⁾). Ganz ähnlich verhält sich die Sache bei *Sedum Telephium*, und ganz besonders auffallend tritt die Localisation des Eisens bei den im Siebtheil der primären Gefäßbündel von *Phaseolus multiflorus*-Keimlingen vorkommenden sog. Gerbstoffschlorächen hervor. Diese im Epicotyl und Hypocotyl durch rothen Farbstoff ausgezeichneten Schlüche färben sich nach Behandlung mit g. Kalilauge und Blutlaugensalz tiefblau und erscheinen mit ihrem Inhalt schon bei schwacher mikroskopischer Vergrößerung dem Beobachter als dunkelblaue Linien (Fig. 5).

Ueber die Natur der in der Pflanze vorkommenden Eisenverbindungen lässt sich vorläufig nichts Genaueres aussagen, nicht einmal darüber, ob die direct nachweisbaren organische oder anorganische Verbindungen sind. Die Bemerkungen Zaleski's²⁾: „Wie bekannt, geben gelbes und rothes Blutlaugensalz und Rhodankalium nur mit unorganischen Eisenverbindungen eine unmittelbare Reaction, mit organischen

¹⁾ Der vorliegende Fall hat mich zu einer Reihe von Ernährungsversuchen mit stark anthokyanhaltigen Pflanzen (Rothkraut, *Iresine Lindeni*, *Achyranthes Verschaffelti*, *Perilla nankinensis* und *Coleus*) angeregt, um zu eruiren, ob sich denn eine Beziehung zwischen Eisen und Anthokyanbildung erkennen lässt, etwa so wie zwischen diesem Metall und der Chlorophyllbildung. Ich cultivirte Sämlinge und Stecklinge der genannten Pflanzen in completen Nährösungen mit und ohne Eisen und fand thatsächlich, dass die „eisenfreien“ Pflanzen bald bleicher werden und entschieden weniger rothen Farbstoff bilden im Vergleich zu den Eisenpflanzen. Dies ist aber erst dann zu beobachten, wenn die Pflanzen in Folge von Eisenmangel aufhören, Chlorophyll zu erzeugen. Damit tritt aber eine Stockung der Assimilation und des normalen Stoffwechsels ein; die verminderte Anthokyanbildung könnte nur eine Folge der Chlorose sein, so dass uns das Ergebniss der Versuche keine bestimmte Antwort auf unsere obige Fragestellung geben kann.

²⁾ Studien über die Leber, Zeitschr. f. physiol. Chemie. X. 1886. S. 480.

www.libtool.com.cn
aber — nur bei Gegenwart freier Salzsäure, und zwar, wie ich (Zal.) es ermittelte, in einer stärkeren Concentration als 1%o.“ Und ferner: „Tannin und Salicylsäure geben überhaupt nur mit unorganischen Eisenverbindungen eine Reaction, während sie sich für die organischen ganz inaktiv zeigen“ — müssen auf einem mir unerklärlichen Irrthum beruhen. Ich wenigstens finde, dass zahlreiche organische Eisensubstanzen, wie z. B. citronsaures, oxalssaures, weinsaures, benzoesaures, gerbsaures, milchsaures und essigsaures Eisen mit gelbem Blutlaugensalz direct, und zwar ohne jedweden Zusatz von Salzsäure, das Eisen anzeigen und dass Tannin und Salicylsäure auch mit organischen Eisenverbindungen reagiren. Es ist daher derzeit nicht möglich, aus der Natur des angewandten Reagens einen Schluss auf die organische oder anorganische Qualität der betreffenden Eisenverbindung zu ziehen. Das aber ist sicher, dass nach meinen Untersuchungen alles maskirte Eisen der Pflanze, also die Hauptmasse, in organischer Bindung vorliegt, da es ja gar keine anorganischen maskirten Eisenverbindungen giebt. Aber auch die direct in den Gewächsen nachweisbaren Eisenverbindungen dürften wenigstens zum Theil an organische Körper gekettet sein. —

Wir können schliesslich noch die Frage aufwerfen, warum denn eigentlich die Pflanze die von ihr aus dem Boden oder dem Wasser aufgenommenen mineralischen Eisensalze gewöhnlich so rasch in die organische Bindung überführt. Obwohl die Pflanze mit dem merkwürdigen Vermögen ausgestattet ist, die ihr nothwendigen mineralischen Salze, darunter auch die Eisensalze, selbst wenn dieselben in ausserordentlich verdüntter Form zugegen sind, sich, man möchte sagen, bis auf

www.libtool.com.cn

das letzte Molekül zu verschaffen und auch bis zu einem gewissen Grade zu speichern, so ist es unter normalen Verhältnissen bei den Phanerogamen, abgesehen von den Samen, in der Regel gar nicht möglich, das Eisen hier direct nachzuweisen. Dies könnte allerdings seinen Grund darin haben, dass zu verdünnte Lösungen aufgenommen werden. Allein diese müssten ja mit der Zeit in Folge der Speicherung zur Wahrnehmung gelangen. Dies ist nun nicht der Fall, weil sie eben alsbald in die maskirte Form übergeführt werden.

In der Pflanze existiren zahlreiche organische Substanzen, — man denke nur an die „Gerbstoffe“, an das Anthokyan u. v. a. —, welche mit den mineralischen Eisensalzen direct in Reaction treten und damit für die Zelle untaugliche oder sogar giftige Verbindungen abgeben würden. Auch würde das anorganische Eisensalz an und für sich, wenn es selbst nur zu einer mässigen Ansammlung desselben in der lebenden Zelle käme, als Gift auf das Protoplasma wirken. Von diesem Gesichtspunkte erscheint es daher ganz begreiflich, warum sich der lebende Organismus so sehr beeilt, das Eisen so rasch als möglich in eine für das Protoplasma unschädliche Form zu bringen.

Ich kann daher Kunkel¹⁾ nur beistimmen, wenn er sagt: „Es ist teleologisch gar nicht anders denkbar, als dass der Organismus, wenn er im Eidotter dem werdenden Thier, im Samenkorn der künftigen Pflanze, im mütterlichen Blute dem wachsenden Fötus Eisen zuführen wollte, dieses Eisen in eine Form einhüllen müsste, in der jede Aetzwirkung ausgeschlossen, die verwundende Spitze des Eisens gleichsam verdeckt war. Das ist durch die organische Bindung erreicht.“

¹⁾ Kunkel, A. J., Zur Frage der Eisenresorption. Pflüger's Arch. f. d. ges. Physiologie des Menschen u. der Thiere. 50. Bd. 1891. S. 19.

Die Globoide der Proteinkörner als Eisenspeicher.

Die von Hartig entdeckten und später von Pfeffer¹⁾ ausführlich studirten Aleuron- oder Proteinkörner finden sich bekanntlich in allen, besonders reichlich aber in allen fett-haltigen Samen vor, wo sie die Rolle von Reservestoffen spielen. Die Aleuronkörner bestehen aus krystallisirtem oder amorphem Eiweiss und zweierlei Einschlüssen. Die letzteren sind entweder Krystalle von Kalkoxalat oder runde, traubige Körper: Globoide. Während die Krystalle von oxalsaurem Kalk in den Proteinkörpern nur eine beschränkte Verbreitung haben, fehlen die Globoide keinem Samen.

Nach den Untersuchungen von Pfeffer bestehen die Globoide aus dem Kalk- und Magnesiasalz einer Phosphorsäure und einer mit der letzteren verbundenen organischen Substanz, also aus einer sogenannten gepaarten Phosphorsäure. Ueber die Natur des organischen Paarlings wissen wir derzeit nichts Bestimmtes, wie denn seit dem Erscheinen der Pfefferschen Arbeit unsere Kenntniss über die Proteinkörner, obwohl inzwischen nahezu zwei Decennien verstrichen sind, keine wesentlichen Fortschritte gemacht hat.

Ich habe mich nun auch mit den Aleuronkörnern näher beschäftigt und habe gefunden, dass die Globoide neben den von Pfeffer nachgewiesenen Stoffen auch Eisen enthalten, und dass dasselbe mit einer organischen Substanz, vielleicht mit dem fraglichen organischen Paarling der Phosphorsäure, verbunden ist.

Als eines der passendsten Objecte, um sich darüber Klarheit zu verschaffen, erkannte ich den Samen von *Ricinus communis*. Hier enthalten die Proteinkörner zweierlei Ein-

¹⁾ Pfeffer, W., Untersuchungen über die Proteinkörner etc. Jahrbücher f. wissensch. Botanik, herausg. v. Pringsheim. VIII. Bd. S. 429.

www.libtool.com schlüsse: Eiweisskrystalle und Globoide. Durch ein einfaches Verfahren lässt sich aus den meisten Zellen fast Alles bis auf die Globoide wegschaffen. Man hat nur nöthig, zarte Schnitte durch den Samenkern mehrere Stunden in absolutem Alkohol und dann ebensolange in sehr verdünnter Kalilauge liegen zu lassen. Durch den ersten werden die Zellen von Fett, durch die letztere die Aleuronkörner so vollständig von Eiweiss befreit, dass eben nur die Globoide zurückbleiben. Diese erscheinen nun als glänzende, stark Licht brechende Kugelchen (bei Anwendung von nicht sehr verdünnter Kalilauge als Hohlkugelchen) zu mehreren in der Zelle. Sie lösen sich, wie alle Globoide, in Mineralsäuren, aber auch in Essigsäure. Direct geben sie keine Eisenreaction. — Aus dem verdünnten Kali überträgt man die Schnitte für ein bis mehrere Tage, um das maskirte Eisen in die fällbare Form zu überführen, in gesättigte Kalilauge. Hier büssen sie das ausserordentlich starke Lichtbrechungsvermögen zum grossen Theile ein und erleiden offenbar auch noch andere Veränderungen, da sie nach dem Auswaschen des Schnittes im Wasser — man lasse das Wasser mindestens mehrere Minuten einwirken — den Anblick von Hohlkugeln gewähren¹⁾.

Die für uns wichtigste Veränderung, welche die Globoide in der g. Kalilauge erleiden, besteht aber in der Umwandlung der organischen Eisenverbindung, denn die Globoide reagiren nunmehr in intensiver Weise auf eine Eisenoxydverbindung.

Auf diese Weise gelingt es, speciell die Globoide im Schnitte zur klaren Anschauung zu bringen. Sie treten nach Behandlung mit Ferrocyanikalium als tiefblau gefärbte Körner dem Beobachter entgegen und heben sich von den gleichfalls mehr minder blaugefärbten Zellhäuten scharf ab (Fig. 3).

¹⁾ Vgl. auch Pfeffer, l. c. S. 477.

www.libtool.com.cn

In den Endospermzellen von Ricinus haben wir nun die Globoide, zumal deren peripherie Theile, und ferner die Zellhäute als eisenhaltig erkannt; es entsteht nun die Frage, wie sich der übrige Theil der Aleuronkörner und des Zellinhalts diesbezüglich verhält.

Die eben angewandte Methode konnte darüber keinen Aufschluss geben, da ja unser Bestreben dabei darauf gerichtet war, alles bis auf die Globoide wegzuschaffen. Legt man hingegen die Schnitte direct in ges. Kalilauge ein und reagirt man dann mit Blutlaugensalz, so färben sich im Zellinhalt wieder nur die Globoide. Das vorhandene Fett und Alles, was sonst in der Zelle vorhanden ist, bleibt farblos. Das Eiweiss wird allerdings durch die Kalilauge herausgelöst, allein wenn man den Versuch so macht, dass man die Schnitte nicht in der Glasdose, sondern auf dem Objectträger in einem kleinen Tröpfchen g. Kalilauge unter Deckglas liegen lässt und den Zutritt von Kohlensäure hemmt, um die Bildung von kohlensaurem Kali zu verhindern, so erhält man dasselbe Resultat: es reagiren wieder nur die Globoide, obwohl ein grosser Theil des Proteins im Schnitte oder in unmittelbarer Umgebung desselben zurückgeblieben sein musste. Demnach ist das Eisen im Zellinhalt des Endosperms in den Globoiden localisiert, und wir können dieselben demgemäß mit Recht als Eisenspeicher bezeichnen, wenngleich die Menge des hier aufgesammelten Eisens den hier gleichzeitig vorhandenen anderen Aschensubstanzen bedeutend nachstehen dürfte.

Der Samenkern von Ricinus enthält auch direct fällbares Eisen, der Embryo nicht unbeträchtliche Mengen, das Endosperm weniger; die Färbung ist hier so schwach, dass unter dem Mikroskop eigentlich schwer zu entscheiden ist, was eigentlich in der Zelle gefärbt ist. Jedenfalls erscheinen die Einschlüsse der Proteinkörner vollständig farblos; es ist mit-

www.libtool.com.cn
hin, da die Globoide erst nach der Behandlung mit Kalilauge Eisenreaction zeigen, gewiss, dass das Eisen hier mit einer organischen Substanz verbunden und in maskirtem Zustande vorhanden ist. Ob die letztere auch mit der Phosphorsäure gepaart ist, dürfte wohl nicht so bald zu entscheiden sein.

Das, was bezüglich des Eisengehaltes der *Ricinus-Globoide* festgestellt wurde, hat im Wesentlichen auch für alle anderen, von mir auf's Gerathewohl zur Untersuchung herangezogenen Globoide Geltung. Ich nehme daher keinen Anstand, den Eisengehalt als etwas für die Globoide Charakteristisches hinzustellen.

Geprüft habe ich die Proteinkörper von *Anthriscus silvestris*, *Cucurbita Pepo*, *Juglans regia*, *Linum usitatissimum*, *Lupinus* sp., *Ricinus communis*, *Sesamum orientale*, *Sinapis alba* und *Theobroma Cacao*¹⁾. —

Da über die Natur der in der „Kleberschicht“ der Gräser vorkommenden, die Zellen dicht erfüllenden Körnchen in letzter Zeit widersprechende Ansichten vorgebracht wurden, denen zufolge die Körner bald als Aleuronkörner (ältere Autoren), bald als etwas diesen Aehnliches, aber doch davon Verschiedenes bezeichnet wurden, da sie jeder Einschlüsse entbehren sollten (Lüdtke²⁾), war es für mich von Interesse, diese fraglichen Körperchen auf etwaige Einschlüsse nochmals zu prüfen. Als ich die Kleberschichte des Roggenkorns bei sehr starker Vergrösserung in Glycerin oder Olivenöl betrachtete, nahm ich in jedem Körnchen gewöhnlich ein relativ sehr grosses, in Essigsäure lösliches Globoid wahr.

¹⁾ Ueber die Aleuronkörner der Cacaobohne vergleiche man auch meine Histochemie, I. c. S. 22.

²⁾ Beiträge zur Kenntniß der Aleuronkörner. Pringsheim's Jahrb. f. wissenschaftl. Botanik. Bd. XXI. S. 86.

www.libtool.com Diese Einschlüsse hat bereits G. Haberlandt¹⁾ richtig gedeutet und damit auch die irrthümliche Beobachtung Lüdtke's erkannt.

Nach mehrtägiger Behandlung mit ges. Kalilauge färben sich die Globoide der Kleberschicht auf Zusatz von gelbem Blutlaugensalz und Salzsäure intensiv blau, in Folge dessen erscheinen die Kleberzellen, deren Membranen jetzt ebenfalls auf Eisen reagiren, vollgepfropft mit den zurückgebliebenen, nun ausgefärbten Globoiden. Ebenso verhielten sich die entsprechenden Körner des Weizens, Hafers, Mais und der Gerste.

Hiermit ist ein neuer Beweis dafür erbracht, dass die Körner in der Kleberschicht der Gramineen echte Aleuronkörner sind, deren Globoide sich auch bezüglich des Eisengehaltes so verhalten, wie die anderer Pflanzen.

Das Auftreten des fällbaren und maskirten Eisens im Samen beansprucht ein hohes physiologisches Interesse, wissen wir ja doch, dass die erste Entwicklung der jungen Keimpflanze ohne Vermittlung gewisser Aschensubstanzen nicht vor sich gehen kann, und dass eben deshalb im Samen von der Mutterpflanze nicht nur die organischen Baustoffe (Stärke, Fett, Protein), sondern auch ein gewisses Reservematerial von anorganischen Nährstoffen einmagazinirt werden. Kein Physiologe wird heute daran zweifeln, dass die Globoide mikroskopisch kleine Speicher vorstellen, aus welchen die junge keimende Pflanze einen Theil des für sie nöthigen Kalkes, der Magnesia, Phosphorsäure und, wie wir jetzt hinzufügen können, des Eisens schöpft. Einen anderen Theil dieses

¹⁾ G. Haberlandt, Die Kleberschicht des Grasendosperms als Diastase ausscheidendes Drüsengewebe. Berichte der deutschen botan. Gesellsch. 1890. S. 41.

Metalls mag sie aus den Procambiumsträngen des Embryo entnehmen, wo ja dasselbe nicht selten in reichlicher Menge aufgestapelt ist. Auch dieses unmaskirte Eisen verschwindet während der Keimung, um bald in die maskirte Form überzutreten.

Dass im Samen, abgesehen von den Globoiden, maskirtes Eisen bald in den Membranen, bald im Zellinhalt, bald in beiden in wechselnden Mengen vorkommt, sei hier besonders hervorgehoben. Die meisten Samen färben sich auf die Kaliblauflaugensalzprobe hin tiefblau, oft so stark, dass selbst dünne Schnitte hierdurch undurchsichtig werden.

