

Von der Chemotaxis der Lycopodium-Spermatozoiden.

Von **H. Bruchmann.**

(Mit einer Abbildung im Text.)

1. Die Literatur über die Reizerscheinungen freibeweglicher Sexualzellen der Archegoniaten hatte mir Herr Professor Correns in Leipzig gütigst überlassen, und durch Einsicht derselben fand ich Anregung das noch unbekannte Reizmittel der Lycopodium-Spermatozoiden zu erforschen.

Nach den Beobachtungen Hansteins¹⁾ für Marsilia und besonders Strasburgers²⁾ für Moose und Farne wurde zuerst festgestellt, daß von der aus dem Halse der reifen, geöffneten Archegonien hervortretenden schleimigen Substanzen auf die Spermatozoiden eine anziehende Reizwirkung ausgeübt wird, somit eine Anziehung zwischen Eizellen und Samenfäden stattfindet. Pfeffers³⁾ grundlegende Untersuchung über die lokomotorischen Reizbewegungen durch chemische Reize bahnte den Weg zur Erkenntnis der Gesetzmäßigkeit der chemotaktischen Reizbewegung der männlichen Sexualzellen. Pfeffer füllte, den Archegonien nachahmend, einseitig zugeschmolzene Glaskapillaren mit Lösungen von Stoffen und führte dieselben mit ihrer Mündung in Wasser, in welchem sich Samenfäden bewegten. So ermittelte er die Reizmittel, welche für die Vereinigung von Sexualzellen der Archegoniaten bedeutungsvoll sind. Er entdeckte, daß die Samenfäden der Farne durch **Apfelsäure** angelockt werden, ebenso auch die der Selaginellen, dagegen fand er, daß die Spermatozoiden der Laubmoose auf **Rohrzucker** reagieren. Die Reizmittel weiterer Abteilungen der Archegoniaten konnten aber nicht ermittelt werden, obgleich eine große Anzahl chemischer Stoffe in Frage gestellt wurden. Erst neuere Arbeiten ergänzten Pfeffers Untersuchungen.

Lidforß⁴⁾ fand, daß für die Spermatozoiden der Lebermoose, speziell für die von Marchantia polymorpha, **Proteinstoffe** als spezifisches

1) Jahrb. f. wiss. Bot. 1865—66, Bd. IV, pag. 219.

2) Jahrb. f. wiss. Bot. 1869—70, Bd. VII, pag. 402.

3) Untersuchungen a. d. bot. Inst. zu Tübingen 1884, Bd. I, pag. 363; 1888, Bd. II, pag. 654.

4) Lidforß, Über die Reizbewegung der Marchantia-Spermatozoiden. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XLI, pag. 65.

Reizmittel wirksam sind. Shibata¹⁾ ermittelte, daß auf die Samen-fäden von *Isoëtes*, wie auf die der Farne, die Apfelsäure eine anziehende chemische Reizbewegung ausübt, aber gegenüber den beiden aus der Apfelsäure gewonnenen Körpern Maleinsäure und Fumarsäure sich unterschiedlich verhalten. Die *Isoëtes*-Spermatozoiden reagieren außer auf Apfelsäure auch auf Fumarsäure und nicht auf Maleinsäure, sie sind somit „fumarophil“ im Gegensatz zu denen der Farne, die nicht auf Fumarsäure, aber auf Maleinsäure reagieren, daher als „maleinophile“ bezeichnet werden. Ferner erforschte Shibata²⁾ noch, daß auch die Spermatozoiden von *Salvinia* der Apfelsäure angepaßt und auch, wie die der Farne, „maleinophil“ sind. Für die Samen-fäden von *Equisetum* stellte Shibata³⁾ die Apfelsäure als Reizmittel fest. Aber entgegen denen der schon genannten Pteridophyten sind sie weder durch Maleinsäure noch durch Fumarsäure reizbar.

Somit wissen wir, daß es für die Samen-fäden der beiden Abteilungen der Moose, die Laub- und Lebermoose, die beiden verschiedenen Reizmittel: Zucker und Eiweißstoffe gibt, dagegen ist für die Sexualzellen der Hauptabteilungen der Farne nur die Apfelsäure als spezifisches Reizmittel bekannt. Von der Gattung *Marsilia*, deren Spermatozoiden nicht auf Apfelsäure reagieren, konnte das die anlockende Wirkung ausübende Mittel noch nicht festgestellt werden; auch ist die Chemotaxis der Spermatozoiden saprophytischer Prothallien, also auch die von *Lycopodium*, welche gewiß von hohem Interesse ist, bis dahin unbekannt geblieben.

