Über das massenhafte Auftreten von Eiweißkristalloiden in Kartoffelblättern.

Von **Helena Hubert** (Lemberg).

Aus dem pflanzenphysiologischen Institut der k. k. Universität in Wien, Nr. 70 der zweiten Folge.

I. Einleitung.

Heinricher¹⁾ berichtete vor einigen Jahren über massenhaftes Auftreten von Krystalloiden in Laubtrieben der Kartoffelpflanzen, die an ihren basalen Teilen abgefault waren. Es handelte sich dabei um keine epidemische Erkrankung der Kartoffelpflanzen, sondern sie waren infolge des sehr regenreichen Sommers der Wurzelfäule erlegen. Die anatomische Untersuchung der kranken Kartoffeltriebe zeigte nun, daß die basalen Teile der Triebe reichlich mit Kristalloiden angefüllt waren. Es handelte sich hier um dieselben Kristalloide, die Cohn in der Kartoffelknolle schon im Jahre 1858 beobachtet hat, nämlich um Eiweißkristalloide.

Im Stammquerschnitt fand sie Heinricher in folgender Weise verteilt: In größter Anzahl waren sie in den parallel den Gefäßbündeln ziehenden Stengelkanten zu finden, und zwar sowohl in dem großzelligen Rindenparenchym, welches an die Bastfasern anschließt, die zwischen Siebteil und Rinde liegen, als auch in den Siebteilen selbst, besonders im peripheren Phloem. Die Kristalloide fanden sich einzeln in der Zelle, oder in Mehrzahl (4—5). Häufig kamen auch Verwachsungen der Kristalle vor. Heinricher erklärte sich die Anhäufung der Kristalloide so, daß die noch intakten Laubtriebe reichlich assimilierten, daß aber die Proteinstoffe, da ja die Knollen fehlten, in den Laubtrieben zwangsweise abgelagert werden mußten.

Mir wurde nun von Herrn Prof. Dr. H. Molisch die Aufgabe übertragen, ausgehend von dem Befund Heinrichers zu untersuchen, unter welchen Bedingungen überhaupt eine Anhäufung von Kristalloiden in den Laubtrieben der Kartoffel auftritt.

Ich erlaube mir gleich an dieser Stelle Herrn Prof. Dr. H. Molisch für die Überlassung des Themas, besonders aber für die mannigfachen Anregungen und die wissenschaftlichen Ratschläge meinen verbindlichsten Dank auszusprechen. Auch Herrn Prof. Dr. Ö. Richter und Herrn Assistenten J. Gieklhorn danke ich wärmstens für das rege Interesse, das sie meiner Arbeit entgegenbrachten.

II. Eigene Untersuchungen.

1. Über das Vorkommen von Eiweißkristalloiden in faulenden Kartoffeltrieben.

Ich trachtete zunächst die Kartoffelpflanzen unter ähnlichen Bedingungen zu ziehen, wie sie Heinricher bei seinen Pflanzen vorfand.

¹⁾ E. Heinricher, „Über massenhaftes Auftreten von Kristalloiden in Laubtrieben der Kartoffelpflanze.“ (Berichte d. deutsch. botan. Ges., Bd. IX, Berlin 1891 S. 287—291.)

Zu diesem Zwecke pflanzte ich die Kartoffeln Mitte März 1913 in vier verschiedene Erdarten, nämlich: Mistbeet-, Garten-, Heideerde und Sand, und suchte nun auf zwei verschiedenen Wegen die Kartoffelpflanzen zur Fäulnis zu bringen.

Der eine Weg, die Blumentöpfe im Glashause aufzustellen und, nachdem die Pflanzen ausgetrieben hatten, täglich zweimal reichlich mit Leitungswasser zu begießen, führte nicht zum Ziel. Wie erwartet, zeigten die gesund gebliebenen Objekte keine Kristalloide in den Laubtrieben.