Nun verstehen wir erst recht, warum eine Pflanze in den ersten Wochen ihres Daseins der Eisenzufuhr von aussen nicht bedarf und doch am Lichte ergrünzt: sie schöpft eben, falls sie in einer eisenfreien Nährstofflösung gezogen wird, erst ihren im Samen befindlichen Eisen-Reservevorrath aus, um den für die Kohlensäureassimilation so wichtigen Chlorophyllfarbstoff zu bilden. Ist dieser Vorrath verbraucht, dann muss, wenn nicht Chlorose eintreten soll, Eisen von aussen zufiessen.

Obwohl das Eisen alle Organe und Gewebe der Pflanze bald in grösserer, bald in geringerer Menge durchdringt, wird es überdies noch an bestimmten Orten zur Reserve aufgestapelt, um gelegentlich wieder verbraucht zu werden. Solche Eisen-speicher stellen die Globoide dar. Das Eisen kann daher aus einem Organ in das andere wandern, und es ist durchaus nicht ausgemacht, dass das von einer Zelle einmal aufgenommene und unlöslich gemachte Eisen für immer hier verweile. Lehren dies schon auf das Bestimmteste die Globoide, so geht dies auch meiner Ansicht nach aus Rissmüller's¹⁾ Analysen

¹⁾ Rissmüller, L., Ueber die Stoffwanderung in der Pflanze. Versuchsstationen. 1874. S. 17. Ein Referat darüber in Just's Jahresbericht. 1874. II, 849.

www.libtool.com.cn

von Buchenblättern (*Fagus silvatica*) hervor. Der genannte Autor hat die Blätter in verschiedenen Altersstadien auf ihre organischen und anorganischen Bestandtheile geprüft und bezüglich des Eisens folgende bemerkenswerthe Beobachtung gemacht:

Tabelle I.

100 Theile Trockensubstanz gaben:

	Mai	Juni	Juli	August	Septbr.	October	Novbr.
Eisenoxyd	0.35	0.51	0.58	0.75	1.03	0.60	0.59

Tabelle II.

100 Theile der Buchenblätter gaben:

	Mai	Juni	Juli	August	Septbr.	Octbr.	Novbr.
Eisenoxyd	0.76	0.99	0.78	0.84	1.17	0.56	0.52

Tabelle III.

1000 Stück frischer Buchenblätter gaben:

	Mai	Juni	Juli	August	Septbr.	Octbr.	Novbr.
Eisenoxyd	0.01	0.05	0.08	0.10	0.12	0.06	0.07

Wie aus den Tabellen zu ersehen ist, steigt im Grossen und Ganzen der Eisengehalt im Buchenblatte vom Mai bis zum September, erreicht in diesem Monat sein Maximum, um kurze Zeit vor dem Laubfall auf etwa die Hälfte des Maximums zu sinken. Dieses Sinken kann aber nur durch eine Auswanderung des Eisens aus dem Blatte erklärt werden, wie dies ja auch bezüglich des Kaliums und der Phosphorsäure längst bekannt ist¹⁾.

¹⁾ Pfeffer, W., Pflanzenphysiologie. I. S. 328.

IV. Abschnitt. Die Eisenbacterien.

I. Historisches.

Unter Eisenbacterien verstehen wir mit Winogradsky¹⁾ fädige, mit einer Gallertscheide versehene Bacterien von relativ riesigen Dimensionen, denen die merkwürdige Eigenthümlichkeit zukommt, in der Scheide grosse Mengen von Eisenoxyd, höchstwahrscheinlich Eisenoxyhydrat aufzuspeichern.

Genauer kennt man gegenwärtig drei Eisenbacterien, nämlich: *Crenothrix Kühniana* Rabenhorst (*Cr. polyspora* Cohn), *Cladothrix dichotoma* Cohn und *Leptothrix ochracea* Kützing.

Die erste genauere Untersuchung über die von Kühn entdeckte *Crenothrix* verdanken wir F. Cohn²⁾. Dieser beobachtete in den meisten Breslauer Trinkbrunnen oft in grossen Massen braune Flöckchen, bestehend aus den durcheinander gefilzten Fäden von *Crenothrix*, zwischen welchen Eisenoxyhydrat ausgefällt war. Die anfangs farblosen

¹⁾ Winogradsky, S., Ueber Eisenbacterien. Bot. Zeitung 1888, S. 261.

²⁾ Cohn, F., Ueber den Brunnenfaden (*Crenothrix polyspora*) etc., Beiträge zur Biologie der Pflanzen, I. Bd., 1. Heft, S. 108. Für die Zusendung von lebender *Crenothrix* bin ich Herrn Prof. H. de Vries sehr dankbar.

www.libtos.de/10cr Scheiden werden später in Folge reichlicher Aufnahme von Eisenoxydhydrat gelb oder braun. Cohn führt die Aufstapelung von Eisen in die *Crenothrix*-Scheiden auf die Vegetationstätigkeit der Zellen zurück und stellt dieselbe in Parallele mit der Einlagerung von Kieselerde in die Panzer der Diatomeen und der des kohlensauren Kalks in die Zellhaut der Melobesiaceen.

Der Brunnenfaden *Crenothrix* erregte 1878 durch sein massenhaftes Auftreten in der Berliner Wasserleitung¹⁾ grosses Aufsehen und erschien zehn Jahre später gleichzeitig in Gesellschaft mit *Cladotrichia dichotoma* in den Wasserwerken zu Rotterdam als ein ebenso plötzlicher wie unwillkommener Guest²⁾.

¹⁾ Zopf, W., Entwicklungsgeschichtliche Untersuchung über *Crenothrix polyspora*, die Ursache der Berliner Wassercalamität. Berlin 1879.

²⁾ Vries, H. de, Die Pflanzen und Thiere in den dunklen Räumen der Rotterdamer Wasserleitung. Jena 1890. Hier finden sich auch Angaben über die grosse Verbreitung der *Crenothrix*. Sie wurde bisher gefunden in den Wasserleitungen beziehungsweise Brunnen zu Berlin, Charlottenburg, Licherfelde, Plötzensee, Halle, Magdeburg, Proskau, Cudowa, in Frankreich und Russland. Ich selbst hatte heuer hier in der Nähe von Graz Gelegenheit, eine durch Eisenbacterien hervorgerufene Calamität durch den Augenschein kennen zu lernen.

Im Monat November 1891 wurde mir berichtet, dass in einer sehr bekannten Papierfabrik die hier funktionirenden Brunnen seit kurzer Zeit auffallend unreines Wasser liefern. Das Wasser sei trüb, enthalte braune Flocken und entwickele namentlich beim Schütteln einen unangenehmen Geruch. Die Verwendung solchen Wassers in der Fabrik bringe es mit sich, dass das fertige Papier der blendenden Weisse entbehre und einen merkbaren Stich in's Gelbbräunliche besitze. Von der dortigen Direction um eine mikroskopische Analyse dieses Wassers ersucht, konnte ich mich bald überzeugen, dass die Hauptmasse der im Wasser schwimmenden braunen Flocken aus Eisenbacterien bestand, und zwar vorwiegend aus *Leptothrix ochracea* und zum geringen Theile aus *Crenothrix Kühniana*.

Ueberdies enthielt das Wasser ziemlich viel organische Substanzen

www.libtool.com.cn Die Wassercalamität zu Berlin lenkte die Aufmerksamkeit nun erst recht auf diesen merkwürdigen Organismus und bewog namentlich Zopf, denselben sowie die von Cohn¹⁾ entdeckte und zuerst beschriebene *Cladotrichia dichotoma* genauer entwicklungsgeschichtlich zu studieren²⁾. Es liegt nicht im Plane meiner Schrift, auf die Entwicklungsgeschichte dieser beiden Organismen, wie sie von Cohn und Zopf gegeben wurde, näher einzugehen, da hier vornehmlich die Eiseneinlagerung behandelt werden soll. Mit Rücksicht auf diese sei hervorgehoben, dass auch Zopf auf den grossen Eisengehalt der Scheiden bei beiden Pflanzen zu wiederholten Malen hinweist und im Gegensatze zu Cohn die Meinung vertritt: dass die Ansammlung des Eisens mit der Vegetationstätigkeit der Zellen nichts zu thun hat, sondern auf „einem rein mechanischen Vorgang beruht, nämlich auf einer Einlagerung der in Wasser gelösten Eisenverbindungen zwischen die Gallerttheile, einem Vorgange, wie er sich auch künstlich an anderen Gallertmassen, z. B. Speisegelée, vollzieht, wenn man diese mit gewissen Farbstofflösungen zusammenbringt“³⁾.

Während Cohn und Zopf ihre Aufmerksamkeit fast

und gelöste Eisenverbindungen. Mit dem Eindringen der organischen Substanz in die Brunnen stand die Calamität offenbar in Zusammenhang. Woher die Substanz stammte, konnte zwar noch nicht eruiert werden, doch ist es mir in hohem Grade wahrscheinlich, dass die Kanäle, welche die mit organischen Stoffen beladenen Fabrikswässer ableiten, schadhaft geworden sind und die Wässer seitlich durchsickern lassen, so dass dieselben in dem schotterigen Untergrund bis in die nahen Brunnen gelangen können.

¹⁾ Cohn, F., Untersuchungen über Bacterien. Beitr. zur Biologie der Pflanzen. I. Bd. 3. Heft. S. 185.

²⁾ Zopf, W., l. c. und „Zur Morphologie der Spaltpflanzen“. Leipzig 1882.

³⁾ Zopf, W., Spaltpflanzen l. c. S. 5.

www.libto.de ausschliesslich auf die Morphologie der Eisenbacterien lenkten, stellt Winogradsky die Physiologie derselben in den Vordergrund¹⁾. Namentlich im Gegensatz zu Zopf erblickt Winogradsky in der Einlagerung des Eisens nicht einen neben-sächlichen Vorgang, sondern einen hochwichtigen Lebensact, der im Stoffwechsel der genannten Organismen eine hervorragende Rolle spielen soll.

Die Ergebnisse der Winogradsky'schen Untersuchungen lassen sich in folgende Sätze zusammenfassen:

1. Die Braunfärbung der Scheiden kommt nur in eisenoxydulhaltigem Wasser durch Oxydation von Eisenoxydul in der Substanz der Fäden zu Stande.
2. Die Oxydation ist eine Lebenserscheinung und hat ausschliesslich im Protoplasma ihren Sitz.
3. Für das Wachsthum der Eisenbacterien ist Eisenoxydul unentbehrlich.
4. Die Lebensprocesse der Eisenbacterien werden „ausschliesslich oder hauptsächlich auf Kosten der bei der Oxydation von Eisenoxydul zu Eisenoxyd freiwerdenden Wärme (actuelle Energie) im Gange erhalten“.
5. Die Entstehung von Sumpf-, See-, Wiesenerz oder Raseneisenstein ist höchstwahrscheinlich auf die Thätigkeit dieser Organismen zurückzuführen. —

Die Arbeit Winogradsky's trägt den Charakter einer vorläufigen Mittheilung an sich, die mit dem Versprechen endigt, eine ausführliche Begründung der Ergebnisse in einer späteren Publication zu bringen. Seitdem sind nahezu vier Jahre verflossen, und eine ausführlichere Arbeit ist meines Wissens nicht erschienen. Trotzdem würde ich es nicht wagen, meine eigenen, die Physiologie der Eisenbacterien betreffenden

¹⁾ Winogradsky, S., Ueber Eisenbacterien I. c.

Untersuchungen jetzt schon mitzutheilen, wenn ich blass eine Erweiterung der Winogradsky'schen Resultate zu bringen in der Lage wäre. Einer solchen würde ich nicht vorgegriffen haben und um eine solche handelt es sich hier leider auch nicht, da ich fast in allen wesentlichen Punkten zu anderen Ergebnissen gekommen bin als der genannte Forscher. Zudem konnte ich die Eisenbacterien nicht leicht umgehen, weil sie in meine Schrift naturgemäss hineingehören, und durch das Uebergehen dieser Organismen meiner Abhandlung leicht der Vorwurf der Unvollständigkeit erwachsen könnte.

2. Eigene Untersuchungen.

Winogradsky hat in seiner Arbeit eine sehr gute, fast die Sicherheit eines physikalischen Experimentes an sich tragende Methode angegeben, um sich leicht und zu beliebiger Zeit üppige Rasen von Eisenbacterien zu verschaffen. Er geht dabei in folgender Weise vor: Etwa 50 cm hohe Glas-cylinder werden mit einer Handvoll macerirtem und in viel Wasser ausgekochtem Heu versehen, etwas frisch gefälltes Eisenoxydhydrat darauf geschüttet und dann mit Brunnen-wasser gefüllt. Nach Beginn der Gasentwicklung treten an der Oberfläche des Wassers und an den Wänden des Gefäßes die ersten rostbraunen Flöckchen und Räschen auf, die nach 1—2 Wochen oft zusammenhängende gelbbraue Rasen und ebenso gefärbte Zoogloeen bilden. Die ockerartigen Massen bestehen hauptsächlich aus einem Geflecht von gelbbraunen Fäden und ähnlich gefärbten Zooglooen. Unter den ersteren findet man stets *Leptothrix ochracea*, gewöhnlich in Gesellschaft von zwei fädigen Bacterien. —

In der angegebenen Weise habe ich selbst Culturen eingeleitet und dabei dieselben Erscheinungen wahrgenommen wie Winogradsky. Die Hauptmasse der braunen Rasen

www.libtool.com.cn

bestand aus braunen oder rostfarbigen Bacterien, die zu langen Fäden angeordnete Stäbchen darstellten und ihrerseits wieder von einer an Eisenoxyd reichen Gallertscheide umhüllt waren. Die Beschreibung, welche Winogradsky von der *Leptothrix ochracea* gibt¹⁾, passte Punkt für Punkt auf meine Bacterien; sie passte auch auf die Eisenbacterien, die ich gewöhnlich in der freien Natur, in eisenreichen Wässern, z. B. im Mixnitzbache (auf der Teichalpe des Hochlantsch Steiermark), in der Klausner Stahlquelle von Gleichenberg (Steiermark), in Fischteichen und Brunnen der Umgebung von Graz, auf torfigen Wiesen und an anderen Orten fand.

Schon im vorigen Jahre habe ich, und seitdem immer wieder, bemerkt, dass es für das Erscheinen der Eisenbacterien ganz gleichgültig ist, ob man der Cultur Eisenoxydhydrat hinzufügt oder nicht. Sie treten ungefähr in derselben Ueppigkeit, mitunter sogar noch üppiger, und namentlich in Berühring mit Luft mit ähnlicher gelblicher oder bräunlicher Farbe auf wie bei Eisenzufuhr. Was diese Farbe anbelangt, so röhrt dieselbe zweifellos zum Theile von den geringen Eisenmengen her, welche das zur Cultur verwendete Grazer Leitungswasser enthält. Ich sage zum Theile, denn solche gefärbte Fäden geben nur unter Anwendung von concentrirter Salzsäure eine schwache Eisenreaction, die in keinem Verhältniss zu ihrer ziemlich intensiven Braunfärbung steht. Es scheint mir, dass noch ein anderer bräunlicher Farbstoff hier nebenher auftritt.

1) L. c. S. 263 und Beiträge z. Morphologie u. Physiol. der Bacterien. I. Heft. Schwefelbacterien S. 112. Zopf hält die *Cladotrichia dichotoma* mit der *Leptothrix parasitica* Kützg. für identisch und die *Leptothrix ochracea* Kützg. für den eisenhaltigen Zustand der genannten *Cladotrichia*. Winogradsky dagegen sieht in der *Lept. ochracea* einen specifischen, von *Cladotrichia dichotoma* morphologisch verschiedenen Organismus, der zwar zu *Cladotrichia* in naher Verwandtschaft steht, aber sich von derselben auf den ersten Blick unterscheidet.

Ueberdies habe ich, um das Eisen der Culturflüssigkeit möglichst auszuschliessen, statt des Leitungswassers eine eisenfreie Nährlösung (1000 g H₂O, $\frac{1}{2}$ g Ca(NO₃)₂, $\frac{1}{8}$ g KNO₃, $\frac{1}{8}$ g PO₄ KH₂, $\frac{1}{8}$ g MgSO₄) zu dem Heu hinzugefügt und diese dann mit eisenfreier *Leptothrix ochracea* geimpft. Eine Infection schien mir hier zweckmässig, da die in den obigen Culturen auftretenden Eisenbacterien wenigstens für gewöhnlich aus dem Leitungswasser stammten. Der Erfolg war aber auch hier genau so wie beim Leitungswasser, obwohl man in den Bacterienscheiden Eisen direct nicht nachweisen konnte. Mit anderen Worten: die Eisenbacterien gedeihen auch ganz gut, wenn man ihnen keine Gelegenheit zur Eiseneinlagerung gibt, und damit fällt der wichtigste Satz der Winogradsky'schen Abhandlung, der zu Folge die Eisenbacterien eine Art Ausnahmsstellung in der Reihe der Pflanzen einnehmen, insofern ihre Lebensprocesse durch die Oxydation von Eisenoxydul zu Eisenoxyd unterhalten werden sollen.

Während des verstrichenen Jahres habe ich derartige Culturen in eisenfreien Lösungen fast ununterbrochen eingeleitet und stets ein üppiges Auftreten der Eisenbacterien bemerkt. Auch habe ich dieselben durch mehrere Generationen hindurch in eisenfreien Lösungen gezüchtet.

Das in also cultivirten Eisenbacterien Spuren von maskirtem Eisen vorkommen — dasselbe röhrt offenbar aus dem Heu her — ändert natürlich an dem Sachverhalt gar nichts, denn solches kommt in jedem Pilz, in der Hefe, im Pinselschimmel wie in Hutpilzen vor. Dieses Eisen spielt bei unseren Bacterien offenbar in Bezug auf den Stoffwechsel, dieselbe Rolle wie bei jeden anderen Pilz¹⁾.