* * *

2. Die Vorbereitung zum Studium der Chemotaxis der Samen-fäden von *Lycopodium*, nämlich die Gewinnung von Versuchsmaterial, also von Prothallien dieser Gattung, hat mir die größte Schwierigkeit bereitet. Ich habe nach diesen Gebilden im Thüringerwalde im Monat Juli dieses Jahres eine ganze Woche suchen müssen, um solche in genügender Anzahl zu gewinnen, und fand doch nur die von *Lycopodium clavatum*. Diese Prothallien zog ich dann, auf Walderde gelegt, in Glas-näpfchen unter einer Glasglocke, wo sie, feucht gehalten, recht gut fort-kamen, und mit der Lupe auf ihr Verhalten leicht geprüft werden

1) Shibata, Studien über die Chemotaxis der *Isoëtes*-Spermatozoiden. Jahrb. f. wiss. Bot. 1905, Bd. XLI, Heft 4.

2) Shibata, Studien über die Chemotaxis der *Salvinia*-Spermatozoiden. Vorläufige Mitteilung. The Botanical Magazine 1905, Vol. XIX, Nr. 219.

3) Shibata, Über die Chemotaxis der Spermatozoiden von *Equisetum*. Vorläufige Mitteilung. The Botanical Magazine 1905, Vol. XIX, Nr. 223.

konnten. Am Lichte ergrünen die Prothallien namentlich an ihren jungen generativen Teilen; ich brachte aber in Erfahrung, daß sie für unsere Untersuchungszwecke besser dunkel zu kultivieren sind. Solche Gebilde mit gut entwickelten Antheridienhöckern legte ich nun, nachdem sie einige Tage vorher nur mäßig feucht gehalten waren, mit ihrem generativen Teile in einen großen Wassertropfen auf den Objektträger, worauf dann immer nach einigen Minuten die Spermatozoiden in reicher Anzahl hervortraten. Brachte ich darauf dieses Prothallium auf kurze Zeit noch in den Wassertropfen eines zweiten, dann auch dritten und vierten Objektträgers, so konnte ich für nacheinander vorzunehmende Untersuchungen eine Reihe guter Präparate mit zahlreichen Samenfäden gewinnen. Das gleiche Prothallium, auf sein Erdbett zurückgebracht, konnte dann nach einigen Tagen aus den nachgereiften Antheridien aufs neue reiches Spermatozoidenmaterial liefern. So sind also diese Prothallien in der Hergabe von Spermatozoiden ein recht dankbares Untersuchungsmaterial, und ganz erschöpfte Prothallien lassen sich, in Walderde eingebettet, recht lange weiter kultivieren. Die Spermatozoiden leben etwa eine halbe Stunde im freien Wassertropfen, wenn sie recht gesund sind. Als ich einmal zu feucht gebettete Prothallien durch Besonnung trockener werden ließ, um sie zur Entlassung ihrer Samenfäden geneigter zu machen, erhielt ich meist abgestorbene oder kurzlebige, woraus ich erfuhr, daß das direkte Sonnenlicht schädlich auf die Lebensfunktionen dieser Spermatozoiden einwirkt.

Zu den Versuchen wurden nach Pfeffers Vorbild die durch Ausziehen von Glasröhren an der Gasflamme gewonnenen Kapillaren benutzt. Solche von etwa 0,1—0,15 mm Lichtdurchmesser in 10 bis 15 mm Länge zerschnittene und einseitig zugeschmolzene Kapillaren tauchte ich in kurzen Präparatenzylindern in die zur Untersuchung zu verwendenden Flüssigkeiten unter und beschickte sie damit unter dem Rezipienten einer Luftpumpe. Diese Präparatenzylinder, aus welchen die gefüllten Kapillaren mittels einer Pinzette leicht entnommen werden konnten, wurden mit Pfropfen geschlossen und zum bequemen Gebrauche bereit gehalten.

