

EINFLUSS DER TEMPERATUR AUF DIE
PERMEABILITÄT DES PROTOPLASMAS BEI BETA
VULGARIS L.

von

D. DE VISSER SMITS.

EINLEITUNG.

Historische Übersicht und allgemeine Betrachtungen.

Die Frage nach der Permeabilität des Protoplasmas im weitesten Sinne des Wortes hat wohl mehr als irgend etwas anderes die Andacht der Physiologen auf sich gezogen. Das ist begreiflich, wenn man bedenkt, dass die Permeabilität der Membranen das Aufnehmen und Abgeben der Stoffe durch die Zellen der Organismen beherrscht, so dass alle Prozesse des Stoffwechsels und der Ernährung engstens damit zusammen hängen.

Die Geschichte der wissenschaftlichen Untersuchung der Permeabilität beginnt mit der Entdeckung der Osmose, die Sachs 1) Dutrochet 2) (1827) zuschreibt, obwohl er in Verbindung hiermit auch Fischer in Breslau (1822) nennt. Leider berichtet er mit keinem Wort von dem Abt Nollet 3), der zweifellos das Recht der Priorität dieser wichtigen Entdeckung für sich kann geltend machen; denn Nollet kannte die Osmose bereits 1748. Er war Professor der Physik in Paris und konstruierte das erste Endosmometer. Dieses bestand aus einer Flasche, welche mit Weingeist gefüllt war und durch eine Schweinsblase abgeschlossen wurde. Diesen einfachen Apparat setzte er in Wasser. Seine Schlussfolgerungen aus den Experimenten,

welche er mit diesem Instrument nahm, beweist, dass er den Kern der Sache entdeckt hatte; denn er schrieb: *Wenn die Blase an der einen Seite mit Wasser und an der anderen Seite mit Weingeist in Berührung kommt, dann lässt sie, da beide Flüssigkeiten um den Durchtritt streiten, hauptsächlich das Wasser passieren.* 4).

Eine Forschung von beinahe zwei Jahrhunderten und die grosse Wichtigkeit des Gegenstandes haben veranlasst, dass die Literatur über die Permeabilität gewaltig angewachsen ist. Walter Stiles 5) konnte in seiner Monographie 817 Publikationen anführen, die direct oder indirect mit diesem Problem zusammenhingen, obwohl diese Anzahl noch leicht zu erhöhen wäre. So tief und vielseitig diese Untersuchungen auch sein mögen, so beziehen sich die meisten auf die Permeabilität für verschiedene Ionen und eine bedeutend kleinere Anzahl befasst sich mit dem Einfluss der Temperatur, während von den letzteren Untersuchungen nur einige Bezug haben auf die Permeabilität des Protoplasmas für Stoffe, die sich in den Vakuolen befinden.

Wenn man mit der Entdeckung Nollets beginnt, so dauerte es noch eine Reihe von Dezennien, ehe der Begriff Osmose für die experimentelle Pflanzenphysiologie von Bedeutung wurde.

Nach Dutrochet war Nägeli 6) einer der ersten, der die Entdeckung der Osmose in die experimentelle Pflanzenphysiologie hineingezogen hat. Auch die auf diese Erscheinung sich beziehende Terminologie, so unentbehrlich für ihren Vortrag, wurde von ihm abgeändert und erweitert. Dutrochet gebrauchte den Ausdruck Endosmose für die starke Strömung und Exosmose für die schwache, aber für die Anwendung dieser Begriffe auf das Leben der Pflanze war eine Abänderung notwendig und Nägeli führte dann auch eine andere Bedeutung für diese Ausdrücke ein. Er verstand, genau wie heutzutage, unter Endosmose den Strom, der in die Zelle dringt und

nannte Exosmose das Austreten der Stoffe, die vorher in der Zelle waren. Zur Erweiterung der von Dutrochet gebrauchten Ausdrücke führte er das Wort *Diosmose* ein. Dieses fasst die beiden Strömungen zusammen. Nägeli berichtete auch einiges über das in der Zellflüssigkeit gelöste Anthocyan und besonders über das Nicht- oder Wohlaustreten dieses Farbstoffes. Er sah dabei, dass die unveränderte und lebenskräftige Zelle das Anthocyan festhält, während bei einem veränderten Zustand der Zelle der Protoplast die gefärbte Zellflüssigkeit passieren liess und daher ebensowenig ein Hindernis bildete als die Zellwand.

Nägeli wies bei dieser Gelegenheit daraufhin, dass es für ihn eine offene Frage war, ob die Zelle in diesem Zustand tot oder lebend ist. [Auch Bayliss 7) röhrt die Frage nach der Vitalität der Zelle, wenn sie den Farbstoff ihrer Vakuolen ausströmen lässt, an. Aus der Art und Weise, worin er diesen Punkt bespricht, kann man zwischen den Zeilen lesen, dass nach seiner Meinung die Zellen in bestimmten Fällen nicht tot sind].

Da man in einigen Geweben neben einander gefärbte und farblose Zellen antrifft, so behauptet Nägeli, dass der lebende Protoplast bei normaler Temperatur für Anthocyan undurchdringbar wäre.