Damit soll selbstverständlich die von mehreren Beobachtern

¹⁾ Vergl. diesbezüglich den letzten Abschnitt dieses Buches.

www.libri.de
bemerkte Erscheinung nicht abgeleugnet werden, dass die Eisenbacterien, falls sie lösliche Eisenverbindungen zur Verfügung haben, diese reichlich in ihren Gallertscheiden anhäufen und dadurch zu sehr auffälligen Objecten werden. Diese Thatsache steht ausser allem Zweifel. Nur spielt das Eisen hier nicht die von Winogradsky angenommene Rolle. Das Eisen steht vielmehr zu den Eisenbacterien in analoger Beziehung wie etwa die Kieselsäure zu den Gräsern. So wie ein Gras in kieselsäurereichem Substrat viel Kieselsäure aufnimmt und in den Zellmembranen der Oberhaut ablagert, in kieselsäurefreier Nährlösung aber ebenso gut gedeiht, so kommt auch die Eisenbacterie ohne die geschilderte Eisen-einlagerung sehr gut fort, lagert dasselbe aber in die Scheide, wofern solches geboten wird, reichlich ein. — Abgesehen von der intensiveren Braunfärbung fallen solche in Eisenlösung gezogene Eisenbacterien auch durch ihre viel dickeren Gallertscheiden auf. Bekanntlich hat Klebs¹⁾ festgestellt, dass die Gallertscheiden der Zygemen und anderer Algen eine ganz besondere Anziehungskraft für Aluminium-, Chrom- und Eisenverbindungen haben, und dass die Gallerte nach der Einlagerung dieser Verbindungen auffallend aufquillt. Es scheint mir in hohem Grade wahrscheinlich, dass das bedeutendere Volum der Gallertscheiden obiger Bacterien mit der Gegenwart des Eisenoxyds innerhalb der Gallerte im Zusammenhange steht.

In älteren Eisenbacterienculturen, die unter Zusatz von Eisenoxydhydrat eingeleitet wurden, stellt sich schliesslich eine Schwärzung der Bacterien und der flottirenden Eisenflocken ein, zuerst unten, in der Nähe des Heues, dann weiter nach oben, und schliesslich bis knapp unter die Oberfläche. Diese

¹⁾ Klebs, G., l. c. S. 411 u. 412.

www.libtool.com. Schwärzung ist auf eine Reduction des Eisenoxyds durch auftretenden Schwefelwasserstoff zurückzuführen beziehungsweise auf die Entstehung von Schwefeleisen. Nur die an der Luft, also ganz oben liegenden Bacterienscheiden und Eisenoxydhydratflocken bleiben braun, weil hier in Berührung mit dem atmosphärischen Sauerstoff die Reduction zu Schwefeleisen entweder nicht zu Stande kommt oder sofort durch eine neuerliche Oxydation wieder rückgängig gemacht wird. In eisenfreier Cultur bleibt selbstverständlich die Schwärzung aus.

Fügt man zu eisenoxydhaltigen Bacterien etwas Schwefelwasserstoff, so tritt fast augenblicklich Bildung von Schwefeleisen und damit Schwärzung ein.

Eisenbacterien, welche in der angegebenen Weise geschwärtzt wurden, färben sich in reinem Wasser in Folge der Oxydation des Schwefeleisens nach einigen Stunden wieder braun, und zwar auch dann, wenn sie vorher in kochendem Wasser getötet wurden.

Winogradsky behauptet, dass nur diejenigen Scheiden Eisenoxyd einlagern, welche sich noch im Contact mit lebenden Zellen befinden, die leeren Scheiden, aus welchen die Zellen bereits herausgeschlüpft sind, aber nicht. Daraus schliesst er, dass „die Oxydation mit den Lebenserscheinungen des Organismus zusammenhängt und nur im Protoplasma ihren Sitz hat“. Er stellt sich die Oxydation in folgender Weise vor: die in der Scheide steckenden lebenden Zellen nehmen das in Wasser gelöste Eisenoxydul begierig in ihr Plasma auf und bereiten daraus eine lösliche Eisenoxydverbindung, die in die Gallerthülle dann ausgeschieden, hier zurückgehalten und in eine schwer lösliche Modification übergeführt wird. Der genannte Autor stellt diese Vorgänge so dar, als ob sie zwingend aus seinen Beobachtungen folgen würden.

www.libtool.de Man kann aber — die Richtigkeit der eben mitgetheilten Beobachtung Winogradsky's vorausgesetzt — ebenso gut annehmen, dass durch die lebenden Zellen die Gallerthülle in jenem chemisch-physikalischen Zustand erhalten wird, durch welchen sie die Befähigung erhält, Eisenverbindungen aufzunehmen und aufzuspeichern. Nach dieser Erklärung, welche sich mit den Thatsachen sehr gut vereinigen lässt, fiele dem Protoplasma der Bacterienzelle nur eine indirekte Rolle bei der Eiseneinlagerung zu, und es geht keineswegs aus der Beobachtung des genannten Autors hervor, dass die Oxydation des Eisenoxyduls nur im Plasma ihren Sitz hat.

Wenn sich die Sache wirklich so verhielte, wie Winogradsky annimmt, und wenn das Plasma der Eisenbacterie wirklich mit so grosser Begierde Eisenoxydul aufnähme, dann sollte man doch dieses hier auch nachweisen können. Eisen ist aber im Plasma nie nachweisbar, in der Scheide aber immer. Selbst nach ganz kurzem Aufenthalt in verdünnter Ferrocarbonat- oder in einer anderen Eisenlösung wird man mit Leichtigkeit mittelst der Blutlaugensalzprobe Eisen in der Gallertscheide, nicht aber in den Zellen constatiren können.

Da, wo die Scheide noch sehr dünn ist und die stäbchenförmigen Zellen noch deutlich sichtbar sind, erscheint der Faden ganz farblos, erst wo die Scheide dicker wird und den Charakter der Gallerte deutlich an sich trägt, findet Eiseneinlagerung statt. Bei dieser Sachlage müsste man, wollte man an der Auffassung Winogradsky's dennoch festhalten, annehmen, dass die Aufnahme des Eisenoxyduls das Plasma und die Abscheidung des Oxyds aus dem Plasma in die Gallertscheiden sich unmittelbar nach einander, nämlich blitzartig rasch abspielen, — eine Annahme, die wohl keine Wahrscheinlichkeit für sich hat. Ueberdies lassen scheiden-

www.libtool.comlose Zellen, d. h. solche, welche den Scheiden eben entschlüpfen oder eben entschlüpft sind, so lange sie einer eigenen Scheide entbehren, in einer Lösung von kohlensaurem Eisenoxydul von einer Eisenaufnahme nichts erkennen, während die Gallertscheiden, auch wenn sie leer sind, nach ganz kurzer Zeit mit Blutlaugensalz intensive Blaufärbungen geben.

Wir sehen also, dass bei der Eisenspeicherung die Gallerthülle die Hauptrolle spielt, dass diese wie ein Filter fungirt, in welchem die aufgenommenen Eisenverbindungen zurückgehalten, gespeichert und, wenn nothwendig, oxydirt werden, ohne vorher erst in das Innere der Zellen oder, genauer gesagt, in das Plasma einzutreten, von kleineren Spuren abgesehen, die hier dieselbe Rolle spielen wie bei jedem anderen Pilz. Das Plasma der Bacterie kommt hierbei erst in zweiter Linie in Betracht, insofern es für die Entstehung der Gallerte sorgt und dieselbe in dem für die Eisenaufnahme denkbar günstigsten Zustand erhält.

Auch die Behauptung Winogradsky's, dass die Eisenbacterien nur Eisenoxydulverbindungen aufnehmen müssen, muss als eine unbewiesene bezeichnet werden. Es ist allerdings richtig, dass in kohlensäurehaltigem Wasser Eisenoxydul viel leichter löslich ist, als Eisenoxyd, allein das letztere ist darin durchaus nicht ganz unlöslich. Löst man etwas frisch bereitetes Ferrocarbonat in destillirtem Wasser, so kann man in dem letzteren nicht nur gelöstes Eisenoxydul, sondern auch gelöstes Eisenoxyd nachweisen. Das erstere wird eben theilweise sehr rasch oxydirt und bleibt in der Oxydform noch kurze Zeit in Lösung, bevor es sich abscheidet. Dasselbe muss aber auch in jedem eisenoxydulhaltigen Stahlwasser zu treffen, und daher werden die Eisenbacterien nicht nur Gelegenheit finden, gelöste Eisenoxydul-, sondern auch gelöste

Eisenoxydverbindungen aufzunehmen. Dass sie die letzteren tatsächlich absorbiren, lehrten einschlägige Versuche.

Winogradsky schliesst aus der bedeutenden Anhäufung von Eisenoxyd in den Scheiden auf eine ganz besondere, die Eisenbakterien auszeichnende Oxydationsfähigkeit und hält es auf Grund seiner Versuche für bewiesen, dass diese Organismen aus der bei der Oxydation der Eisenoxydulsalze resultirenden Wärme Nutzen ziehen und damit ihre Lebensprocesse unterhalten.

Nach meinen Beobachtungen kann ich diesen Schlussfolgerungen Winogradsky's nicht beipflichten. Das Auffallende liegt bei den Eisenbakterien gar nicht in einem specifischen Oxydationsvermögen, sondern vielmehr in einer merkwürdigen Anziehungskraft der Gallertscheide für Eisenverbindungeh. Dass dieselben hier als Oxyde niedergeschlagen werden, kann in Anbetracht der ausserordentlich leichten Oxydationsfähigkeit des Eisenoxyduls im Contact mit dem Sauerstoff Niemanden Wunder nehmen. Jeder Chemiker weiss, wie sorgsam man Eisenoxydullösungen vor atmosphärischer Luft abschliessen muss, um sie als solche zu erhalten. Die Gegenwart von Eisenoxyd in den Scheiden ist daher etwas ganz Begreifliches; viel schwerer erklärlich wäre die Anwesenheit von Eisenoxydul; zu ihrer Erklärung müsste man vielleicht die lebende Zelle heranziehen.

Von Interesse ist die Thatsache, dass die Eisenbakterien auch eine auffallende Anziehung für gewisse lösliche Manganverbindungen bekunden. Fügt man zu dem oben beschriebenen Heueulturversuch anstatt Eisenoxydhydrat das entsprechende Hydroxyd des Mangans hinzu — es empfiehlt sich, sehr wenig zu nehmen, weil grössere Manganmengen die Entwicklung der

www.libtool.com.cn

Eisenbacterien leicht hemmen — so speichern die Bacterien in ihren Gallertscheiden so viel Manganoxyd, dass die Breite der Fäden auf 5—10 μ und darüber ansteigen kann.

Die Gallerte ist mächtig entwickelt und in Folge des eingelagerten Manganoxyds tiefbraun gefärbt. Von der Gegenwart des Mangans kann man sich am besten dadurch überzeugen, dass man Räschchen dieser „Manganbacterien“ im destillirten Wasser auswäscht und dann mittelst eines Gemisches von Soda und salpetersaurem Kali vor dem Löthrohr oder in der Platinöse prüft. Man erhält eine tiefgrüne Perle.

Das Mangan spielt in diesem Falle offenbar dieselbe Rolle wie das Eisen. Das Eisen wird hier durch das Mangan vertreten. Nothwendig für das Gedeihen der Bacterien ist aber (von geringen Spuren Eisen abgesehen)¹⁾ weder das Eine noch das Andere. Dass sich die „Eisenbacterien“ dem Mangan gegenüber genau so verhalten wie gegenüber dem Eisen, spricht auch nicht für Winogradsky's Ansicht von der Bedeutung des Eisens für die genannten Bacterien, denn wir kennen bisher keinen Fall im Pflanzenreiche, wo Eisen für das Leben eines Organismus nothwendig und gleichzeitig durch Mangan vertretbar wäre.

3. Die Eisenbacterien in ihrer Beziehung zur Entstehung von Raseneisenerz.

Ich komme nun zu der letzten Behauptung Winogradsky's, derzufolge die kolossalen Ablagerungen von Eisenerzen, die als Sumpf-, See-, Wiesenerz, Raseneisenstein u. s. w. bezeichnet werden, höchstwahrscheinlich auf die Thätigkeit der Eisenbacterien zurückzuführen sind. That-

¹⁾ Vergl. den letzten Abschnitt dieses Buches.

www.libtosachen hierfür werden nicht angeführt, die Veröffentlichung solcher aber in nächster Zeit in Aussicht gestellt¹⁾.

Es sei nun gleich bemerkt, dass bereits Ehrenberg, der ja in seiner classischen Mikrogeologie durch die mikroskopische Untersuchung Hunderter von aus allen Welttheilen stammenden Erd- und Gesteinsproben die hohe Bedeutung vieler „Infusorien“ (zumeist Diatomeen, Polythalamien) für die Entstehung gewisser Erdschichten erkannt hat — ich erinnere nur an die verschiedenen Kieselguhrarten —, auch für die Bildung des Rasenerzes die Thätigkeit eines Organismus in Anspruch nahm, und zwar einer der Diatomee *Gallionella ferruginea* ähnlichen Pflanze²⁾.

Bei der mikroskopischen Untersuchung verschiedener Raseneisenerze von Berlin, von Ural, von New-York und von anderen Orten findet der genannte Forscher, „dass das ihnen anhängende und sie vielleicht ursprünglich bildende, äusserst voluminöse gelbe Eisenoxyd ebenfalls aus oft noch reihenweis zusammenhängenden Gliedern besteht, welche der *Gallionella ferruginea* in Grösse, Form und Farbe gleichen, und die durch Glühen und Salzsäure nicht zerstört werden, nur nicht mehr so deutliche Gliederfäden bilden wie beim lebenden Thier³⁾). Vergleiche ich den in seine Glieder aufgelösten Zustand der *Gallionella distans* im Polierschiefer, so habe ich

¹⁾ Eisenbacterien l. c. S. 270.

²⁾ Vorl. Mittheilungen über das wirkliche Vorkommen fossiler Infusorien und ihre grosse Verbreitung. Poggendorf's Annalen der Physik und Chemie. XXXVIII. Bd., der ganzen Folge CXIV. S. 287. Die systematische Stellung des von Ehrenberg *Gallionella ferruginea* benannten Organismus erscheint mir sehr rätselhaft und neuer Untersuchungen bedürftig. Sollte nicht vielleicht Ehrenberg die zerbrochenen Eisenscheiden von Eisenbacterien mit Diatomeenschalen verwechselt haben?

³⁾ Ehrenberg hielt bekanntlich die Diatomeen für Thiere.

www.libtool.com

keinen Grund, die Erscheinung im Wiesenerzocker als eine andere abzusondern". Der Umstand, dass die Fäden weder durch Glühen noch durch Salzsäure zerstört wurden, deutet darauf hin, dass an dem Aufbau der von Ehrenberg geprüften Raseneisenerze nicht Eisenbacterien, sondern eisenreiche Diatomeen Anteil nahmen.

Eine genauere mikroskopische Nachuntersuchung der Ehrenberg'schen Befunde liegt meines Wissens in der Literatur nicht vor. Senft, der sich mit der Entstehung der Raseneisenerze am eingehendsten beschäftigt und, soweit ich als Botaniker beurtheilen kann, jedenfalls das Beste darüber geschrieben hat¹⁾, hebt, nachdem er die Bedeutung todter Organismen für die Entstehung des Raseneisens erörtert, hervor, dass auch lebende Pflanzen zu Erzeugern von Raseneisenerz werden. Zu solchen rechnet er „mikroskopische kleine Algen, welche zu der Familie der Oscillatoriens gehören“²⁾, Wassermoose und die gemeine Heide.

Ob Senft hier Oscillatoriens mit Eisenbacterien verwechselt, ist mir nicht klar geworden; mir ist dies aber in hohem Grade wahrscheinlich, erstens weil ich trotz speciell darauf gerichteter Aufmerksamkeit keine Oscillarien kennen gelernt, die normal auffallend grosse Eisenmengen speichern, und zweitens, weil unsere Eisenbacterien, wenn man von ihrem Chlorophyllmangel absieht, Beziehungen zu den Oscillarien tatsächlich erkennen lassen. Eine solche Verwechslung wäre daher namentlich bei einem Geologen sehr verzeihlich³⁾.

¹⁾ Senft, F., Synopsis der Mineralogie und Geologie. 2. Abth. 1876. S. 221 u. fg. Vergl. ferner Senft, Fels und Erdboden. München 1876. S. 70.

²⁾ Senft, F., Synopsis I. I. S. 223.