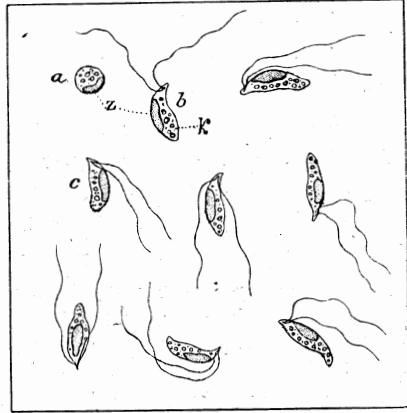
* * *

3. Die Spermatozoiden unserer einheimischen Lycopodium-Arten sind von mir schon an anderer Stelle beschrieben¹⁾. In den

1) Bruchmann, Über die Prothallien und die Keimpflanzen mehrerer europäischer Lycopodien, pag. 31 u. 62, Taf. III, Fig. 11.

reifen Antheridien quillt durch Wasseraufnahme die schleimige Membran der reifen Spermatozoiden-Mutterzellen auf, ihre Volumenzunahme drückt die freie Wand des Antheridiums hervor und die verschleimte Deckzelle weg, so daß die Spermatozoiden-Mutterzellen ins Freie gelangen. Hier quellen ihre Membranen völlig auf, die Samenfäden machen sich frei und wirbeln alsbald mit großer Geschwindigkeit in Schraubenlinien umher.

Die Spermatozoiden von *Lycopodium* nehmen eine von der der übrigen Pteridophyten sehr abweichende Gestalt an. Sie stellen eigenartige, an die Schwärmsporen einiger Algen erinnernde, farblose Zellen dar von länglich eiförmiger und schwach gekrümmter Gestalt (vgl. nebenstehende Figur). Sie haben durchschnittlich $10\ \mu$ Länge bei $4\ \mu$ quерem Körperdurchmesser, erhalten aber nach der Abtötung eine etwas gedrungenere Form. Die Spermatozoidenzelle ist von einer dichteren Plasmamembran umgeben und besitzt einen größeren, flachovalen, konkavkonvexen Zellkern,



Spermatozoiden von *Lycopodium clavatum*. *a*, *b* und *c* durch Fixierung gewonnene Formen. *z* Zellkern, *k* kleine sich durch Jod blau und gelb färbende Körperchen. Vergr. 580.

der mit seiner gewölbten Fläche der Rückenseite der Spermazelle anliegt (*z* in Fig. *a* u. *b*), ferner noch eine Anzahl kleiner rundlicher Körperchen von unterschiedlicher Größe, welche durch Jod blau und gelb gefärbt werden (*k* in Fig. *b*). Sie entsprechen den Körnchen anderer Samenfäden, die diese in den ihnen anhängenden Bläschen mitführen. Das vordere Ende unserer Spermatozoiden läuft zu einem schnabelförmigen Spitzchen aus, in dessen Nähe zwei längere, etwa $30\ \mu$ messende Zilien entspringen, die aber in ihrem lebhaften Bewegungsspiele schwer erkennbar sind. Die den Zellkern führende Seite, die Rückenseite des Spermatozoids, ist bei der Rotation desselben um eine imaginäre Achse immer nach außen gewendet.

*

*

*

4. Die Untersuchung unserer Spermatozoiden auf ihre Chemotaxis gestaltet sich sehr einfach. Man hat ja nur die von der zu versuchenden Lösung beschickten Kapillaren mit dem offenen Ende in die Wassertropfen zu bringen, in welchen sich die Samenfäden bewegen. Die mikroskopische Beobachtung solches offenen oder auch mit kleinem Deckglas bedeckten Wassertropfens kann am Tageslichte vorgenommen

werden. Einige vom Prothallium abgelöste Sandkörner erhält man zwar meist immer in den Präparaten, allein sie stören die Untersuchung nicht, und schon eine mäßige (z. B. 52fache) Vergrößerung läßt eine gute Übersicht über die Vorgänge in solchen Objekten gewinnen, welche ja dann auch für eine genauere Prüfung von Einzelheiten mit stärkeren Vergrößerungen verwendbar sind.

Die großen Abteilungen der Farnpflanzen stimmen darin überein, daß für ihre Samenfäden die Apfelsäure als chemotaktisches Reizmittel gilt. Auch ist die Apfelsäure das spezifische Reizmittel für die Samenfäden von Selaginella und Isoetes, also von zwei Pflanzengruppen, welche mit der von Lycopodium im System zu einer Hauptgruppe vereinigt wird; somit ist anzunehmen, daß auch die Lycopodium-Spermatozoiden der Reizbarkeit durch Apfelsäure angepaßt sein werden.