Bezüglich dieser Materie berichtet er nur von einem einzigen Experiment und zwar, dass rote und blaue Blumenkronblätter, die man zerschnitten in Wasser gelegt hatte, noch einige Zeit ihren Farbstof festhielten. Wenn sie bei Zimmertemperatur 24 Stunden und länger im Wasser liegen blieben, trat der Farbstof aus. Er beobachtete ferner, dass tote oder durch physikalisch-chemische Einflüsse veränderte Protoplasten nicht nur das Anthocyan durchliessen sondern auch aufnahmen und festhielten und zwar in einer stärkeren Concentration als es die ursprüngliche Zellflüssigkeit besass.

Sachs 8) diskutierte die Frage nach dem Einfluss der Temperatur auf die Permeabilität, und er versuchte, mehr als Nägeli, durch Experimente hier zur Klarheit zu kommen. Diese Untersuchung wurde in Bonn begonnen und 1863 beendigt. In der „Flora“ wurde sie 1864 aufgenommen. Er beschränkt sich jedoch auf einige Temperaturen, die über der höchsten Temperaturgrenze lagen und der Zweck, den er bei diesen Experimenten verfolgte, war, zu beweisen, dass die Zellen, die durch hohe Temperaturen getötet waren, sich genau so verhielten wie das durch Frost zerstörte Gewebe. Sachs sprach in diesem Verbande von erhöhter Permeabilität. Bei seinen Experimenten verwandte er auch Gewebe aus roten Rüben. Aus dem Wurzelparenchym schnitt er kleine Stücke, die $1\frac{1}{2}$ mm dick und 1 cm breit und lang waren. Sie wurden erst abgespült, um das Anthocyan der durch das Messer verwundeten Zellen, zu entfernen. Er stellte drei Versuchsreihen auf:

- a. Eine Anzahl Gewebestückchen wurde in Wasser von 20 Gr. C. gelegt, und nach 18 Stunden stellte er fest, dass der Farbstof noch nicht ausgetreten war.
- b. Er legte eine Anzahl von Schnitten in Wasser von 51 Gr. C. und sah, dass die Diffusion des Farbstoffes sofort begann, und dass das Gewebe nach 30 Minuten farblos war.
- c. Dasselbe Resultat erhielt er bei einer Temperatur von 55 Gr. C. Bei der Diskussion der Ergebnisse dieser Untersuchungen stellte Sachs sich die Frage, ob man annehmen dürfe, dass die Zellen während dieser Untersuchungen nicht verändert seien und nur allein der Diffusionsprozess beschleunigt sei. Durch das folgende Experiment glaubte er, das Gegenteil bewiesen zu haben.

Eine Anzahl Schnitte blieben einige Minuten lang in Wasser von 51 Gr. C. Dann wurden sie in Wasser von 22 Gr. C. gebracht und nun schien es ihm, dass das

Austreten von Anthocyan konstant fortgesetzt wurde. Hierauf denke ich in dem Abschnitt über „*Abgebrochene Entfärbungen*“ näher zurück zu kommen.

Mit seinen weiteren Experimenten bewies *Sachs*, dass die Zellen, sobald sie getötet waren, für Farbstoffe permeabel wurden. Weitere Experimente mit infra-maximalen Temperaturen hat er also nicht genommen.

Hofmeister 9) behauptet die Frage nach der Permeabilität sehr knapp, und er bemerkt, dass der Widerstand des Protoplasmas gegen das Aufnehmen und Durchlassen von in Wasser gelösten Stoffen grösser ist als der der Zellwand. Was er über einen in der Vakuole anwesenden Farbstoff sagt, streift die Tendenz dieser Untersuchung. Er konstatierte, dass in solchen Fällen das Protoplasma selbst farblos war und nannte einige Beispiele: die Haare der Staubfäden von *Tradescantia virginica*, einzelne Zellen aus der Epidermis von *Vallisneria spiralis*, die rote Zellflüssigkeit haben, die Zellen im Fruchtfleisch von *Rubus fruticosus*, *Solanum nigrum* u.s.w.

Er konstatierte dass in vielen Fällen das wandständige Protoplasma in der Lage war, das Austreten des Farbstoffes mehr als 24 Stunden zu verhindern, wenn man Stücke eines solchen Gewebes in Wasser legte. Dasselbe nimmt er wahr bei in Stücken geschnittenen, Zucker haltenden Pflanzengeweben. Nach 30 Minuten ist hier das umgebende Wasser noch frei von Zucker.

Seine Schlussfolgerung ist dann, dass das Protoplasma diese Widerstandsfähigkeit nur in unverändertem lebendem Zustand besitzt. Das lebhafte Aufnehmen von Farbstoffen aus ihren Lösungen durch das Protoplasma hält er für das Anzeichen seiner Desorganisation. Denselben Effect erzielt *Hofmeister* indem er solche Objecte längere Zeit im Wasser lässt. Als Zeitgrenze gibt er 10 bis 48 Stunden an.