³⁾ Die Angabe Senft's, dass auch die lebende Heide (*Calluna vulgaris*) bei der Bildung der Raseneisenerze eine bedeutende Rolle spielt, insofern sie die im Bodenwasser gelösten Eisenverbindungen gierig auf-

www.libtool.com Dien Bildungsweise des Raseneisenerzes im Allgemeinen zu erörtern, liegt mir fern, ich verweise diesbezüglich auf die bereits citirten Schriften von Senft; die Frage jedoch, ob die Entstehung dieser Erze an die Thätigkeit der Eisenbacterien geknüpft ist, wie Winogradsky behauptet, habe ich einem eingehenden Studium unterzogen. Zu diesem Zwecke habe ich neun Proben aus der im steiermärkischen Landesmuseum vorhandenen Raseneisenerzsammlung und 25 Proben aus der mineralogisch-petrographischen Abtheilung des k. k. naturhistorischen Hofmuseums in Wien mikroskopisch untersucht¹⁾ und dabei mein Augenmerk vorzüglich auf die An- oder Abwesenheit von Eisenbacterien und anderen Organismen gerichtet. Von jedem Stücke wurden zahlreiche Proben mikroskopisch geprüft, zuerst in Wasser, dann in Salzsäure. Auch wurden grössere Brocken in verd. Salz- oder Salpetersäure Tage lang liegen gelassen und dann der Rückstand untersucht. Hier die Resultate:

1. Raseneisenstein aus Botiza, Marmarosch. Fast ganz zu-

nimmt, mittelst ihrer Gerbsäure bindet und dann nach dem Absterben durch Zersetzung des gerbsauren Eisenoxyduls die gespeicherte Eisenmenge als Eisenoxydhydrat für die Rasenerzbildung liefert, beruht auf der irrthümlichen Annahme, dass die intakte Wurzel der Heide aus dem aufgenommenen Eisen und ihrem Gerbstoff gerbsaures Eisenoxydul bildet. Zu einem solchen Ergebniss konnte Senft nur gelangen, weil er mit zu concentrirten Eisenvitriollösungen und mit Pflanzen experimentirte, deren Wurzeln zweifellos verletzt waren. Nur in verletzten Zellen oder in durch concentrirter Eisenvitriollösung vergifteten und absterbenden Zellen zersetzt der Gerbstoff das Eisensulfat, in intacten aber nach meinen Erfahrungen nicht. Im Boden stehende unversehrte Pflanzen erzeugen aus aufgenommenen Eisenverbindungen kein gerbsaures Eisen; wofern die Heide abstirbt, kann allerdings solches entstehen, und dieses ebenso wie die anderen Eisenverbindungen der Pflanze Material zur Bildung von Sumpferz liefern.

¹⁾ Für die leihweise Ueberlassung der untersuchten Raseneisenerze bin ich den Herren Director Dr. A. Brezina und Custos Dr. E. Hatle zu grossem Danke verpflichtet.

www.libtool.com.cn

sammengesetzt aus Buchen-, Fichtenblättern und dünnen Zweigen. Die Zwischenräume von Eisenocker erfüllt. Die vollständig vererzten Pflanzentheile sind dunkelbraun oder ockerartig gefärbt. Von Eisenbacterien oder anderen Organismen nicht die geringste Spur.

2. Sumpferz von demselben Standort. Das vorliegende Stück besteht aus einem handgrossen Fragment vererzten Coniferenholzes. Die Jahresringe sind noch deutlich sichtbar. Das Frühlingsholz zerfällt leicht zu Pulver, in dem unterm Mikroskop die mit Eisenoxyd imprägnirten Holzzellen noch deutlich sichtbar sind. Nach Wegschaffung des Eisens in concentrirter Salzsäure bleibt das organische Skelet der Zellen zurück. Hier und da begegnet man einer Pilzspore oder einer septirten Pilzhyphe. Von Eisenbacterien wieder keine Spur.
3. Sumpferz (Brauneisenerz) aus Ungarn. Handgrosses vererztes Rindenstück von schwarzbrauner, stellenweise ockerartiger Farbe. Weder Eisenbacterien noch sonst welche Organismen nachweisbar.
4. Raseneisenerz. Fundort unbekannt. Conglomerat von vererzten Zweigen. Keine Eisenbacterien.
5. Raseneisenerz. Fundort unbekannt. Bestehend aus Holz, Zweigstücken und Blättern verschiedener Pflanzen. Die Zweigstücke lassen, obwohl total vererzt auf der Querfläche, noch deutlich die Markstrahlen und die Gefässporen erkennen. Von Eisenbacterien keine Spur.
6. Brauneisenerz von Edelsbach bei Montpreis in Steiermark. Ein Eisenocker ohne Pflanzenreste. Keine Eisenbacterien.

7. Brauner Eisenocker aus Zwing im Fuscherthal (Salzburg). Keine Eisenbacterien.
8. Raseneisenerz vom Erzberg in Eisenerz (Steiermark). Ockerig. Hier und da mit anhaftenden Wurzelfasern, welche von Pilzhypfen in Form einer Mykorrhiza umspommen sind. Auch hier keine Eisenbacterien.
9. Raseneisenstein von der Schneegalpe in Steiermark. Schlackenartig. Keine Pflanzenreste, keine Eisenbacterien.

Die folgenden, sämmtlich dem k. k. Wiener Hofmuseum entstammenden Stücke führe ich absichtlich mit der ihnen dort zukommenden Bezeichnung an, damit dieselben später auf Wunsch von Jedem wieder leicht nachuntersucht werden können.

10. Acq. Post. A. x. 780. Raseneisenstein aus Huttenberg in Kärnthen. Keine Pflanzenreste, keine Eisenbacterien.
11. Acq. Post. A. b. 4953. Sumpferz. Sibirien. Das mehr als handgrosse Stück zerbröckelt leicht zu einer ockerigen, pulverigen Masse, welche stellenweise fast nur aus mehr minder langen Fragmenten der leeren Scheiden von Eisenbacterien besteht (Fig. 6). Stellenweise treten die Bacterien zurück und anorganischer Ocker gewinnt die Oberhand. Zwischen diesen beiden Extremen alle Uebergänge. Die Scheidenfragmente sind entweder gerade oder gekrümmmt, manchmal sogar schraubig gewunden, dabei einfach oder verästelt. In concentrirter Salzsäure löst sich das Eisenoxyd, die Scheide bleibt völlig farblos zurück, um nach einiger Zeit gleichfalls zu verschwinden.

- www.libtool.com
- 12. Acq. Post. A. a. 6670. Sumpferz, Queensland. Sandig, mit Muscheleinschlüssen. Keine Pflanzenreste, keine Eisenbacterien.
 - 13. Acq. A. x. 24. Raseneisenerz, Bukowina. Deutlich erhaltene Abdrücke von Buchenblättern, keine Eisenbacterien.
 - 14. Acq. Post. A. x. 798. Raseneisenerz von Wenem, Schweden. Besteht aus senfkorn- bis erbsengrossen Körnern, welche oberflächlich von einer dünnen Schicht Ocker überzogen, innen von metallischem Aussehen sind. Eisenbacterien nicht vorhanden.
 - 15. Acq. Post. 6411. Raseneisenerz von Petrosavedsk, Gouvern. Olonetz, Russland. Kreisförmige, etwa thaler grosse Stücke. Keine Pflanzenreste, keine Eisenbacterien.
 - 16. Acq. Post. 6508. Seeerz, Jangen, Wermland, Schweden. Aussehen ähnlich wie bei 15, aber die einzelnen Stücke kleiner. Keine Eisenbacterien.
 - 17. A. x. 787. Raseneisenerz mit Kätzchen von der Erle. Putschirn b. Karlsbad in Böhmen. Keine Eisenbacterien.
 - 18. Acq. Post. A. x. 21. Raseneisenstein mit Kastanienfrucht. Fundort wie bei 17. Keine Eisenbacterien.
 - 19. Acq. Post. A. b. 2448. Raseneisenerz mit Wallnuss. Fundort wie bei 17. Keine Eisenbacterien.
 - 20. Acq. Post. A. x. 784. Raseneisenerz mit Wallnuss. Fundort wie bei 17. Keine Eisenbacterien.
 - 21. Acq. A. x. 782. Raseneisenerz von Fiume, Dalmatien. Keine Eisenbacterien.
 - 22. Acq. Post. A. b. 6510. Seeerz mit 12 % Mangan. Storlungen, Wermland, Schweden. Schwarzbraune,

www.libtool.com.cn

- rundliche oder unregelmässige, eckige Stückchen.
Keine Eisenbacterien.
23. Acq. Post A. b. 5699. Wiesenerz, Radom, Galizien.
Keine Pflanzenreste, keine Eisenbacterien.
24. Acq. Post. A. l. 921. Raseneisenstein, Reisnitz, Kärnthen.
Keine Pflanzenreste, keine Eisenbacterien.
25. Acq. Post. A. x. 783. Raseneisenerz, Narksak, Grönland.
Keine Pflanzenreste, keine Eisenbacterien.
26. Acq. Post. A. x. 777. Raseneisenerz, Sibirien. Das vorliegende Erz ist stellenweise von einer tief ockerbraunen dünnen Schicht überzogen, welche fast ganz aus leeren Scheiden von Eisenbacterien besteht. Der übrige Theil, d. h. die Hauptmasse des schwarzbraunen, schlackigen Erzes ist frei von Organismen.
27. Acq. Post. A. x. 23. Raseneisenerz. Fundort Ostgalizien.
Abdrücke von Buchenblättern. Keine Eisenbacterien
28. Acq. Post. D. 3308. Raseneisenstein. Fundort Whata-Whata b. Hamilton, Wakato, New-Zealand. Keine Pflanzenreste, keine Eisenbacterien.
29. Acq. Post. A. x. 781. Raseneisenerz. Dumenton, Vermont.
Keine Pflanzenreste, keine Eisenbacterien.
30. Acq. Post. A. b. 4957. Sumpferz. Wolpersberg in Preuss. Schlesien.
Hier kommen Eisenbacterien vor, aber in geringer Menge. Auch vererzte Gallertalgen, wahrscheinlich Chroococcaceen oder Palmellaceen angehörig, sind mit Sicherheit nachweisbar.
31. Acq. Post. D. 3284. Sumpferz. Flogstaff Hill b. Dunedin, New-Zealand.
Das vorliegende Stück besteht aus einem Holz und zwar aus einem Laubholz, wie sich aus den vorhandenen weiten Gefässen mit deutlich erhaltener

www.libtool.com.cn Sculptur (polygonale Hoftüpfel) erkennen lässt. Eisenbacterien nicht nachweisbar.

32. Acq. Post. A. x. Raseneisenerz. Slavonien. Muschel einschlüsse. Keine Eisenbacterien.
33. Acq. Post. A. b. 2450. Wiesenerz. Ameraglickfjord auf dem festen Land von Grönland. Keine Pflanzenreste, keine Eisenbacterien.
34. Acq. A. b. 4920. Thoneisenstein mit vielen Blatt (Eichen-?) Abdrücken. Keine Eisenbacterien.

Von den 34 untersuchten, zufällig ausgewählten und verschiedenen Erdtheilen entstammenden Raseneisenerzen wiesen nur zwei sibirische und eines aus preussisch Schlesien Eisenbacterien auf. Also im Ganzen etwa 9 %. Wir müssen daher schliessen, dass die Entstehung der Raseneisenerze nicht ursächlich an die Thätigkeit von Eisenbacterien geknüpft ist, sondern dass dieselbe in der Regel ohne Intervention der genannten Organismen von Statten geht, dass sich aber diese unter Umständen an der Entstehung und Zusammensetzung der Raseneisenerze betheiligen, ja daran sogar hervorragenden Anteil nehmen können.

V. Abschnitt.

Ist der Chlorophyllfarbstoff eisenhaltig?

Diese Frage hat eine eminent physiologische Wichtigkeit, weil sie mit der Bedeutung des Eisens für die grüne Pflanze in innigem Zusammenhang steht. Mit Rücksicht darauf, dass es nur unter Anwendung ganz besonderer Vorsichtsmassregeln gelingt, Körper eisenfrei oder, besser gesagt, frei von nachweisbaren Eisenmengen darzustellen, erheischt die sichere Beantwortung der gestellten Frage die peinlichste Sorgfalt von Seite des Experimentators. Die allgemeine Verbreitung des Eisens in der anorganischen Natur, sein constantes Auftreten in jeder Pflanze, ja vielleicht in jeder Zelle, und somit seine ständige Gegenwart im atmosphärischen Staub machen es im hohen Grade wahrscheinlich, dass alle Körper, die wir rein darzustellen uns bemühen, vielleicht nicht nachweisbare, aber doch leise Spuren von Eisen enthalten dürften. Gilt das Gesagte schon vom destillirten Wasser¹⁾, von leicht krystalli-

1) Das in chemischen Laboratorien gebräuchliche destillirte Wasser enthält, wie ich mich vielfach überzeugte, gewöhnlich Spuren von Eisen. Uebrigens lässt sich dies auch schon aus der bekannten Thatsache erschliessen, dass im destillirten Wasser, wenn es längere Zeit dem Lichte ausgesetzt, ruhig steht, eine grüne Algenvegetation auftritt. Zur Chlorophyllbildung ist aber, wie wir wissen, Eisen notwendig. Mit welchen Schwierigkeiten es verknüpft ist, und wie es gelingt, wirklich reines Molisch, Die Pflanze.

www.libtool.com

sirenden Pflanzenstoffen, wie z. B. dem Rohrzucker und den gewöhnlichsten organischen Säuren¹⁾, so ist dies noch in viel höherem Grade beim Chlorophyll der Fall, das wohl noch Niemand ganz rein in beträchtlicheren Mengen gewonnen haben dürfte. Von diesem Gesichtspunkte erscheint es bereits wahrscheinlich, dass die Eisenspuren, die man angeblich im Blattgrün gefunden hat, nicht dem Farbstoff selbst, sondern fremden Beimischungen entstammten.

Was den historischen Theil unseres Gegenstandes anbelangt, so verdanken wir Wiesner²⁾ eine treffliche Darstellung des Sachverhaltes. Ich glaube daher, indem ich darauf verweise, von einer Wiedergabe desselben absehen und mich mit der Hervorhebung der folgenden Thatsachen begnügen zu können.

Verdeil³⁾ und Pfaundler⁴⁾ sehen auf Grund ihrer Untersuchungen das Chlorophyll als eisenhaltig an. Es hat jedoch bereits Wiesner⁵⁾ mit Recht hervorgehoben, dass beide Forscher nicht berechtigt waren, einen derartigen Schluss zu ziehen, indem Verdeil mit einem alkoholischen Chlorophyllextracte arbeitete, das sicherlich neben dem Farbstoff noch eine ganze Reihe anderer im Alkohol löslicher Substanzen enthielt, und Pfaundler mit einem Körper, der schon nach seiner Darstellung und Beschreibung kaum Chlorophyll sein konnte. —

destillirtes Wasser zu erhalten, lehrte Stas, J. S., Untersuchungen über die Gesetze der chemischen Proportionen etc. Leipzig 1867. S. 110 (deutsche Uebersetzung von Aronstein).

¹⁾ Vgl. diesbezüglich S. 107—108.

²⁾ Wiesner, J., Die Entstehung des Chlorophylls in der Pflanze. Wien 1877. S. 4.

³⁾ Annalen Chem. Pharm. Bd. 12, S. 87.

⁴⁾ Ebenda Bd. 115 (1860), der neuen Reihe 39. Bd. S. 37.

⁵⁾ l. c. S. 5 u. 6.

www.libtool.co

Wiesner selbst tritt, auf viel feinere Versuche gestützt, gleichfalls für das Vorhandensein des Eisens im Chlorophyllfarbstoff (und auch im Xanthophyll) ein, aber auf S. 25 seines genannten Werkes mit einiger Reserve. Der genannte For- scher hat die für unsere Frage wichtige Thatsache festgestellt, dass das von G. Kraus zur Ausschüttelung des Chlorophylls empfohlene Benzol keine Eisensalze aufnimmt. Werden wässrige Lösungen von Eisenchlorid, essigsaurem, salpeter- saurem Eisen, Eisenvitriol, Eisenchlorür oder eine salzaure Lösung von phosphorsaurem Eisenoxyd mit Benzol geschüttelt, so gehen die genannten Eisenverbindungen nicht in das Benzol über. Indem Wiesner das alkoholische Chlorophyllextract mit Benzol ausschüttelte, hatte er sich für seine Eisenversuche entschieden ein vertrauenerweckenderes Material verschafft als seine Vorgänger. Mit der Asche seines Benzolchlorophylls bekam Wiesner nichtsdestoweniger stets Eisenreaction, „doch liess sie immer auf kleine Mengen schliessen“¹⁾.

Hoppe-Seyler analysirte ein Derivat des Chlorophylls, das von ihm benannte Chlorophyllan. Unter den Elementen desselben führt er Eisen nicht an, doch geht leider aus der Darstellung dieses Autors nicht hervor, ob er auf das etwaige Vorhandensein des Eisens sein besonderes Augenmerk gerichtet hat²⁾.

Sachs³⁾ und Pfeffer⁴⁾ geben zwar die Möglichkeit des Eisengehaltes des Chlorophylls zu, beide enthalten sich aber einer bestimmten Entscheidung.

¹⁾ l. c. S. 24.

²⁾ Hoppe-Seyler, Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. 3—5 (1879 bis 1881).

³⁾ Sachs, J., Vorlesungen über Pflanzenphysiologie. Leipzig 1882. S. 343.

⁴⁾ Pfeffer, W., Pflanzenphysiologie. I Bd. S. 224 u. 257.

www.libtool.com.cn In neuerer Zeit spricht Hansen¹⁾), obwohl mit einer gewissen Zurückhaltung, vom Eisengehalt des Chlorophylls. Er gewann dasselbe durch Verseifung. Hansen stellte sich aus circa 450 g trockenen Weizenblättern gewöhnlich 15—20 l alkoholisches Chlorophyllextract dar und engte dasselbe in grossen Porzellanschalen auf etwa $\frac{1}{8}$ des Volumens ein. Die concentrirte Lösung wurde nun verseift, indem er zu $2\frac{1}{2}$ l (aus 16—20 l eingedampfter) Chlorophylllösung 40—50 cm³ Natronlauge und zu dem schliesslich erhaltenen, mit Wasser verdünnten Seifenleim einen Ueberschuss von Kochsalz hinzufügte, um die gewonnene Seife auszusalzen. Aus der letzteren extrahirte er mit Petroläther den gelben Farbstoff (Xanthophyll) und mit Aether den eigentlichen Chlorophyllfarbstoff.