Ich bot ihnen daher zunächst apfelsaures Natrium in 0,1 % iger Lösung dar, aber unsere Spermatozoiden ließen die damit gefüllten Kapillaren unbeachtet; zufällig kamen zwar zuweilen einzelne hinein, schwammen aber auch wieder hinaus. Auch vermochte das gleiche Salz in anderen Lösungsprozenten keine anziehende chemische Reizwirkung auf diese Samenfäden auszuüben. Dieser überraschende negative Erfolg ließ nun die Vermutung aufkommen, daß die Erscheinung vielleicht geringwertigen Apfelsäurepräparaten zuzuschreiben sei, allein auch aus verschiedenen chemischen Fabriken stammende erzielten die gleichen Resultate, welche ich auch erhielt, wenn ich diesen Samenfäden mit Wasser beschickte Kapillaren darbot. Auch mit dem Natriumsalz der Maleinsäure und Fumarsäure wurden keine Reizbewegungen dieser Samenfäden gewonnen. Damit ergab sich ein wichtiges

a) negatives Resultat: **Die Apfelsäure ist nicht das chemotaktische Reizmittel der Lycopodium-Spermatozoiden.**

Nun prüfte ich die Reizmittel anderer Archegoniatengruppen durch, zunächst das der Samenfäden der Laubmoose, welche nach Pfeffer ausschließlich auf Rohrzucker reagieren. Es konnte aber weder durch **Rohrzucker**, noch durch **Traubenzucker** oder **Milchzucker**, welche in Lösungen von 0,1 % durch Kapillaren wie die apfelsauren Salze den Samenfäden dargeboten wurden, Reizwirkungen erzielt werden.

Auch die Proteinstoffe, welche nach Lidforß das spezifische Reizmittel für die Samenfäden der Lebermoose, speziell der Marchantia polymorpha, sind, habe ich in Frage gezogen. Dargeboten wurden den Spermatozoiden von Lycopodium: **Albumin aus Eiweiß, Albumin aus Blut, Hühnereiweiß, Legumin, Protein aus Pflanzen, Hämoglobin, Diastase, Nuklein** in verdünnten Lösungen, aber auch keines dieser Mittel erwies sich wirksam.

Nachdem so alle für die Archegoniaten-Samenfäden als Reizmittel bekannten Körper vergeblich an denen der Lycopodien geprüft waren, mußte wohl die Vermutung erwogen werden, ob nicht die in Frage stehenden Samenfäden eines Reizmittels gänzlich entbehren, und ob nicht etwa bei diesen in sehr großer Anzahl erzeugten Organismen lediglich der Zufall die Befruchtung der Archegonien ermöglicht. Zur Lösung dieser Frage versuchten wir unsere Spermatozoiden mit einer Flüssigkeit zu reizen, welche aus dem Prothallium selbst gewonnen war. Stücke von Prothallien, welche namentlich ihren generativen Teilen entnommen waren, wurden gut zerkleinert, in wenig Wasser abgekocht und die gewonnene und filtrierte Lösung in Kapillaren den Spermatozoiden dargeboten, worauf dann ein Wunder geschah. Es zeigte sich sofort das überraschende und überaus fesselnde Bild einer anziehenden chemischen Reizwirkung unserer Lycopodium-Spermatozoiden. Sehr schnell war eine große, in lebhaftem Durcheinander sich bewegende Anzahl von ihnen vor der Kapillare versammelt, schwärmte alsbald in die Kapillare ein, und es füllte sich die Flüssigkeitssäule mit äußerst lebhaft durcheinander wimmelnden Spermatozoiden an, welche hier erst nach etwa drei Stunden abstarben. Somit ist die Tatsache ermittelt: Auch die Samenfäden von Lycopodium besitzen eine ausgesprochene chemotaktische Empfindlichkeit, und das wirksame Agens, welches aus dem Prothalliumkörper gewonnen werden kann, mußte durch weitere Experimente ermittelt werden.