Nach der zweiten Methode kam auf den Grund einer Keimchale ein Vogelgläschen, darauf wurde der Blumentopf gestellt, und nun mit einer Glasglocke bedeckt und mit Wasser abgeschlossen. Noch zu einer Zeit, wo die Pflanzen ganz intakt waren, zeigten sich in manchen Blattquerschnitten einzelne Kristalloide, im Stengel aber waren keine zu finden. Später begannen die Triebe von unten zu faulen, jedoch waren auch die Spitzen der Triebe und die Blätter durch beständiges Anliegen an der feuchten Innenwand der Glasglocke schon etwas angefault. Dadurch war natürlich auch die Assimilationstätigkeit der Pflanze gehemmt, und dies dürfte die Erklärung dafür abgeben, daß ich bei der Untersuchung dieser Triebe, im Gegensatze zu Heinricher, nicht nur keine reichliche Ansammlung von Eiweißkristalloiden, sondern überhaupt keine Kristalloide gefunden habe. Überdies sind ja die Verhältnisse im freien Felde bei Heinrichers Material auch ganz andere gewesen, als ich erzielen konnte.

2. Über das massenhafte Vorkommen von Eiweißkristalloiden in den Blättern und Stengeln etiolierter Kartoffeltriebe.

Der Versuch wurde nun in der Art modifiziert, daß die in der vorher beschriebenen Weise adjustierten Pflanzen mit Blechstürzen verdunkelt wurden. Bei der Untersuchung fanden sich nun zwar in den etiolierten Stengeln wieder keine Kristalloide, die Querschnitte der etiolierten Blätter dagegen waren mit Kristalloiden förmlich erfüllt. Die Kristalle waren über das ganze Blatt verteilt und sowohl im Pallisadengewebe, wie auch im Schwammparenchym massenhaft zu finden, in jeder Zelle 1—5. Am häufigsten traten sie in den jüngsten Blättern auf, im Blattstiel waren sie aber nicht vorhanden. Auch die Haare¹⁾ dieser etiolierten Pflanzen wiesen schöne Eiweißkristalloide auf.

Nach diesen Untersuchungen wurden die Dunkelstürze von einigen Blumentöpfen entfernt und die Pflanzen dem Lichte ausgesetzt. Am nächsten Tage waren noch viele Kristalloide vorhanden, ihre Zahl nahm aber beständig ab, und nach zehn Tagen waren bereits alle verschwunden.

Daß nach dem Abheben des Sturzes — also während der Belichtung — die Proteinsubstanzen aus ihren Depots verschwanden, ist leicht zu verstehen, wenn man bedenkt, daß die Blätter nunmehr infolge der Beleuchtung in die Fläche wuchsen und hiezu eine größere Menge Eiweißsubstanzen notwendig war.

¹⁾ O. Stappf, „Beiträge zur Kenntnis des Einflusses geänderter Vegetationsbedingungen“. S. 10 und 12. (Sep.-Abdr. aus d. Verhandl. der k. k. zool.-botan. Gesell. in Wien, Jahrg. 1878.)

Was endlich die Kontrollblumentöpfe anlangt, die in der bisherigen Versuchsaufstellung belassen wurden — also im Dunkel verblieben — so ist zu bemerken daß die Pflanzen nach längerer Zeit von unten zu faulen begannen, und Kristalloide in Blättern noch immer zeigten. In den Stengeln aber — in Übereinstimmung mit dem früher Erwähnten — waren keine Kristalloide zu finden.

Ich versuchte dann auch im Lichte gezogene Pflanzen völlig oder teilweise abzudunkeln, doch fanden sich auch in diesen, selbst nach längerer Zeit, keine Kristalloide vor.

Es scheint also, daß, wenn einmal die großen Blattflächen gebildet werden, die entwickelten Proteinsubstanzen eben ausreichen, um alle Zellen zu versorgen, so daß es naturgemäß zu keinem Überschuß und damit zu keiner Ablagerung kommen kann.

3. Über Kristalloide in den Intumeszenzen der grünen Blätter von im feuchten Raume und im Lichte gezogenen Kartoffeln.

Ein im April 1913 angestellter Versuch, bei dem die Blumentöpfe in mit Wasser gefüllten Keimschalen und im Lichte standen, fiel zunächst genau so aus wie die früher geschilderten Experimente mit Lichtpflanzen, d. h. in den Stengeln fand ich keine, in den Blättern nur spärlich Eiweißkristalloide vor.

Im Mai zeigte der Versuch ein überraschendes, von den Ergebnissen in April völlig verschiedenes Bild. Auf vielen Blättern zeigten sich Intumeszenzen, und zwar auf beiden Blattseiten, doch waren sie auf der Oberseite des Blattes immer häufiger.