So interessant diese Art der Darstellung des Chlorophylls in mehrfacher Beziehung sein und so sehr sie sich zum Studium gewisser Eigenschaften des Farbstoffs eignen mag, gerade für unsere Zwecke scheint sie mir nicht empfehlenswerth, weil die Darstellung einen zu grossen Aufwand von Alkohol und noch einiger anderer Körper (Natronlauge, Chlornatrium, Aether) beansprucht, die die Wahrscheinlichkeit, schliesslich ein mit Eisen verunreinigtes Endproduct zu erhalten, nahezu zur Gewissheit machen. Um den Farbstoff aus 450 g trockenen Blättern zu extrahiren, benutzte Hansen 15—20 l Alkohol, der dann in Porzellanschalen zum grossen Theil wieder abgedampft wurde! Zugegeben, der Alkohol wies keine nachweisbaren Eisenmengen auf, konnten diese bei der Verjagung von soviel Alkohol in dem eingeengten Product nicht nachweisbar geworden sein? Gar nicht zu gedenken der Gefahr, dass beim Filtriren und bei der Verdampfung von so

¹⁾ Hansen, A., Der Chlorophyllfarbstoff. In den Arbeiten des Würzburger Botan. Instituts III. Bd., 1. Heft, S. 137.

grossen Alkoholmengen in grossen Schalen auch schon durch den Staub Spuren von Eisen von aussen hinein gelangen können. Und was war Hansen's Resultat? Er sagt auf S. 37 l. c.: „In Uebereinstimmung mit den physiologischen Thatsachen über die Nothwendigkeit des Eisens für das Ergrünern der Pflanzen ist die sehr geringe Eisenmenge, welche ich bei der Einäscherung gefunden habe, wohl als dem Chlorophyllgrün angehörig zu betrachten, da alle bei der Verseifung verwendeten Reagentien „absolut eisenfrei“ waren. In der sauren Lösung der aus Chlorophyllgrün dargestellten Asche entstand durch Rhodankalium immer eine Rothfärbung, die allerdings nur eine schwache zu nennen war.“ Obwohl also Hansen's Ausbeute an Farbstoff eine ausserordentlich reiche war — er spricht von 6—8 g festen Farbstoff und dieser lieferte 10.76 % Asche —, erhielt er nichtsdestoweniger nur eine schwache Reaction, mithin sehr geringe Eisenmengen.

Eigene Versuche.

Sorgfältig ausgelesene, tiefgrüne und nicht zu alte Blätter von *Dactylis glomerata* (Knäuelgras) wurden etwa 10 Minuten im siedenden destillirten Wasser belassen, das gelbliche Extract abgegossen, die Blätter dann mit destillirtem Wasser wiederholt gewaschen und schliesslich durch Abpressen vom Wasser möglichst befreit. Hierauf kamen die abgebrühten Blätter in absoluten Alkohol, in welchem sie 24 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur und bei Abschluss von Licht verblieben. Während dieser Zeit geht der grösste Theil des Farbstoffs in den Alkohol über. Nun wurde filtrirt, mit destillirtem Wasser sodann entsprechend soweit verdünnt, dass die Ausschüttelung mit Benzin prompt gelang und das Xanthophyll bloss im Weingeist zurückblieb. Stand die geschüttelte

Lösung 1—2 Tage im Finstern, so schied sich oben eine tief smaragdgrüne, herrlich roth fluorescirende Chlorophyll- und unten eine klare, gelbe Xanthophylllösung ab. Die Ausschüttelung nahm ich in schmalen, hohen Standgläsern vor, um das Benzolchlorophyll leicht mit der Pipette absaugen und eine Verunreinigung mit der unteren Xanthophylllösung leicht vermeiden zu können. Das im Porzellantiegel eingedampfte Chlorophyll wurde schliesslich nach der Veraschung lege artis auf Eisen geprüft.

Bei meinen Versuchen verwendete ich gewöhnlich 200 bis 500 g frischer Blätter und zur Extraction derselben circa $\frac{1}{2}$ —1 lit. Alkohol. 100 cm³ Benzin genügten zur Ausschüttelung. 100 g im Luftbad bei 100° C. getrocknete Blätter liefern etwa 1 % Farbstoff¹⁾), was mit den von Hansen auf ganz anderem Wege erhaltenen Resultaten ungefähr übereinstimmt.

Ganz besonders betont sei noch, dass das zur Verdünnung des Alkohols verwendete destillirte Wasser, der Alkohol und das Benzin, weil sie nachweisbare Eisenmengen enthielten, vor ihrem Gebrauch nochmals mit aller nur möglichen Sorgfalt überdestillirt wurden, sowie dass das Filtriren der alkoholischen Chlorophylllösung nur mit „aschefreien“ Filtern bewerkstelligt wurde. Wofern diese Vorsichtsmassregeln ausser Acht gelassen werden, kommen leicht kleine Eisenmengen in das Chlorophyll hinein.

Die Asche des also dargestellten Chlorophylls enthielt entweder eben noch nachweisbare oder gar keine nachweisbaren Eisenmengen. Was die in manchen Fällen gefundenen Spuren anbelangt, so waren dieselben so gering, dass man für die Reaction die

¹⁾ Die gäng und gäbe Ansicht, das Chlorophyll sei in der Pflanze in unendlich geringen Mengen vorhanden, ist bereits von Hansen mit Recht als unbegründet hingestellt worden.

www.libtochse.com
günstigsten Bedingungen herstellen musste, um die Reaction überhaupt kenntlich zu machen. Im Platintiegel kann einem die Reaction leicht entgehen, schwieriger im weissen Porzellantiegel wegen des weissen Untergrundes. Die Chlorophyllasche wurde gewöhnlich mit 5 Tropfen concentrirter Salzsäure in der Wärme gelöst, abgedampft, und dann mit ca. 50 mg Wasser, ca. 2 mg Salzsäure (1 : 3) und 1 mg concentrirter Blutlaugensalzlösung versetzt.

Bei meinen letzten Versuchen erhielt ich schliesslich fast nur negative Resultate, und zwar auch dann, wenn 1—1.5 g fester Farbstoff — derselbe lieferte etwa 2.3—2.6 % Asche — verascht wurde.

Der Professor für Chemie am Grazer Polytechnikum, Herr F. Emich, hatte die Güte, auf mein Ersuchen 1 g von mir dargestelltes festes Chlorophyll ebenfalls zu veraschen und auf Eisen zu prüfen — jedoch mit negativem Resultat. Dagegen konnte derselbe Calcium und Aluminium mikrochemisch erweisen, ersteres als $\text{Ca SO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, letzteres als Alaun. Beide Elemente stellen aller Wahrscheinlichkeit nach Verunreinigungen dar.

Das Chlorophyllmolekül enthält somit kein Eisen, und ich muss daher annehmen, dass die Eisenspuren, welche ich in einzelnen meiner Versuche und welche meine Vorgänger in der „Chlorophyllasche“ nachweisen konnten, auf Rechnung von Verunreinigungen zu stellen sind. Zweifellos haben die beiden Thatsachen, dass zur Chlorophyllbildung Eisen als nothwendig erkannt wurde und dass der im thierischen und menschlichen Stoffwechsel eine so hervorragende Rolle spielende Blutfarbstoff eine Eisenverbindung ist, die Forscher verlockt, die in der Chlorophyllasche aufgefundenen Eisenspuren dem Chlorophyll selbst zuzuschreiben.

Aber abgesehen von meinen schon allein beweiskräftigen

www.libtool.com/0

negativen Befunden der Aschenprüfung sprechen noch folgende Thatsachen ganz entschieden gegen den Eisengehalt des reinen Chlorophylls:

1. Habe ich stets bei meinen Versuchen eine rein weisse Asche erhalten. Würde das Chlorophyll, wie fast allgemein angenommen wird, aus C, H, O, N und Fe bestehen, dann müsste als Resultat der Veraschung reines Eisenoxyd oder im Falle von Verunreinigungen eine sehr eisenreiche und somit rostrothe Asche zurückbleiben. Die Eisenreactionen müssten brillant ausfallen. All das trifft aber gar nicht zu. Man verasche nur einmal vergleichsweise einen organischen eisenhaltigen Körper, z. B. Hämatin. Da ist das Aschenbild ein ganz anderes, die Asche ist nämlich rostroth (reines Fe_2O_3). Dieselbe Farbe zeigt die Asche von Blutlaugensalz oder von Rindsblut; man sieht also, dass sogar die zahlreichen anderen Aschensubstanzen, welche im Blut vorkommen, die Farben des Eisenoxys nicht zu decken vermögen.
2. Meine Methode des Nachweises von maskirtem Eisen lässt wohl, da dieselbe in der einzelnen *Mucor*-Spore und sonstigen Sporen von Erfolg begleitet ist, an Empfindlichkeit nichts zu wünschen übrig. Und doch habe ich häufig gefunden, dass die chlorophyllhaltige Zelle, oder wenn nach der Behandlung mit Kalilauge die Chlorophyllkörper noch erhalten bleiben, diese letzteren keine Reaction geben. Hier ist aber der negative Befund beweisend, und er gestattet überdies, dass, falls das vom Chlorophyll tingirte Plasma bezw. der Zellinhalt Eisenreaction zeigt, diese letztere von anderen Körpern und nicht vom Chlorophyll herrührt. Doch könnte man dagegen einwenden, dass die in der ein-

www.libtool.com.cn

zellen Zelle vorhandene Chlorophyllmenge viel zu gering sei, um noch eine wahrnehmbare Reaction geben zu können. Ich habe mir daher in der oben geschilderten Weise möglichst reines, festes Chlorophyll dargestellt, habe verschiedene Mengen desselben, $\frac{1}{10}$ bis 1 g, mit Kalilauge durch viele Tage behandelt und dann auf Eisen geprüft — aber stets mit ganz negativem Resultat.

3. Müsste man, falls man die in der Chlorophyllasche mitunter nachzuweisenden Eisenspuren dennoch auf dem Farbstoff zurückführen wollte, dem Chlorophyllmolekül eine Grösse zuschreiben, wie sie bisher für keinen Körper angenommen wurde.

Zur Begründung des Gesagten hebe ich aus meinen Notizen folgenden concreten Fall heraus:

8.8 mg Chlorophyllasche in 5 Tropfen concentrirter Salzsäure in der Wärme gelöst, abgedampft und ca. 50 mg Wasser, ca. 2 mg Salzsäure (1 : 3) nebst 1 mg concentrirter g Blutlaugensalzlösung hinzugefügt, zeigt keine erkennbare Blaufärbung. Dieselbe tritt sofort ein auf Zusatz von 10 mg Eisenammonalaunlösung (1 : 3000). Demnach sind in obiger Aschenmenge bedeutend weniger als 0.0004 mg Fe oder weniger als 0.005 % Fe enthalten.

Nimmt man nun beispielsweise die Formel des Chlorophylls mit $(\text{CH}_2\text{O})_x \cdot \text{Fe}$ an, so ist $(\text{CH}_2\text{O})_x \cdot \text{Fe} = 30x + 56$ und, wenn wir die oben zugesetzte Eisenmenge dem Chlorophyll zuschreiben, ergibt sich näherungsweise für $x = 37300$, mit hin für das Chlorophyllmolekül $\text{C}_{37300}\text{H}_{74600}\text{O}_{37300}\text{Fe}!!!$ — eine Formel von so colossaler Grösse, dass dieselbe schon aus theoretischen Gründen kein Chemiker für möglich halten wird.

VI. Abschnitt.

D i e C h l o r o s e.

Zu den schönsten Entdeckungen, welche die Geschichte der Pflanzenphysiologie aufzuweisen hat, gehört unstreitig die Heilung der Pflanzenchlorose durch Eisensalze. Die Entdeckung fällt in das Jahr 1843 und gebührt Eusèbe Gris. Indem es diesem gelang, chlorotische Blätter durch Eisensalze (Eisensulfat, Eisenchlorid, essigsaurer Eisen), welche er entweder durch die Wurzeln oder direct durch die Blätter aufnehmen liess, zu heilen, d. h. wieder zur Chlorophyllbildung anzuregen und hierdurch grün zu machen, warf er damit gleichzeitig ein helles Licht auf eine bestimmte Beziehung des Eisens zur grünen Pflanze. Die Versuche von E. Gris¹⁾ wurden später von Salm Horstmar²⁾, A. Gris³⁾, Sachs⁴⁾ und Stohmann⁵⁾ wiederholt, modifizirt und be-

¹⁾ De l'action d. composés ferrugineux sur la végétation 1843, ferner Nouvelles expériences sur l'emploi des ferrugineux solubles appliqués à la végét. 1844. Auszüge davon in Compt. rendus. 1844—1847.

²⁾ Versuche über die Ernährung der Pflanzen. 1856. S. 8 u. 16.

³⁾ De la chlorose et de l'action de fer. Annales d. scienc. naturel. 1857, IV. sér. Bd. 7, p. 201—206.

⁴⁾ Flora 1862, ferner Handbuch der Experimentalphysiologie. 1865. S. 142 ff. Hier auch eine ausführliche geschichtliche und kritische Darstellung des Gegenstandes, auf welche ich verweise.

⁵⁾ Versuchstationen. 1864, Bd. 6, S. 350.

www.libtoed.com.cn

Unter den Genannten hat namentlich Sachs durch lehrreiche Versuche Vieles geklärt und vor nicht langer Zeit auch den Gärtnern Mittel und Wege gezeigt, in welcher Weise Gewächshauspflanzen, Bäume und Sträucher von der Chlorose durch Eisenvitriol geheilt werden können¹⁾.

Dass eine Heilung nicht durch das dem Eisen so nahe verwandte Mangan und auch nicht durch Nickel und Thonerde bewerkstelligt wird, ist durch Versuche erwiesen²⁾. — Ich habe eine grosse Reihe von Versuchen mit Keimlingen über Chlorose gemacht und bei allen geprüften Pflanzenarten durch Eisenmangel deutliche Chlorose erzielt.

Die auf reinem Filterpapier gezogenen und mit reinem destillirtem Wasser begossenen Keimlinge kamen, nachdem ihre Wurzeln etwa 3—4 cm Länge erreicht hatten, in eine Nährlösung von folgender Zusammensetzung:

1 l destillirtes Wasser,
1 g salpetersaurer Kalk $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$,
 $\frac{1}{4}$ g Chlorkalium (KCl),
 $\frac{1}{4}$ g schwefelsaure Magnesia (Mg SO_4),
 $\frac{1}{4}$ g phosphorsaures Kali (KH_2PO_4).

Die Nährlösung der Controlversuche enthielt noch eine Spur Eisenvitriol oder Eisenchlorid.

Die Ergebnisse waren besonders prägnant, wenn das verwendete destillirte Wasser nach den Angaben von Stas gereinigt und die als „purissima“ gekauften Mineralsalze noch ein- bis zweimal umkristallisiert worden waren.

¹⁾ Erfahrungen über die Behandlung chlorotischer Gartenpflanzen. Arbeiten d. bot. Inst. z. Würzburg. III. Bd., 4. Heft, S. 433. Vergl. ferner Sachs, Das Eisen und die Chlorose der Pflanzen. Naturwissenschaft. Rundschau 1886, S. 257.

²⁾ Die diesbezügliche Literatur bei Pfeffer, Pflanzenphysiologie I, S. 257.

www.libtool.com.cn Im Folgenden gebe ich den Befund, den die Pflanzen in eisenfreien Lösungen darboten:

1. *Cucurbita Pepo*. Die Cotylen waren normal grün, aber schon das erste Primordialblatt war hellgelb-grün, ebenso das zweite, die Pflanzen stellten sodann ihr Wachsthum ein.
2. *Vicia sativa*. Die ersten 4—6 Blätter werden tiefgrün, das folgende ist gewöhnlich hellgelbgrün. Der Haupttrieb stellt sein Längenwachsthum ein und entwickelt chlorotische Seitentriebe mit weissgelben Blättern.
3. *Pisum sativum*. Die ersten 3—4 Blätter grün. Das folgende gewöhnlich hellgelbgrün und die darnach entstehenden sammt den Ranken fast schneeweiss.
4. *Helianthus annuus*. Die Cotylen normal grün. Das folgende erste Blattpaar gewöhnlich hellgelbgrün, die beiden nächsten gelb oder weisslichgelb. Nun wachsen die Keimlinge nicht mehr weiter, die Blätter vertrocknen stellenweise und sterben schliesslich ganz ab.
5. *Brassica oleracea* (Rothkraut). Die Cotylen werden tiefgrün. Schon das folgende Blatt ist röthlichweiss mit rothen Adern. Das zweite Blatt ebenso.
6. *Phaseolus multiflorus*. Die in eisenfreien Lösungen stehenden Keimlinge entwickeln gewöhnlich nur 5 Blätter von bleichgrüner Farbe. Auch Sachs¹⁾ erhielt bei *Phaseolus* niemals weisse Blätter, sondern nur äusserst hellgrüne und durchscheinende. Dadurch aber, dass ich frühzeitig den Keimlingen ihre Cotylen und damit den grössten Theil ihres Eisenvorrathes nahm, erhielt ich zwar viel kleinere Pflanzen, aber mit weissen Blättern.

¹⁾ Experimentalphysiologie I. c. S. 144.

www.libtool7ccZearMais. Die ersten zwei oder drei Blätter werden, wie dies bereits Sachs angibt, normal grün, die folgenden gelblichweiss oder weiss.