Es wurden nun eine Reihe von Stoffen, welche im Pflanzenreiche vorkommen, zu Versuchen herangezogen, und zwar wieder in 0,1 %igen Lösungen:

Weinsaures Natrium, oxalsaures Natrium, essigsaures Natrium, ameisen-saures Natrium, buttersaures Natrium, milchsaures Natrium, bernsteinsaures Natrium, Malonsäure, asparaginsaures Natrium, salizylsaures Natrium. Allen diesen Stoffen gegenüber aber zeigten sich die Samenfäden ganz indifferent.

b) Positives Resultat ergab endlich ein Versuch mit **zitronensaurem Natrium**.

Die Reizwirkung durch zitronensaure Salze und die freie Säure.

Als ich zu einem mit unseren schwärmenden Spermatozoiden erfüllten Wassertropfen eine Kapillare schob, welche 0,1 %ige Lösung von **zitronensaurem Natrium** enthielt, sah ich das hochinteressante typische Schauspiel einer chemotaktischen Reizwirkung auf die Lycopodium-Spermatozoiden sofort wieder eintreten, welches aber das durch den

Saft des Prothalliums hervorgerufen bei weitem übertraf, und immer wieder mit der gleichen Lösung hervorgezaubert werden konnte. Augenblicklich nehmen bei diesem Agens die regellos durcheinanderschwärmenden Samenfäden die aus der Kapillaröffnung hinausdiffundierende Flüssigkeit zum Ziele, steuern auf diese zu, sammeln sich hier in großer Zahl an und dringen sogleich in die Kapillare ein, wo alsbald die Flüssigkeit mit mehreren Hunderten äußerst lebhaft durcheinander wimmelnder Samenfäden erfüllt wird. Hier kann man dieses fesselnde Schauspiel mehrere Stunden beobachten. Während in der Außenflüssigkeit die Samenfäden schon längst abgestorben waren, lebten sie in der Kapillare noch fünf und mehr Stunden.

Zitronensaures Kalium hat bei gleicher Lösung die gleiche, ja vielleicht noch einige Grade günstigere Reizwirkung, und die Samenfäden lebten in einigen Fällen bis acht Stunden in solcher Kapillarflüssigkeit.

Zitronensaures Calcium und **zitronensaures Magnesium** sind in Wasser wenig löslich. Von einer Mischung, welche 100 g Wasser mit je 1 g dieser Salze ergaben, filtrierte ich die Lösung und beschickte damit Kapillaren. So erhielt ich wieder zwei vorzügliche chemische Reizmittel, welche, gleich den vorher erwähnten Salzen der Zitronensäure, als ein Lebenselixier die Lebenszeit dieser Samenfäden um das 10- bis 16fache der sonstigen Lebensdauer verlängerte. Auch ohne Anwesenheit der atmosphärischen Luftblase in den Kapillaren, also ohne eine Versorgung durch Sauerstoff, wurde die gleiche Wirkung erzielt.

Brachte ich in einen mit schwärmenden Spermatozoiden erfüllten Wassertropfen die vier Kapillaren mit den vier vorher erwähnten neutralen Salzen der Zitronensäure, so hatte in solcher Konkurrenz meist das zitronensaure Kalium den größten Erfolg in der chemotaktischen Anlockung und Ansammlung der Samenfäden, und dieselben gewannen auch in solcher Lösung die längste, bis etwa acht Stunden währende Lebenszeit.

Bei abnehmender Konzentration wird auch die Reizwirkung der alkalischen Salze unserer Säure herabgesetzt. Versuche mit 0,05 %igen Lösungen veranlaßten die typische Reizwirkung noch recht deutlich, weniger leisteten 0,01 und 0,005 %. Kaum merklich war die Wirkung von 0,001 %, und weitere Verdünnungen, z. B. solche von 0,0005 und 0,0001 %igen Lösungen, brachten keine erkennbaren Reizwirkungen mehr hervor, so daß also die untere Grenze einer noch zu bemerkenden Reizreaktion, also die Reizschwelle in dem zuerst von Pfeffer angewandten Sinne, auch für diese Samenfäden etwa bei 0,001 %igen Lösungen angenommen werden kann.

Höhere, über die bestwirkende 0,1 %ige Lösung unserer alkalischen Salze gehende Konzentrationen ergaben keine Steigerung der Reizwirkung. 0,5 %ige Lösungen veranlaßten noch eine recht zahlreiche Ansammlung der Samenfäden vor der Kapillare und zögerndes Eindringen in dieselbe, aber baldiges Absterben. Bei 1 %igen und weiter steigenden Konzentrationen macht sich eine repulsive Reizwirkung geltend. So werden bei 2 (auch 3—5) %igen Lösungen die angelockten und herbeieilenden Samenfäden an der Mündung der Kapillare abgestoßen. Sie prallen oder weichen hier zurück, wie wenn sie fortgeschleudert würden, und vermeiden das Eindringen in die Kapillare.