Die Intumeszenzen waren, so wie sie Steiner¹⁾ bei *Ruellia formosa* Andrews beschrieben hat.

Auf dem Blatt traten lichte, rundliche Flecken auf, und nach einigen Tagen entstanden daraus weißliche, warzige oder höckerige Protuberanzen. Nach einiger Zeit bräunten sie sich und trockneten ein. Manche fielen hierauf ganz aus und an den Stellen, wo sie sich befunden hatten, blieben Löcher zurück.

Die Intumeszenzen bestanden aus abnorm gestreckten und geteilten Zellen des Pallisadengewebes und Schwammparenchyms. Auf der Oberfläche des Blattes, wo die Epidermis durch gewaltiges Zellwachstum zerrissen war, konnte man oft sehen, daß die Wucherungen des Gewebes unter Spaltöffnungen entstanden, und wenn die Epidermis zerriß, waren auch die Spaltöffnungen zerrissen.

Die Intumeszenzen blieben 4—6 Wochen erhalten.

In den Blättern nun, die mit Intumeszenzen versehen waren, fand ich im Querschnitte, und zwar sowohl in den Intumeszenzen, wie sonst im Blatte im Pallisadengewebe und Schwammparenchym außerordentlich viele Kristalloide.

Die Frage, wie es kommt, daß normale grüne Blätter im feuchten Raume, solange sie keine Intumeszenzen haben, nur spärlich Kristalle

¹⁾ R. Steiner, Über Intumeszenzen bei *Ruellia formosa* Andrews u. *Aphelandria Portearia* Morel. (Ber. d. deutsch. bot. Ges., 1905, Bd. XXIII, Heft 3.)

führen, sobald sie aber Intumescenzen bekommen, Kristalle reichlich aufweisen, kann ich nicht beantworten.

Auf Stengeln traten auch Intumescenzen auf, doch auch in diesen Stengeln konnte ich keine Kristalloide finden.

Als Kontrollpflanzen zu diesem Versuch zog ich auch Kartoffeln, die ich sehr trocken hielt. In diesen traten weder in den Blättern noch im Stengel Kristalloide auf.

Was die Gestalt der Kristalloide anbelangt, so sind diese würfelförmig, treten also in derselben Gestalt auf, wie sie Cohn für die Knolle, Heinricher für die Laubtriebe und Stapf für die Haare beschrieben hat.

Häufig habe ich auch Verwachsungen, Zwillingsbildungen und Durchwachsungen beobachtet.

4. Über Chemie und Färbung der beobachteten Kristalloide.

Wie bekannt, sind die von Cohn, Heinricher und Stapf bei der Kartoffel beobachteten Kristalloide Eiweißkörper. Ich überprüfte die von mir gefundenen Kristalloide mit üblichen Eiweißreagentien¹⁾ und bei ihrer Anwendung bekam ich positive Reaktionen. Danach bestehen also auch die von mir beobachteten Kristalloide aus Eiweiß.

Zum Schlusse möchte ich noch bezüglich der Präparationsmethode angeben, daß ich die Färbung der Kristalloide nach der Altmannschen Methode²⁾ ausgeführt habe. Die Schnitte wurden in absolutem Alkohol fixiert und hierauf auf einem Objektträger in einer Lösung von 20% Säurefuchsin in 100 cm³ Anilinwasser wenig erwärmt. Hatte der Farbstoff ungefähr drei Minuten eingewirkt, so wurden die Schnitte mit einem Gemisch von 1 Teil konzentrierter alkoholischer Pikrinsäurelösung und 2 Teilen Wasser ausgewaschen, bis keine Farbe mehr in die Pikrinsäure überging. Zur Entfernung der Pikrinsäure wurden die Schnitte dann in absolutem Alkohol ausgewaschen und hierauf in Nelkenöl und Kanadabalsam eingeschlossen.

Ich versuchte auch die Säurefuchsinmethode B³⁾ Zimmermanns, doch gelang es mir nicht, mit dieser gute Resultate zu erzielen, während sich die Altmannsche Methode sehr bewährte, da sich bei der Anwendung dieser die Kristalloide intensiv rot färben, während das übrige Gewebe nach sorgfältigem Auswaschen vollkommen farblos ist.