Bei allen Pflanzen habe ich Heilung der Chlorose erzielt durch Hinzufügen von 1—5 Tropfen einer verdünnten Eisenchlorid- oder Eisenvitriollösung zu $\frac{1}{2}$ l Nährlösung. In warmen Sommertagen zeigt sich der Effect schon nach 24 Stunden, nach 3—4 Tagen ist von der Chlorose der jüngeren Blätter dann nichts mehr zu sehen. Das Ergrünen beginnt gewöhnlich von den Blattrippen aus und stellt sich zuerst an jüngeren, noch wachsenden Blättern ein, hingegen entwickeln alte chlorotische Blätter nur wenig oder gar kein Chlorophyll mehr.

Auch durch Bestreichen der Blätter mit sehr verdünnten Eisenlösungen konnte ich Ergrünen hervorrufen, womit die Richtigkeit dieses alten schönen Versuches von E. Gris neuerdings erhärtet erscheint. Zu diesem Experiment eignen sich besonders leicht benetzbare Blätter (*Helianthus*).

Dass das erste oder die ersten Blätter der Keimpflanzen in eisenfreien Lösungen ergrünern, darf mit Rücksicht auf den im Samen steckenden Eisenvorrath nicht Wunder nehmen. Darauf hat bereits Sachs hingewiesen, und auf Grund meiner mikrochemischen Untersuchungen geht hervor, dass der junge Keimling seinen Eisenbedarf vorzugsweise aus den Globoiden der Aleuronkörner und aus den Procambiumsträngen, welche sozusagen Eisen-speicher darstellen (siehe S. 57—58), deckt. Sowie dieser Eisenvorrath erschöpft ist, hört die Chlorophyllbildung, wofern nun Eisen nicht von aussen zugeführt wird, auf; der Production organischer Substanz ist damit ein Ziel gesetzt. Eine solche chlorotische, an Eisenhunger leidende Pflanze hört auf zu

www.libtool.com.ua
wachsen; nach einiger Zeit sterben die Blätter ab, relativ später die Stengel und Wurzeln.

Auch in der freien Natur findet man nicht selten chlorotische Pflanzen. Eine Fülle diesbezüglicher Beobachtungen und Erörterungen verdanken wir S a c h s¹⁾). Erscheint es an und für sich befremdend, wenn bei dem geringen Eisenbedürfniss der Pflanze und dem relativ grossen Eisenreichtum, man kann wohl sagen, der meisten Bodenarten, Chlorose überhaupt im Freien auftritt, so wird diese Erscheinung noch befremdender durch den Umstand, dass stets nur einzelne Individuen mitten unter Hunderten von normalen Chlorose aufweisen (*Sisymbrium Alliaria*, *Urtica dioica* etc.). Ja, es kommt vor, und bei alten Bäumen der Rostkastanie ist dies eine geradezu häufige Erscheinung, dass an ein und demselben Individuum unter zahllosen Zweigen mit normalen Blättern ein vereinzelter mit schneeweissen auftritt. Mit Recht hat S a c h s darauf aufmerksam gemacht, dass die Ursache in diesen Fällen nicht in einem etwaigen Eisenmangel des Bodens, sondern in der Pflanze, d. h. in funktionellen Störungen derselben, liegen muss, in Folge welcher das in der Erde gebundene Eisen nicht aufgenommen oder nach bestimmten Orten nicht fortgeleitet wird. Ueber die Störungen, welche eine derartige localisierte Chlorose bedingen, lässt sich wohl vor der Hand nichts Bestimmtes aussagen; hingegen hat S a c h s gezeigt, dass an sonst gesunden Holzpflanzen Chlorose auftreten kann, wenn dieselben allzu rasch wachsen und ihre Sprossen sich so schnell verlängern und so rasch Blätter hintereinander bilden, dass das zugeleitete Eisen dem augenblicklichen relativ grossen Bedürfniss nicht genügt.

S a c h s konnte diese Erscheinung besonders an solchen

¹⁾ Erfahrungen über die Behandlung chlorotischer Gartenpflanzen, l. c.

www.libto.de/1000001 Holzgewachsen beobachteten, deren Kronen er während der Winterruhe lichten liess und die im folgenden Frühjahr mit grosser Energie austrieben (*Robinia Pseudacacia*, *Spiraea opulifolia*, *Castanea vesca*, *Quercus*-Arten u. v. a.). Dasselbe habe ich an jungen, ausserordentlich rasch wachsenden Sprossen geköpfter Rosskastanienbäume und an beschnittenen Hecken von *Carpinus Betulus* bemerkt; doch war die Chlorose in den beiden Fällen keine vollständige.

Bisher hat man im guten Glauben darauf, dass das Eisen für die Ernährung der Pilze nicht nothwendig und dass dasselbe allem Anscheine nach nur für die Chlorophyllbildung von Bedeutung ist, die Chlorose als directe Folge des Eisenmangels hingestellt. Wenn ich jedoch erwähne, dass — wie im nächsten Capitel bewiesen werden wird — das Eisen ein ebenso nothwendiges Nährelement für die Pilze darstellt, wie für die chlorophyllerzeugende Pflanze, so wird wohl kaum die Annahme von der Hand zu weisen sein, dass mit dem Mangel an Eisen im Organismus, gleichgültig ob grün oder nicht grün, Störungen eintreten, die eine normale Function des Plasmas überhaupt nicht zulassen. Trifft dies für die grüne Pflanze zu, dann wäre die Chlorose höchstwahrscheinlich nicht eine directe Folge des Eisenmangels, sondern erst eine Folge dieser Störungen und mithin blass ein Symptom eines krankhaften Zustandes des Protoplasmas.

Anmerkung. Jene Variation zahlreicher Gewächse, die man gewöhnlich als Panachirung bezeichnet, die durch hellgrüne, hellgelbe oder weisse Färbung einzelner Theile oder ganzer Blätter charakterisirt ist und auf einem abnormalen Verhalten des Chromatophoresystems beruht (vgl. Zimmermann, A., Beiträge zur Morphologie und Physiologie der

www.libtool.com.cn
Pflanzenzelle, 2. Heft, S. 81), verdankt ihre Entstehung derzeit noch unbekannten Ursachen. Mit der Chlorose, d. h. mit einem Unterbleiben von Chlorophyllbildung in Folge von Eisenmangel, hat die Panachirung nichts zu thun, wie übrigens schon aus der täglichen Erfahrung und aus der Thatsache hervorgeht, dass sie vererbar ist.

Panachirte Pelargonien, Hortensien, Fuchsien und *Bal-lota*, die ich während eines ganzen Jahres mit Eisenvitriol sozusagen überschwemmte, theils dadurch, dass ich mehrere gröbere, etwa haselnuss grosse Stücke in die Topferde brachte, theils dadurch, dass ich das genannte Eisensalz in grösserer Menge auf die Topferde legte und von Zeit zu Zeit ersetzte, behielten, obwohl sie überaus reichlich Eisen aufnahmen, nichtsdestoweniger die Panachirung bei.

Untersucht man panachirte Blätter mit Hülfe meiner Eisenprobe, so lässt sich sowohl in den chlorophyllhältigen als in den chlorophylllosen Blattpartien Eisen nachweisen, und zwar häufig in den weissen oder bleichen Partien sogar mehr als in den grünen.

Bei derartigen Versuchen mit Topfpflanzen ist zu beachten, dass dieselben nicht im Freien vorgenommen werden dürfen, weil sonst bei anhaltendem Regen sich zuviel von dem Eisenvitriol löst und die Pflanzen an Vergiftung rasch zu Grunde gehen.

VII. Abschnitt.

Ueber die Nothwendigkeit des Eisens für die Pilze.

I. Historisches und Kritisches.

Der Erste und Einzige, welcher die Nothwendigkeit des Eisens für Pilze behauptete und experimentell zu erweisen suchte, war Raulin. In seiner inhaltsreichen und für die damalige Zeit in mehrfacher Beziehung exacten Arbeit¹⁾) machte er die bemerkenswerthe, merkwürdiger Weise aber seitdem von Niemandem mehr gewürdigte Beobachtung, dass ein geringer Eisenzusatz (Eisensulfat etc.) zu einer künstlichen Nährlösung die Entwicklung von *Aspergillus niger* in hohem Grade fördert. Die Erntegewichte des Pilzes bei Cultur ohne und mit Eisen verhielten sich gewöhnlich etwa wie 1 : 2. In den Eisenculturen war also doppelt so viel Pilztrockensubstanz entstanden, als in den Controlleculturen ohne Eisen.

Verschiedene Einwände, die gegenüber diesem Resultat noch erhoben werden könnten, hat Raulin selbst wieder durch Versuche kritisch geprüft und widerlegt. Nur ein und zwar ein sehr wichtiger Einwand blieb unerledigt. Bei Raulin's Versuchen entwickelten sich die Pilze auch in den

¹⁾ Raulin, J., Etudes chimiques sur la végétation. Annales des sciences naturelles. V. sér. T. XI (1869), p. 93—298.

www.libtool.com/eisenfreien „eisenfreien“ Culturen normal, nur nicht mit der Ueppigkeit, wie in den eisenhaltigen. Die Entwicklung in den Culturen der ersten Art sei nur möglich gewesen auf Grund geringer Eisenmengen, die als Verunreinigungen in die „eisenfreien“ Lösungen hineingekommen waren und welche wegzuschaffen nicht möglich sei.

Den Nachweis dieser Eisenspuren ist Raulin schuldig geblieben, die damaligen Mittel dürften auch tatsächlich zu ihrem Nachweis nicht ausgereicht haben. Aber zugegeben, dass tatsächlich Eisen vorhanden war, woran ich nach meinen jetzigen Erfahrungen keinen Augenblick zweifeln darf, so bleibt eben, da die Entwicklung der Pilze in beiden Culturen normal und nur mit graduell verschiedener Ueppigkeit erfolgte, auch der Schluss noch möglich, dass das Eisen für die Pilze nicht nothwendig ist, wohl aber ihr Gedeihen in hohem Grade fördert. Der Nachweis der Nothwendigkeit des Eisens wäre meiner Meinung nach erst dann erbracht, wenn in möglichst eisenfreien Lösungen sich der Pilz entweder gar nicht oder nicht vollständig, d. h. nicht bis zur Fructification entwickeln würde. Dies war aber bei Raulin's Versuchen nicht der Fall.

Nach Cugini¹⁾ scheint das Eisen für die Pilze entbehrlich zu sein.

Mit Sicherheit glaubt dies Adolf Mayer²⁾ für die Hefe annehmen zu müssen. Er stützt sich dabei auf folgende Sätze:

1. Die grünen Gewächse bedürfen des Eisens nur zu einem bestimmten Zweck, nämlich zur Bildung von Chlorophyll. Da die Hefe kein Chlorophyll besitzt, bedarf sie auch nicht des Eisens.

¹⁾ Just, Botan. Jahresber. 1876. S. 114.

²⁾ Lehrbuch der Gährungsschemie. Heidelberg 1879. S. 144.

www.libtool.com.cn

2. Um Hefe in Nährösungen zu ziehen, ist es unnöthig, Eisen hinzuzufügen.

3. In der Asche von Bierhefe konnte Eisen mitunter nicht nachgewiesen werden.

Dagegen wende ich Folgendes ein:

ad 1. Es ist nicht erwiesen, dass das Eisen in der grünen Pflanze nur eine physiologische Leistung, nämlich die Entstehung von Chlorophyll, übernimmt. Vorläufig kennen wir allerdings nur diese eine Function, ob aber dem Eisen in der grünen Pflanze nicht noch andere zukommen, wissen wir derzeit nicht.

ad 2. Nach meinen Erfahrungen, die ich weiter unten noch genauer schildern werde, muss ich es derzeit für unmöglich halten, eine absolut eisenfreie Nährösung für Pilze herzustellen. Da nun die Pilze überhaupt sehr wenig mineralische Substanzen brauchen und oft mit minimalen Mengen derselben bereits ihr Auslangen finden, so dürfen wir uns nicht wundern, dass schon durch die Verunreinigungen genügend Eisen in die Nährösungen hineinkommt und ein weiterer Zusatz dieses Metalls überflüssig ist.

ad 3. Wenn in gewissen Analysen das Eisen in der Hefear sche vermisst wurde, so beruht dies entweder auf Ungenaugkeit oder Unvollkommenheit der angewandten Methoden. Mit Hilfe meiner Kali-Blutlaugensalz-Eisen-reaction kann man mit Leichtigkeit das Eisen selbst in unwägbaren Quantitäten von Hefe nachweisen.

A. Schulz¹⁾ behauptet die Entbehrlichkeit des Eisens für den Kahmpilz (*Saccharomyces Mycoderma*). Gegen

¹⁾ Just, Botan. Jahresbericht 1877. S. 84.

www.libtool.com.cn ihn lassen sich dieselben Einwände geltend machen, wie gegen Mayer.

Die in alle Lehr- und Handbücher der Botanik übergegangene Angabe, dass das Eisen für die Pilze unnöthig ist, stützt sich in erster Linie auf die Autorität C. Nägeli's¹⁾. Bekanntlich hat sich dieser um die Kenntniss von der Ernährung der Pilze durch seine zahlreichen Versuche grosse Verdienste erworben.

Was aber speciell die Beziehungen des Eisens zu den Pilzen anbelangt, so hat der genannte Forscher nicht einen einzigen Versuch darüber publicirt. Ich wenigstens habe in Nägeli's Schriften, besonders aber in der hier am meisten in Betracht kommenden: „Die Ernährung der niederen Pilze durch Mineralstoffe“, vergeblich nach solchen gesucht. Offenbar gelangte Nägeli zu seiner Ansicht nicht auf Grund einschlägiger Versuche, sondern auf Grund der Mayer'schen Angaben.

Das, was also Nägeli über die Entbehrlichkeit des Eisens für die Pilze gesagt hat²⁾, entbehrt vorläufig jeder experimentellen Begründung und erweist sich als eine unbewiesene Behauptung.

Wie man gegenwärtig über die Bedeutung des Eisens für die Pilze denkt, geht am besten aus den Worten Pfeffer's³⁾ hervor: „Die Pilze scheinen nach A. Mayer, Nägeli, Cugini, A. Schulz Eisen nicht zu bedürfen, und hiernach dürfte der gegentheilige Befund Raulin's wohl nicht zutreffend sein.“

¹⁾ Die Ernährung der niederen Pilze durch Mineralstoffe. Sitzungsberichte d. math.-physik. Classe d. k. b. Akad. d. Wissenschaften zu München. Bd. X. Jahrg. 1880. S. 340. Nachtrag zur Sitzung vom 5. Juli 1879.

²⁾ l. c. S. 340.

³⁾ Pflanzenphysiologie I. Bd. S. 257—258.

www.libtool.com 2.1. Das Eisen, ein normaler Bestandtheil der Pilze.

Wenn, wie ich weiter unten beweisen werde, das Eisen ein für die Ernährung der Pilze unentbehrlicher Stoff ist, dann muss auch in jedem Pilze Eisen vorhanden sein. Diesen Nachweis habe ich vor allem Andern zu bringen. Gelingt derselbe, so folgt daraus allerdings noch nicht die Notwendigkeit des Eisens für die Pilze, diese könnten ja dasselbe zwar resorbiren, ohne es aber in ihrem normalen Stoffwechsel factisch zu verwerthen, ähnlich so wie viele Pflanzen Kiesel-säure, Natron und andere Verbindungen zwar aufnehmen, doch ihrer nicht unumgänglich nothwendig bedürfen. Immerhin wäre der obige Nachweis als eine Stütze für das Ergebniss der Ernährungsversuche, die hier allein das entscheidende Wort zu sprechen haben, zu betrachten, ja er erscheint, im Falle der Unentbehrlichkeit des Eisens, geradezu als ein nicht zu umgehendes Postulat.

Ueber das Vorkommen von Eisen habe ich in der Literatur nur sehr wenige Angaben vorgefunden. In Wolf's Aschenanalysen werden *Sphacelia segetum*, *Saccharomyces*, *Tuber cibarium*, *Helvella esculenta* und *Morchella*-Arten als eisenhaltig angeführt.

Cugini¹⁾) hat die Asche von *Agaricus naucinus* Fr., *Polyporus spumeus* Fr. und *P. dryadeus* Fr. stark eisenhaltig gefunden.

Dass das Eisen nur ganz ausnahmsweise in locker gebundener Form nachweisbar ist, geht bereits aus meinen auf S. 20—21 mitgetheilten Beobachtungen hervor. Es war daher für mich von vornherein klar, dass das Eisen, wenn es in der Gruppe der Pilze verbreitet sein sollte, in der Regel in fester organischer Bindung auftritt.

¹⁾ l. c.

Die von mir geprüften und in nachstehender Tabelle zusammengestellten Pilze (zumeist Herbarexemplare) kamen in kleinen Fragmenten durch acht Tage oder noch länger in gesättigte Kalilauge und wurden dann in der auf S. 6 geschilderten Weise auf Eisen untersucht. Für meine Zwecke hat vorläufig nur die Thatsache Interesse, ob Eisen im Pilzkörper vorhanden ist oder nicht, daher habe ich auf die Vertheilung des Metalls in dem Pilz keine Rücksicht genommen, es genüge die Bemerkung, dass das Eisen ebenso wie bei der grünen Pflanze auch hier in den meisten Zellen nachweisbar war.