Auch mit der **freien Zitronensäure** habe ich Versuche angestellt. Pfeffer¹⁾ fand, daß bei den Farnsamenfäden die Apfelsäure im freien wie im gebundenen Zustande in gleich intensiver Weise als Reizmittel wirke. Nach Shibata²⁾ aber wird die freie Apfelsäure schon in mäßiger Konzentration von den Isoëtessamenfäden gemieden. In niedrigeren Konzentrationen wirke sie gleich gut anziehend, wie die neutralen Salze.

Auf die Samenfäden von *Lycopodium* wirkt die freie Zitronensäure schon in 1 %iger Lösung stark impulsiv. Auch 0,1 %ige Lösung zeigt sich noch zu scharf und erzielt nicht die günstigen Resultate der gleichprozentigen Salzlösungen. Es sammeln sich zwar die Samenfäden in großer Zahl vor der Kapillare an, auch dringen viele in die Kapillare ein, sterben hier aber bald ab. Erst 0,01 %ige Lösungen, welche nur ganz schwach sauer reagieren, zeigen wieder, wie die 0,1 %igen Salzlösungen, das schöne Schauspiel der wunderbaren chemotaktischen Reizwirkung in vollendeter Form: wolkenartige Ansammlung vor der Kapillare und tiefes Eindringen in dieselbe. Die Lebensdauer ist aber wenig mehr als eine Stunde. 0,005- und 0,001 %ige Lösungen bewirkten noch sehr gute Reizwirkung, erzielten ein tiefes Eindringen der Samenfäden und gewährten auch denselben eine mehrstündige Lebensdauer. Ja 0,0005- und 0,0001 %ige Lösungen unserer Säure bewirkten zwar eine schwache, aber doch deutlich erkennbare Chemotaxis.

So leisten also die schwachen Lösungen unserer freien Zitronensäure mehr als die ihrer entsprechenden neutralen Salze. Auch die Reizschwelle der freien Säure liegt tiefer als die der Salze, sie dürfte etwa in 0,0001 %iger Lösung angenommen werden.

Auch die weiteren aus der Zitronensäure zu gewinnenden Säuren, nämlich die **Akonitsäure**, die **Zitrakonsäure**, die **Itakonsäure** und die

1) Pfeffer a. a. O., pag. 381 u. 479.

2) Shibata a. a. O., pag. 577.

Mesakonsäure wurden zu Versuchen mit Lycopodium-Spermatozoiden in 0,01 % igen Lösungen verwendet, aber sie übten keine bemerkenswerten Reizwirkungen aus. Die Amonitsäure wirkte giftig. Die Samenfäden, welche in die diffundierende Lösung einer mit dieser Säure beschickten Kapillare gelangten, starben alsbald.

* * *

5. Schluß. Aus den angeführten Versuchen ist zu folgern, daß die Zitronensäure in der freien Form oder auch in ihren Salzlösungen das spezifische Reizmittel der Samenfäden von Lycopodium darstellt, welches bei den Befruchtungsvorgängen den Archegonien als Lockmittel dient, das Einschwärmen der Samenfäden in das Archegonium und die Führung derselben zur Eizelle veranlaßt. Die große Anzahl von Halskanalzellen namentlich bei den Archegonien von *L. clavatum*, *annotinum* und *complanatum* verschafft ihnen das Lockmittel nicht nur in reicher Menge, sondern die langen Archegoniumröhren veranlassen auch ein langsames Diffundieren und Sich-erschöpfen, was bei den Befruchtungsvorgängen, die sich innerhalb des Erdreichs abzuspielden haben, vorteilhaft sein dürfte.