Aber auch ohne Färbung sind die Kristalloide sehr gut zu sehen, da sie stark lichtbrechend sind.

Zusammenfassung.

In der vorliegenden Arbeit wird über Beobachtungen berichtet, aus denen hervorgeht, daß unter gewissen Verhältnissen in der Kartoffelpflanze massenhaft Eiweißkristalloide gebildet werden.

¹⁾ H. Molisch, Mikrochemie der Pflanze, Jena 1913, S. 280—283.

²⁾ A. Zimmermann, „Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Pflanzenzelle“, Tübingen 1893, Bd. I, S. 12.

³⁾ A. Zimmermann, „Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Pflanzenzelle“, Tübingen 1893, Bd. I, S. 14.

1. Das ist in etiolierten Blättern der Fall: Wenn die Kartoffelknollen im Finstern und im feuchten Raume austreiben, so sind die jungen Blätter reichlich mit Eiweißkristalloiden versehen.

Läßt man die etiolierten Pflanzen ergrünen, so verschwinden die Kristalloide. In Kartoffeln, die im beleuchteten und gleichzeitig feuchten Raum gezogen wurden, finden sich sehr wenig Eiweißkristalloide in den Blättern.

2. Wenn Kartoffelpflanzen unter Glasglocken im dunstgesättigten Raume während des Frühlings austreiben, bilden sich auf der Oberfläche der belichteten Blätter reichlich Intumeszenzen, und in den mit Intumeszenzen versehenen Blättern und in den Intumeszenzen selbst finden sich gleichfalls reichlich Eiweißkristalloide.

Sobald die Intumeszenzen zusammenschrumpfen, verschwinden auch die Kristalloide.

3. Die Kristalloide konnten stets nur in den Blättern, aber niemals im Stengel gefunden werden.

Die biologischen Verhältnisse der Vegetation einiger Höhlen im Quarnergebiete.

Von Friedrich Morton (Wien).

(Mit 3 Textabbildungen.)

Nachdem Wiesners Forschungen den außerordentlichen Einfluß des Lichtes auf die Pflanze dargelegt und die Möglichkeit geboten haben, in exakter Weise die Beziehungen zwischen beiden zum Ausdruck zu bringen, hat sich der Forschung ein großes Arbeitsfeld eröffnet. Die bisher erschienenen Arbeiten haben den großen Einfluß des Lichtklimas auf die Pflanzenwelt nachgewiesen, so daß heute die Lichtstudien, wenn wir die biologischen Verhältnisse eines Gebietes ganz erfassen wollen, eine hervorragende und unentbehrliche Rolle spielen. Daher finden wir auch schon in einzelnen der neuesten pflanzengeographischen Arbeiten längere Abschnitte der Erforschung des betreffenden Lichtklimas gewidmet¹⁾.

Von der Erkenntnis dieser großen Bedeutung des Lichtes ausgehend, habe ich im Quarnergebiete mit Lichtstudien begonnen, die meine pflanzengeographischen Studien daselbst in biologischer Richtung hin ergänzen sollen. Davon übergebe ich jetzt einen kleinen Spezialabschnitt der Öffentlichkeit. Die biologischen, speziell die Lichtverhältnisse und ihre Einwirkung auf die grüne Pflanzenwelt der Höhlen waren lange Zeit von der Forschung ganz unbeachtet geblieben, obwohl gerade das abgeschwächte Licht und die unter seinem Einfluß stehende Vegetation manche interessante Beziehungen erwarten lassen konnte. Erst Lämmermayr, ein Schüler Wiesners, wandte sein Augenmerk der grünen Pflanzenwelt der Höhlen zu und legte seine Untersuchungen in einer großen Arbeit²⁾ nieder, in der ein umfassendes Tatsachenmaterial

¹⁾ So z. B. in E. Rübel, Pflanzengeographische Monographie des Berninagebietes 1911; J. Braun, Die Vegetationsverhältnisse der Schneestufe in den Rätisch-Lepontinischen Alpen 1913.

²⁾ L. Lämmermayr, Die grüne Pflanzenwelt der Höhlen. I. Teil, Denkschr. d. math.-naturwiss. Kl. der k. Akad. d. Wiss. Wien, LXXXVII. Bd., 1911 u. 1913.