Name des Pilzes	Eisenreaction	Anmerkung
<i>Aecidium Berberidis</i> . . .	Reaction deutlich	
<i>Agaricus campestris</i> L. . .	" "	
" <i>melaspermus</i> Bull.	" "	
" <i>procerus</i> Scop. . .	" "	
<i>Aleuria aurantia</i> Fckl. . .	" "	
<i>Aspergillus niger</i> . . .	" "	
<i>Boletus macrosporus</i> Rost.	" "	
<i>Cantharellus cibarius</i> Fr.	" schwach	
<i>Clavaria abietina</i> Schum. .	" deutlich	
" <i>flava</i> Pers. . . .	" "	
<i>Coprinus</i> sp.	" "	
<i>Cortinarius amorphus</i> Fr.	" "	
<i>Craterellus crispus</i> Fr.. .	" "	
<i>Crucibulum vulgare</i> Tul. .	" schwach	
<i>Cyathus striatus</i> Hoffm. .	" deutlich	
<i>Daedalea quercina</i> . . .	" "	
" <i>unicolor</i> . . .	" "	
<i>Fumago Tiliae</i> Fckl. . . .	" "	
<i>Geoglossum glabrum</i> Fr. .	keine Reaction	In der Asche Eisen leicht nachweisbar.
<i>Hirneola Auricula Judae</i> Berk.	Reaction deutlich	
<i>Hydnnum ferrugineum</i> Fr. .	" "	
" <i>suaveolens</i> Scop. .	" "	
" <i>melaleucum</i> Fr. .	" "	

Name des Pilzes	Eisenreaction	Anmerkung
<i>Hygrophorus ceraceus</i> Fr.	Reaction deutlich	
<i>Hypoxylon coccineum</i> Fr.	keine Reaction	In der Asche Eisen leicht nachweisbar
" <i>cohaerens</i> Fr. . .	" "	do.
<i>Lactarius torminosus</i> Fr. . .	Reaction deutlich	
<i>Lycoperdon pyriforme</i> Schff.	" "	
<i>Marasmius Rotula</i> Fr. . .	" "	
" <i>androsaceus</i> Fr.	" "	
<i>Melampsora populina</i> Tul.	" "	
<i>Merulius tremellosus</i>		
Schrad.	" "	
" <i>serpens</i> Tode . .	" "	
<i>Mucor Mucedo</i>	" "	
" <i>stolonifer</i>	" "	
<i>Nectria cinnabarina</i> Fr. . .	" "	
<i>Panus mollis</i> Fr.	" schwach	
<i>Penicillium glaucum</i> . . .	" deutlich	
<i>Phragmidium obtusum</i> Knz.		
u. Sch.	" "	
<i>Phycomyces nitens</i>	" "	
<i>Polyporus fomentarius</i> Fr.	" sehr schwach	In der Asche Eisen nachweisbar
" <i>igniarius</i> Fr. . .	" " "	do.
" <i>velutinus</i> Fr. . .	" keine	do.
" <i>versicolor</i> Fr. . .	" deutlich	
<i>Polysaccum tuberosum</i> Fr.	" schwach	
<i>Rhytisma acerinum</i> Fr. . .	" "	
<i>Russula alutacea</i> Fr.	" deutlich	
<i>Saccharomyces</i> sp.	" schwach	
<i>Sclerotium Clavus</i> DC. . . .	" "	
<i>Schizophyllum commune</i> Fr.	" deutlich	
<i>Stereum purpureum</i> Fr. . . .	" "	
<i>Trametes odorata</i> Fr. . . .	" schwach	
<i>Uromyces Phaseolorum</i>		
De By.	" deutlich	
<i>Ustilago Maidis</i> DC.	" sehr schwach	
" <i>Carbo</i> Tul.	" keine	In der Asche Eisen leicht nachweisbar

www.libtool.com.cn Aus meinen Untersuchungen folgt also mit Sicherheit, dass alle geprüften Pilze Eisen enthalten und zwar ebenso wie die anderen Pflanzen, gewöhnlich in fester organischer Bindung, d. h. in maskirter Form. Und da sich dieses Resultat ergeben hat an einer grossen Reihe von Pilzen, die ohne jede Auswahl zur Untersuchung herangezogen wurden, so zögere ich nicht, den obigen Satz zumal mit Rücksicht auf die Ergebnisse der Ernährungsversuche auf alle Pilze, ja auf alle chlorophylllosen Pflanzen zu beziehen. Denn auch die letzteren enthalten, wie ich mich an *Monotropa Hypopitys*, *Lathraea Squamaria* und anderen überzeugte, ebenfalls stets Eisen.

Besondere Beachtung verdient auch die von mir gemachte Beobachtung, dass bei manchen Pilzen, wie *Geoglossum glabrum* Fr., *Hypoxylon coccineum* Fr., *H. cohaerens* Fr., *Polyporus igniarius* Fr., *P. velutinus* und *Ustilago Carbo* Tul., das Eisen an organische Körper so fest gebunden ist, dass es auch nicht mit Hilfe meiner Methode, wohl aber in der Asche nachgewiesen werden kann. Da die Membranen gerade dieser Pilze durch auffallende Farbstoffe gefärbt erscheinen, und da Eisen enthaltende organische Farbstoffe, wie z. B. der Blutfarbstoff und das Aspergillin¹⁾, das Eisen in ausserordentlich fester Bindung enthalten, so liegt die Vermuthung nahe, dass hier gerade die Farbstoffe das Eisen so vollkommen maskiren dürfen. Eine eingehende Prüfung des berührten Gegenstandes hoffe ich später durchführen zu können.

Anmerkung. Noch auf einen Punkt möchte ich im Vorbeigehen aufmerksam machen. Mir fiel nämlich auf, dass

¹⁾ Vergl. darüber S. 116.

www.libto
manchen Pilzmembranen, so z. B. die von *Panus mollis* Fr., *Cantharellus cibarius* Fr., *Clavaria abietina* Schum., *Crucibulum vulgare* Tul., *Agaricus mela-spermus* Bull., *Hygrophorus ceraceus* Fr., *Hydnnum melaleucum* Fr., *Cortinarius amorphus* Fr. etc., von der gesättigten Kalilauge nach mehrwöchentlicher Einwirkung in eigenartiger, sonst nirgends von mir im Pflanzenreiche beobachteter Weise angegriffen werden, so zwar, dass sie beim Eintauchen in's Wasser zerfliessen.

3. Ernährungsversuche.

Zweifellos benötigen die Pilze, wenn sie des Eisens überhaupt bedürfen, nur minimaler Mengen davon, denn Jeder, der sich mit der Cultur von Pilzen abgegeben hat, weiss zur Genüge, dass es, um normale Culturen zu erhalten, überflüssig ist, Eisen beizufügen. Zur Entscheidung unserer Frage musste vor Allem der Versuch gemacht werden, eine von Eisen freie Nährlösung herzustellen oder falls dies nicht möglich wäre, das Eisen auf ein solches Minimum herabzudrücken, dass der Pilz damit nicht mehr sein Auslangen findet.

Bei der ausserordentlichen Verbreitung des Eisens im Reiche der Anorganismen und der Organismen und bei den ausserordentlich geringen Ansprüchen, die die Pflanze an das Eisen stellt, musste diese Aufgabe schon von vornherein als eine sehr heikle und schwierige erscheinen, ich gestehe aber offen ein, dass ich, obwohl ich mich durch zwei Jahre hindurch von der, ich möchte fast sagen Allgegenwart des Eisens in der Natur zu überzeugen Gelegenheit hatte, von der Schwierigkeit meines Vorhabens erst die richtige Vorstellung erhielt, als ich daran ging, es auszuführen.

Ich bemerke gleich im vorhinein, dass alle für uns in Betracht kommenden Substanzen in dem Zustande, wie sie aus

den chemischen Fabriken geliefert werden, direct nicht verwendet werden dürfen, auch wenn die Substanz in schönen Krystallen und mit der üblichen Vignette „purissimum“ vorliegen sollte. Diese möglichst reinen Objecte bilden erst den Ausgangspunkt zur Reindarstellung¹⁾.

Destillirtes Wasser. Schon das in gewöhnlicher Weise hergestellte destillirte Wasser war für meine Zwecke unbrauchbar, weil dasselbe, in grösserer Menge ($\frac{1}{2}$ Liter) eingedampft, nachweisbare Spuren von Eisen aufwies.

Ich verschaffte mir reines destillirtes Wasser, indem ich, dem Beispiele von Stas²⁾ folgend, das bereits destillirte Wasser nochmals destillirte und hierbei zum Condensiren des Dampfes ein Kühlgefäß von Platin benutzte und das condensirte Wasser in einem grossen bedeckten Platingefäß auffing. 100 cm³ solchen Wassers eingedampft, hinterlassen keinen Rückstand.

Bei meinen Pilzculturen habe ich mich ausschliesslich dieses Wassers bedient, ebenso zur endgültigen Reinigung der Culturgefäße. Wenn daher im Folgenden von destillirtem Wasser die Rede ist, so ist stets das in der eben geschilderten Weise gereinigte destillirte Wasser gemeint.

Eine ganz besondere Sorgfalt musste auf die Reinheit des organischen Nährmaterials verwendet werden, da von demselben relativ sehr viel zur Nährlösung gegeben werden musste, viel mehr als von den mineralischen Stoffen.

¹⁾ Mein verehrter Freund und College, Herr Prof. F. Emich, stellte mir zu diesem Zwecke die Behelfe seines chemischen Laboratoriums mit der grössten Zuvorkommenheit zur Verfügung. Hierfür sowie für eine Reihe werthvoller chemischer Präparate sage ich ihm meinen herzlichsten Dank.

²⁾ J. S. Stas, l. c. S. 110. Siehe den Abschnitt: Ueber die Bereitung des reinen destillirten Wassers.

www.libtool.Ich benutzte Rohrzucker, Glycerin oder essigsaurer Ammon.

Zucker. Nach König besteht der reinste Rohrzucker des Handels aus 99.9 % Zucker, 0.05 % Wasser und 0.05 % Nichtzucker, d. h. organischen und Aschensubstanzen. Gewöhnlich enthalten aber selbst sehr reine Handelssorten bedeutend mehr von Verunreinigungen, z. B. Aschensubstanzen 0.1—0.2 %.

Der von mir verwendete reinste Candiszucker (grosse klare Krystalle) hinterliess, wenn auch nur 1—3 g. verbrannt wurden, eine sehr kleine Menge bräunlicher Asche, welche deutlich auf Eisen reagirte. Nach zweimaligem Umkrystallisiren gab der Zucker — bei Anwendung von etwa 5—10 g — eine eben noch merkbare Spur von Asche, in welcher Eisen aber nicht mehr nachweisbar war.

Glycerin. Das reinste Glycerin des Handels enthält, wie ich mich mehrfach überzeugte, Eisen. Um dasselbe von den Eisenspuren möglichst zu befreien, wurde es im Vacuum destillirt¹⁾.

Essigsaurer Ammon. Die Wahrscheinlichkeit, dasselbe sehr rein zu erhalten, ist entschieden grösser als beim Zucker, da sich das essigsaurer Ammoniak aus zwei flüchtigen und leicht überdestillirbaren Körpern zusammensetzt. Doch dürfen zur Darstellung nicht die Handelsproducte direct verwendet werden. Dampft man 50 cm³ reinster Essigsäure des Handels in der Platinschale ein, so bleiben bräunliche Ringe zurück, die beim Veraschen nicht ganz verschwinden und deutliche Eisenreaction geben. Erst nach dreimaliger Destil-

¹⁾ Für die mühevolle und sorgfältige Durchführung dieser Arbeit sowie für die Reindarstellung einiger anderer Substanzen bin ich Herrn stud. chem. O. Prelinger zu grossem Danke verpflichtet.

www.libtool.com lation gab die Essigsäure keinen Rückstand mehr. Durch Einleiten von Ammoniak dampf in diese Essigsäure bis zur neutralen Reaction erhielt ich das essigsaure Ammon. —

Von Aschen substanzen benötigte ich: Schwefelsaure Magnesia, Monokaliumphosphat und Chlorammonium.

Das Magnesiumsulfat reinigte ich durch dreimaliges Umkristallisiren.

Das Monokaliumphosphat erhielt ich durch Vermischung von Phosphorsäure (gewonnen durch Sublimation von Phosphorpentoxyd) und zweimal umkristallisiertem Kaliumbicarbonat.

Das Chlorammonium wurde in Platingefässen sublimirt.

Ich experimentirte hauptsächlich mit *Aspergillus niger* van Tiegh¹⁾). Er gedeiht auf meinen Nährösungen sehr gut, liefert ein bedeutendes Erntegewicht und gibt seine Conidienfrüchte durch eine dunkle Farbe leicht zu erkennen, ein Umstand, der, wie wir später noch sehen werden, gerade für unsere Zwecke ungemein erwünscht ist.

Als Culturgefäße benutzte ich Erlenmeyer'sche Kolben von 235 cm³ Inhalt. Jeder dieser Kolben wurde vor dem Gebrauche mit Salpetersäure, dann mit Kalilauge und mit reinem destillirten Wasser sorgfältig gereinigt.

Jeder Kolben erhielt 50 cm³ Nährösung, eine Sterilisirung derselben unterblieb, da sie sich in Anbetracht meines Zwecks als nicht nothwendig erwies und während einer solchen durch das siedende Wasser leicht etwas Eisen aus dem Glas

¹⁾ Den *Aspergillus niger* konnte ich mir — ich verdanke diesen Wink dem bekannten Wiener Mykologen H. Zukal — mit Sicherheit verschaffen, indem ich käufliche Galläpfel 24 Stunden einquellte und dann im feuchten Raume beliess. Nach mehreren Tagen erschien *Aspergillus*, die Oberfläche der Galläpfel mit seinen schwarzen Köpfchen über und über bedeckend.

www.libtpd.com.cn

hatte in Lösung übergeführt werden können. Die Impfung erfolgte mittelst einer Platinöse von einer Glycerinreincultur unter möglichst gleichen Bedingungen, so dass in jedes Kölбchen eine annähernd gleiche Sporenmenge hineingelangte. Nachdem die Kölбchen noch mit Wattepropfen verschlossen worden, wurden sie im finsternen Brütofen bei constanter Temperatur aufgestellt.

1. Versuchsreihe.

Temperatur 20° C.¹⁾

Zusammensetzung der Nährlösung:

500 g Wasser,
15 g Rohrzucker,
2.75 g Chlorammonium,
0.25 g Monokaliumphosphat,
0.25 g schwefelsaure Magnesia.

Mit dieser Nährlösung wurden 10 Kölбchen, jedes mit 50 cm³, beschickt. Fünf davon erhielten noch reines Eisensulfat in verschiedenen Mengen. Dauer des Versuchs 18 Tage. Nach 4 Tagen hatten sich in allen Gefässen an der Oberfläche zahlreiche Räschen mit Früchten gebildet, ein deutlicher Unterschied war vorläufig nicht erkennbar. Von nun an wird der Unterschied täglich deutlicher, in den „Eisen-culturen“ bildet sich nach und nach eine dicke, in Folge massenhafter Conidienproduction kohlschwarze Decke, während in den eisenfreien Controlculturen die Entwicklung des Pilzes auf dem status quo ante verbleibt. Nach 18 Tagen gewähren die beiden Culturen einen so verschiedenen Anblick, dass Jeder, dem ich die 10 Gefässer zeigte, die eisenfreien von den eisenhaltigen mit den ungemein üppigen Pilzdecken sofort unterschied.

¹⁾ Bei niedereren Temperaturen gedeiht unser *Aspergillus* schlecht, am besten nach Raulin bei 34° C.

www.libtool.com.cn Schliesslich wurde die Pilzmasse jedes Kölbchens auf gewogene Filter gebracht, bei 110° C. getrocknet und gewogen,

Tabelle I.

Nr. des Versuchs	Pilzgewicht in mg. „Eisenfreie“ Cultur	Pilzgewicht in mg. Eisencultur	Zugesetztes Eisenvitriol
1	105	280	0.002 %
2	99	274	0.002 %
3	85	270	0.002 %
4	88	310	0.003 %
5	73	346	0.004 %

Aus der Tabelle geht der günstige Einfluss des Eisens auf das Gedeihen des Pilzes unzweifelhaft hervor. Bei Zusatz von nur 0.004 ‰ Eisensulfat beträgt das Pilzgewicht annähernd das Fünffache von dem der Controlcultur. Auf Rechnung der Schwefelsäure der Eisenverbindung kann diese Einwirkung nicht gestellt werden, da ja auch in den eisenfreien Culturen Schwefelsäure (gebunden an Magnesia) vorhanden ist und, wie ich mich überzeugte, auch am Ende des Versuchs noch reichlich vorhanden war. Uebrigens kann man sich leicht überzeugen, dass sich Vermehrung des Pilzgewichtes auch nach Zusatz kleiner Mengen von reinem Eiseinoxidhydrat einstellt, doch beträgt dieselbe hier im Durchschnitt nur das Doppelte, weil sich von dieser Verbindung nur sehr geringe Mengen auflösen und dem Pilze zu Gute kommen. Die Vermehrung des Pilzgewichtes tritt übrigens, wie ich durch besondere Versuchsreihen ermittelte, auch nach Zusatz von Eisenchlorid, essigsaurem, weinsaurem und citronsaurem Eisen auf.

Auch ist es mit Rücksicht auf das entstehende Pilzgewicht nicht gleichgültig, wieviel man von Eisen zusetzt, es geht dies aus der Tabelle 1, 2 und ebenso aus der Tabelle 3 klar

www.libri.vom hervor, dass mit der Menge des vorhandenen Eisens — offenbar innerhalb gewisser Grenzen — das Gewicht der gebildeten Pilzsubstanz steigt.