Zwar kann die Zitronensäure in dem Inhalte der Archegonien oder auch in anderen Zellen des Prothalliums von Lycopodium nicht nachgewiesen werden, doch reagiert der Saft des Prothalliums schwach sauer. Denn drückt man abgebrochene oder abgeschnittene Prothalliumstücke auf blaues Lackmuspapier, so wird dieses mit der ganzen aufgedrückten Fläche des Prothalliums, also mit dem vegetativen sowohl als auch mit dem generativen Teile, schwach gerötet, wodurch die Gegenwart einer Säure in dem Prothalliumsaft erwiesen ist. Daß dies nur die Zitronensäure sein kann, muß wohl aus den Erfahrungen über die sehr ausgebildete Sensibilität der Samenfäden der Pteridophytengruppen für ihre spezifischen Reizmittel gefolgert werden. Wie Pfeffer die Spermatozoiden der Farne als ein empfindliches physiologisches Reagens auf Apfelsäure hinstellt, so sind die von Lycopodium als ein solches auf Zitronensäure zu verwerten, nur schade, daß sie nicht leicht zur Hand sein können.

Die Zitronensäure, welche durch die saprophytische Lebensweise dieser Prothallien als ein Stoffwechselprodukt aus dem Humus, vielleicht mit Hilfe des endophytischen Pilzes, gewonnen werden wird, dürfte dadurch, daß sie den Saft säuerlich macht, dem Prothallium einen guten Schutzstoff abgeben, nämlich ein Abwehrmittel gegen die Angriffe und Freßgelüste der im Humus lebenden Tiere. Nun kann auch angenommen werden, daß ein Teil der Zitronensäure des Prothalliums an Alkalien oder alkalische Erden, soweit solche aus dem Humus zu

erreichen waren, gebunden ist und in solcher Form, wie wir wissen, den Samenfäden ein Lebenselixier abgibt. Spektralanalytische Untersuchungen weisen solche nach.

Eine Sonderfärbung nimmt der Inhalt der alten Archegonien bei einer Zuckerprobe durch die Fehlingsche Lösung an; während in dem behandelten Prothalliumsschnitte kein Zucker nachgewiesen werden konnte, färbte sich doch der schleimige Inhalt älterer Archegonien allein gelblich bis schwach rot.

Lidforß¹⁾ hebt hervor, daß die chemotaktische Empfindlichkeit der Samenfäden der Laubmoose, der Lebermoose und der Farne annähernd gleich groß sei. Auch die Samenfäden von Lycopodium äußern zu ihrem spezifischen Reizmittel in übereinstimmenden Konzentrationen mit denen der genannten Gruppen zumeist gleiche Empfindlichkeit. Auch hat bei ihnen das von Pfeffer²⁾ für die Samenfäden in Anwendung gebrachte Webersche Gesetz, das Verhältnis zwischen Reizintensität und Reaktionsgröße, seine Gültigkeit: Bringt man diese Samenfäden in eine schwache Lösung eines zitronensauren Salzes als Außenflüssigkeit, so muß die Kapillarlösung, wenn sie eine neue Reaktion, also die Unterschiedsschwelle, erreichen soll, auch einen Reizzuwachs erhalten und etwa 30—40 mal so stark als die Außenflüssigkeit konzentriert werden.

Auch die Repulsivbewegungen gegen Säuren und Alkalien sind bei unseren Samenfäden vorhanden, wie es einige Versuche lehrten, doch lag es mir im weiteren fern, diese Samenfäden außerhalb des Rahmens ihrer natürlichen Bedingungen zu befragen.

Wenn nun von Shibata³⁾ hervorgehoben wird, daß die gleiche hochausgebildete chemotaktische Empfindlichkeit der Samenfäden von den drei großen Pteridophytenklassen für die Apfelsäure eine bedeutungsvolle physiologische Tatsache sei, welche in eklatanter Weise den monophyletischen Ursprung des großen Pteridophytenstammes beweise, so stellt doch das abweichende Verhalten der Lycopodium-Spermatozoiden die Lycopodien nicht außerhalb solches Stammes, sondern läßt dies vielmehr als eine durch die saprophytische Lebensweise erworbene Abänderung ihrer auffallend gestalteten Prothallien deuten. Von Interesse wäre es auch, zu erfahren, was uns die Samenfäden der saprophytisch lebenden Prothallien der Ophioglossaceen in dieser Frage zu bekunden haben.

Gotha, im September 1908.

1) Lidforß a. a. O., pag. 80.

2) Pfeffer a. a. O., pag. 395; Shibata, Isoëtes-Spermatozoiden, pag. 572.

3) Shibata, Über die Chemotaxis der Spermatozoiden von Equisetum. Vorläufige Mitteilung, pag. 81.