Trotz der sorgfältigen Darstellung der Nährösung hat sich in der sogenannten „eisenfreien“ Nährösung *Aspergillus* doch entwickelt, allerdings in auffallend geringerem Grade als in der eisenhaltigen Cultur. Mittelst meiner Reaction konnte ich mich jedoch leicht davon überzeugen, dass der Pilz der erstenen Nährösung Eisen enthielt!

Der Pilz vermag sich daher — Aehnliches gilt ja auch von den jodspeichernden Tangen und den Salpeterpflanzen¹⁾ — die mit unseren feinsten Reactionen in der Nährösung nicht mehr nachweisbaren Spuren, bis auf das letzte Molekül, sit venia verbo, zu verschaffen. Gewiss ein wunderbarer Beweis für die ausserordentliche Oekonomie, welche die Pflanze bei der Auswerthung mineralischer Substanzen aufweist. Man kann den Pilz geradezu benutzen, um unsere derzeitigen Methoden des Eisennachweises um ein Erhebliches zu verfeinern. Uebrigens geht die ungemein haushälterische Verwerthung von Aschensubstanzen durch Pilze und ihre Genügsamkeit in dieser Richtung auch aus anderen Thatsachen hervor^{2).}

2. Versuchsreihe.

Temperatur 25° C., Versuchsdauer 18 Tage.

Zusammensetzung der Nährösung:

500 cm³ Wasser,

¹⁾ Molisch, H., Ueber einige Beziehungen zwischen anorganischen Stickstoffsalzen und der Pflanze. Sitzungsber. d. kais. Wiener Akademie. I. Abth. 1887. S. 19 des Sonderabdruckes.

²⁾ So weist bereits Nägeli darauf hin, dass es kaum möglich sei, eine kaliumfreie Nährösung herzustellen und dass eine erhebliche Pilzentwicklung auch in sog. „kaliumfreien“ Culturen statthat, weil eben die geringen Spuren von Kali, die durch Verunreinigungen in die Lösung trotz aller Sorgfalt hineinkommen, schon genügen, den Pilz zu ernähren. Siehe Ernährungsschemismus d. nied. Pilze l. c. S. 343 u. 359.

www.libtool.com.cn

30 cm³ Glycerin,
2.75 g Chlorammonium,
0.5 g Monokaliumphosphat,
0.5 g Schwefelsaure Magnesia.

Die Versuchsanstellung war sonst ganz dieselbe wie bei Versuchsreihe 1. Auch das Resultat war im Wesentlichen dasselbe, nur trat der Unterschied zwischen den „eisenfreien“ und den eisenhaltigen Culturen noch viel auffallender hervor. Von Wichtigkeit ist, dass die Pilze in den sogenannten „eisenfreien“ Culturen gleichfalls Eisen enthielten!

Tabelle II.

Nr. des Versuchs	Pilzgewicht in mg. „Eisenfreie“ Cultur	Pilzgewicht in mg. Eisencultur	Zugesetztes Eisenvitriol
1	186	220	0.001 %
2	197	427	0.003 %
3	138	720	0.004 %
4	145	742	0.004 %
5	101	667	0.004 %

Trotz aller Sorgfalt war es also auch bei Anwendung von Glycerin nicht möglich, eine eisenfreie Lösung herzustellen. Mir war es nicht unwahrscheinlich, dass die Nährlösung nach längerer Vegetation des Pilzes ihre Eisenspuren an den Pilz abgibt und auf diese Weise eisenfrei oder nahezu eisenfrei wird. Ich versuchte daher eine solche durch den Pilz von Eisen möglichst befreite Lösung für meine Zwecke zu verwerthen.

Die obige „eisenfreie“ Nährösung, auf welcher der *Aspergillus* bereits 18 Tage vegetirt hatte, wurde über reinen Platinschnitzeln filtrirt und dann in zwei gleiche Hälften getheilt, von denen die eine 0.001 % Eisenvitriol erhielt.

www.libtoek.com.cn

Eine neuerliche Infection mit Sporen war aus naheliegenden Gründen nicht notwendig. Culturbedingungen genau wie vorher. Nach 16 Tagen war der Effect höchst überraschend. In der Nährlösung ohne Eisen entwickelten sich nur ein paar zarte Mycelflocken mit ganz spärlichen Früchten, in der anderen mit Eisen hingegen eine dicke, geschlossene Myceldecke, die in Folge reichlicher Fructification ein kohlschwarzes Ansehen darbot.

Im Anschluss daran sei noch eine Versuchsreihe mitgetheilt, aus der deutlich die Beziehung zwischen der zugesetzten Eisenmenge und der Grösse des entstehenden Pilzgewichtes hervorgeht. Schon der Zusatz einer so geringen Eisenmenge wie im Versuch 2 bewirkt beinahe eine Verdoppelung der Pilzsubstanz. Der Zusatz grösserer Eisenmengen hat selbstverständlich bis zu einer gewissen oberen Grenze auch eine massigere Entwicklung des Pilzes im Gefolge, doch habe ich diese Grenze nicht ermittelt.

Tabelle III.

Nr. des Versuchs	Pilzgewicht in mg	Zugesetztes Eisen-vitriol
1	98	0 %
2	170	0.00025 %
3	188	0.0005 %
4	275	0.001 %
5	428	0.003 %
6	400	0.004 %
7	444	0.006 %
8	445	0.008 %
9	479	0.01 %
10	470	0.01 %

Versuchsdauer 80 Tage.

Molisch, Die Pflanze.

3. Versuchsreihe.

Temperatur 25° C., Versuchsdauer 23 Tage. Sonstige Culturbedingungen wie vorher.

Zusammensetzung der Nährlösung:

500 cm³ Wasser,
20 g Essigsäures Ammon,
0.25 g Schwefelsaure Magnesia,
0.25 g Monokaliumphosphat.

Tabelle IV.

Nr. des Versuchs	Pilzgewicht in mg „Eisenfreie“ Cultur	Pilzgewicht in mg Eisencultur	Zugesetztes Eisenvitriol
1	31	69	0.002 %
2	41	79	0.004 %
3	48	85	0.004 %
4	43	96	0.006 %
5	39	86	0.008 %

Da das essigsäure Ammon durch Destillation seiner Bestandtheile gewonnen wurde (siehe S. 107) und da die Zusage eines weiteren stickstoffhaltigen Körpers hier wegfiel, die Nährlösung also eine relative einfache Zusammensetzung hatte, so war die Aussicht auf eine möglichst eisenarme Nährlösung und damit auf einen besonderen Effect eine sehr grosse. In dieser Erwartung sah ich mich tatsächlich auch nicht getäuscht. Es zeigte sich nämlich in den beiden Culturen nicht bloss ein erheblicher Gewichtsunterschied — siehe die Tabelle IV — in der Masse der gebildeten Pilzsubstanz, sondern ein für unsere Frage noch viel wichtigerer:

In den Gefässen ohne Eisenzusatz entwickelte sich auch nicht ein einziges Fruchtköpfchen,

www.libretexts.org/w/index.php?title=Aspergillus_niger&oldid=10000000 während in den Gefässen mit Eisenzusatz eine Unmasse solcher vorhanden war. Schon der blosse Anblick der beiden Culturen mit freiem Auge war insoferne überraschend, als die Pilzdecke in den ersteren Gefässen schneeweiss, die der anderen in Folge der überreichen Sporenbildung kohlschwarz war.

In dem schneeweissen Mycel konnte etwas Eisen nachgewiesen werden; dieses Eisen ermöglichte offenbar die Bildung von Hyphen und, wie die mikroskopische Beobachtung lehrte, auch hier und da die Anlage ganz vereinzelter verkümmter Conidienträger, es reichte aber nicht mehr aus zur Ausbildung normaler Fruchträger, der Sporen und des dunklen Farbstoffes. All diese Thatsachen drängen zu dem Schluss, dass der *Aspergillus niger* zu seiner normalen vollkommenen Entwicklung, namentlich zur Bildung seiner Sporen des Eisens nothwendig bedarf.

Geht dies schon aus den Versuchsreihen 1 und 2 mit grösster Wahrscheinlichkeit hervor, so folgt dies aus der letzten oft wiederholten Versuchsreihe mit zwingender Nothwendigkeit. — In völliger Uebereinstimmung mit diesem Ergebnisse steht eine in jüngster Zeit von Linossier¹⁾ gemachte sehr wichtige Beobachtung über den dunklen Farbstoff der Sporen unseres Versuchspilzes. Linossier fand nämlich unter Anderem, dass dieser Farbstoff in seinem chemischen und physikalischen Verhalten, in seinem äusseren Aussehen, seiner Löslichkeit, dem optischen Verhalten so viele Analogien mit dem Blutfarbstoff Haematin aufweist,

¹⁾ Linossier, G., Comptes rendus, T. CXII 1891, p. 489. Sur une hématine végétale: l'aspergilline, pigment des spores de l'*Aspergillus niger*.

www.libtool.com/09 dass er sich geradezu veranlasst sah, ihn als „hématine végétale“ zu bezeichnen. Was aber für uns von besonderer Wichtigkeit ist, liegt in dem Umstand, dass nach der Angabe des französischen Autors das Aspergillin ebenso wie der Blutfarbstoff eine Eisenverbindung darstellt, die bei der Veraschung Eisenoxyd zurücklässt¹⁾. Die von mir erhaltenen Culturresultate mit und ohne Eisen werden daher jetzt um so verständlicher.

Im Vorhergehenden habe ich versucht, den Beweis dafür zu erbringen, dass das Eisen für *Aspergillus niger* unentbehrlich ist.

In Anbetracht der allgemeinen Verbreitung des Eisens im Reiche der Pilze sowie in Anbetracht der gleichartigen Ansprüche derselben an die Qualität der Aschensubstanzen wird es in hohem Grade wahrscheinlich, dass das für *Aspergillus* Bewiesene auch für die anderen Pilze gilt. Gewissheit über diesen Punkt hoffe ich aus weiter anzustellenden, auf andere Pilzarten auszudehnende Versuche, die ich in nächster Zeit durchzuführen gedenke, zu erlangen.

Jedenfalls folgt aus den mitgetheilten Versuchsreihen, sowie aus verschiedenen in diesem kleinen Werke niedergelegten Thatsachen das Eine bereits jetzt mit Sicherheit, dass der herrschenden Lehre, wonach dem Eisen nur eine Function, nämlich die der Chlorophyllbildung, zukomme, der Boden entzogen und dass sie somit unhaltbar ist.

Darüber zu speculiren, welche Rolle oder welche Rollen sonst dem Eisen im Chemismus der Pflanze zukommen, halte

¹⁾) Der in der Alge *Palmella cruenta* vorkommende rote Farbstoff soll nach T. L. Phipson ebenfalls eine organische Eisenverbindung sein. *Comptes rendus* T. CXII 1891, p. 666.

www.libtcn.com.cn ich bei dem gegenwärtigen Stand unserer Kenntnisse — wir stehen ja in der Eisenfrage noch ganz am Anfange — für ebenso voreilig als unfruchtbar und glaube vielmehr, dass man dieses Problem derzeit nicht durch speculative Betrachtungen, wohl aber durch Auffindung neuer Thatsachen fördern wird.

Erklärung der Tafel.

- Fig. 1, 2. *Raphanus sativus*. Fig. 1: Querschnitt durch den Embryo.
w Wurzel, *cc₁* die beiden Keimblätter. Die blauen Striche bedeuten die Anlage der jungen Gefäßbündel, beziehungsweise den Sitz des nicht maskirten Eisens. Loupenbild nach Ausführung der Eisen-reaction mit Blutlaugensalz.
- Fig. 2 ein halbes Keimblatt. Nach Behandlung mit g. Blutlaugensalz und Salzsäure erscheint das früher unkenntliche Procambyriumnetz als tiefblaues Geäder. Loupenbild.
- Fig. 3. *Ricinus communis*. 4 Endospermzellen mit Globoiden nach Behandlung mit Kalilauge — Blutlaugensalz — Salzsäure. Zell-wände und Globoide *g* erscheinen blau. Vergr. 500.
- Fig. 4. *Ceratophyllum demersum*, Blattgewebe, *e* Oberhaut, *p* Parenchym, *f* eisenreiche Farbstoffzellen. In allen 3 Zellarten ist maskirtes Eisen. Bei *e* im Plasma und anscheinend im Zell-kern, bei *p* im Plasma, bei *f* im ganzen Inhalt und zwar hier gehäuft. Vergr. 400.
- Fig. 5. *Phaseolus multiflorus*. Farbstoffschlüche *f* des Siebtheils im Hypocotyl. In *f* ist maskirtes Eisen gehäuft. Vergr. 300.
- Fig. 6. Okerige Masse eines sibirischen Sumpferzes. Zum grossen Theile aus den Eisenscheiden von Eisenbacterien bestehend. Vergr. 410.
- Fig. 7, 8, 9. *Lecidea declinans*. Vergr. 300. Fig. 7 ein horizontaler Schnitt durch die oberste Partie des rostrothen Thallus, von oben gesehen. Zwischen den Hyphen die Eisenoxydverbindung.
- Fig. 8, dasselbe nach Behandlung mit concentrirter Salzsäure, durch welche das Eisenoxyd weggeschafft wurde.
- Fig. 9 ein senkrechter Durchschnitt durch den Thallus, etwas schematisch. Oben die mit Eisenoxyd inkrustirte Zone.

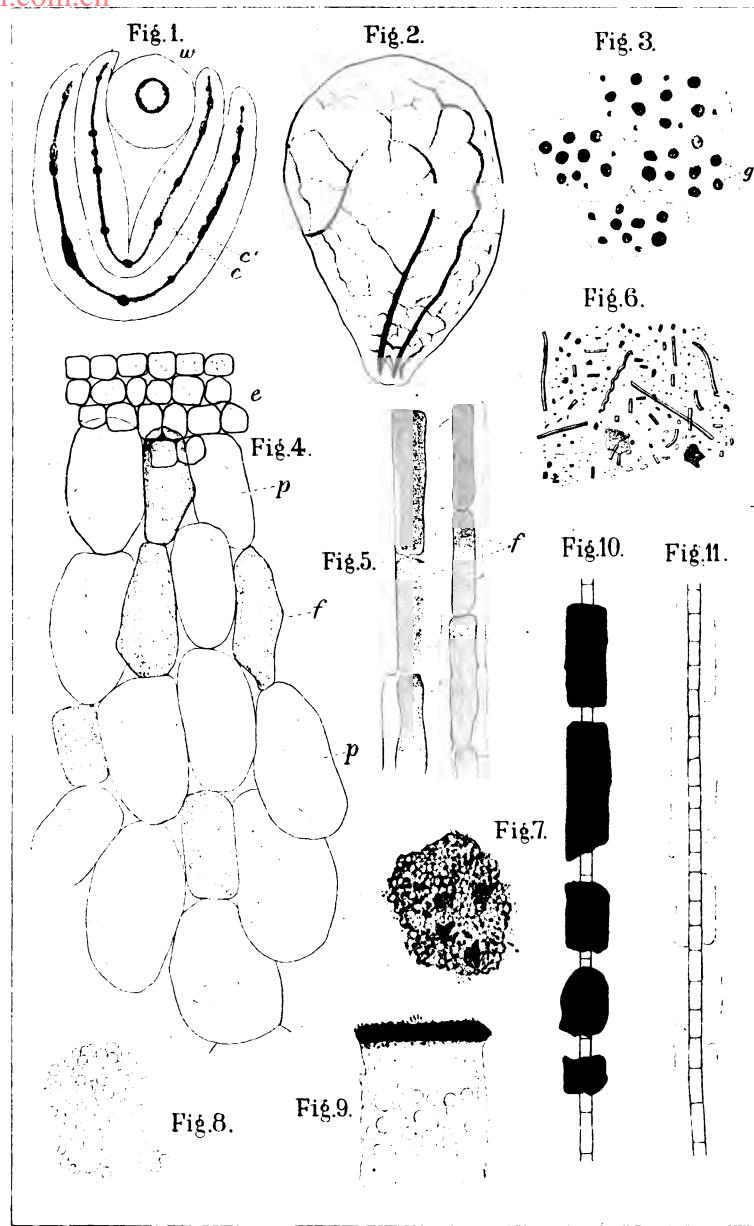
www.libtool.org.cn
Fig. 10, Fig. 11. *Psichohormium antliarium* Kütz. Vergr. 300. Fig. 10.
Zellfäden mit Eisenoxydgürteln.

Fig. 11. Derselbe Faden nach Behandlung mit verdünnter Salzsäure. Das Eisenoxyd hat sich aufgelöst und an Stelle der Eisen-gürtel bleiben Gallertgürtel von entsprechender Form zurück. Die Chromatophoren sind in beiden Figuren weggelassen.



www.libtool.com.cn

Pierer'sche Hofbuchdruckerei. Stephan Geibel & Co. in Altenburg.



**THIS BOOK IS DUE ON THE LAST DATE
STAMPED BELOW**

www.libtool.com.cn

**AN INITIAL FINE OF 25 CENTS
WILL BE ASSESSED FOR FAILURE TO RETURN
THIS BOOK ON THE DATE DUE. THE PENALTY
WILL INCREASE TO 50 CENTS ON THE FOURTH
DAY AND TO \$1.00 ON THE SEVENTH DAY
OVERDUE.**

Biology Library

**FEB 21 1933
NOV 13 1939**

**MAR 6 1940
OCT 1 1943
SEP 14 1956**

LD 21-50m-1.'88

www.libtool.com.cn

U.C. BERKELEY LIBRARIES



C026272198

131799

QK865
M6

BIOLOGY
LIBRARY

THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA LIBRARY

www.libtool.com.cn