Auch *De Vries* 10) 11) 12) 13) hat Untersuchungen

angestellt, die sich auf Temperatur und Permeabilität bezogen. Diese Publikationen sind aus einer Zeit gewissenhafter Untersuchungen nach der oberen Temperaturgrenze des Lebens. Verschiedene Forscher arbeiteten mit lebenden Pflanzen, deren ober- oder unterirdische Teile einige Zeit einer bestimmten Temperatur ausgesetzt wurden. Das Lebendbleiben oder Absterben dieser Objekte nach kürzerer oder längerer Zeit bildete die Grundlage ihrer Folgerungen. Man kommt jedoch bei derartigen Untersuchungen zu der Frage: was ist die Todesursache der Versuchsobjekte? Darauf kann man erwideren: die hohe Temperatur; aber so einfach ist die Frage nicht zu beantworten.

Die Pflanze ist eine komplizierte Zusammenstellung von verschiedenen Geweben, die aus einer groszen Anzahl Zellen bestehen, deren Lebensfunktionen bei einer fortwährenden Wechselwirkung unter einander den lebenden Organismus als Resultante ergeben. Daher wird die Frage nach der Todesursache so lauten müssen: Welche Zellen oder Zellgruppen sind in ihren Funktionen durch die hohe Temperatur derart geschädigt dass das organische Gleichgewicht der Funktionen endgültig zerstört ist.

De Vries experimentierte mit Wurzeln von *Stratiotes aloides*, hielt sie eine halbe Stunde in kochendem Wasser und stellte nach der Untersuchung eine Verkürzung von 1,2 % fest. Dasselbe geschah in Wasser von 51,0—52,5 Gr. C., wobei er eine Verkürzung von 0,25 % konstatierte.

Seine Schlussfolgerung war nun, dass die Lebensgrenze zwischen 52 und 54 Gr. C. liegt. Hier möchte ich gern hinzufügen, dass es auch infra-maximale Temperaturen gibt, die, wenn sie entsprechend lang angewandt werden, die eine oder andere Funktion einer Zellgruppe so schaden können, dass das Leben des Organs vernichtet und die Existenz des Gesamtorganismus bedroht wird.

Er experimentierte auch mit Wurzeln einer Reihe anderer

Pflanzenarten, wobei sein Ziel war, zu untersuchen, durch welche Temperatur die Zellwände beschädigt wurden, wenn die Wurzeln $1\frac{1}{2}$ Stunden in Wasser von dieser Temperatur gehalten wurden. Er findet dann die Grenze für Rettich, Möhre, Kohlrabi, weisse Feldrübe und Peterselie zwischen 46 und 48 Gr. C.; für Radieschen und Raps zwischen 48 und 50 Gr. C. Ferner hat er auch wieder mit Wurzeln von *Stratiotes aloides* experimentiert, um auch hier die Grenze für den Protoplasten zu bestimmen. Die Wurzeln blieben 30 Minuten in Wasser von 50 Gr. C. und wurden danach in eine Anthocyanlösung gebracht, die aus der Wurzel von *Beta vulgaris* hergestellt wurde und als Indicator dienen musste. Nach einiger Zeit färbten die Wurzeln sich dunkelrot. Daraus schliesst er, dass die Grenze für die Veränderung der Zellwand höher war als die Lebensgrenze.

Die Wurzel von *Beta vulgaris* wurde auch von De Vries untersucht und zwar speciell auf die Permeabilität des Protoplasmas für verschiedene Ionen, so dass dieses in keinem directen Zusammenhang mit meiner Untersuchung steht, und deswegen führe ich hier nur die Schlussfolgerung an: *Das lebende Protoplasma ist nicht permeabel oder nur in äusserst schwachem Grade für eine grosse Anzahl, in Wasser löslichen, Stoffen.* Diese Folgerung kann neben den Aussprüchen von Nägeli und Bayliss stehen.

G. Krabbe 14) stellte Untersuchungen an, die sich auf mein Thema beziehen und nach seinem Tode von R. Kolkwitz veröffentlicht worden sind.

Er arbeitete mit Gewebecomplexen, so z.B. halben und ganzen Markzyllindern aus den Zweigen von *Sambucus nigra*, *Inula Helenium* etc. und mit Wurzeln von *Vicia Faba* und *Phaseolus multiflorus*. Er studierte hauptsächlich die Kontraktion dieser Objecte in starken Zuckerlösungen bei verschiedenen Temperaturen. Teile seiner Experimente

werfen so ein Licht auf die Permeabilität für Wasser bei Exosmose, und er stellte fest, dass der Process bei 20 Gr. C. schneller geht als bei 1 Gr. C. Andere Experimente beziehen sich auf die Permeabilität des Wassers bei Endosmose. Von einem Markzylinder von *Helianthus annuus* wurde die eine Hälfte in Wasser von 1—2 Gr. C. gelegt und die andere Hälfte in Wasser von 25 Gr. C. Beide nahmen Wasser auf, aber die Geschwindigkeiten waren sehr verschieden, sie verhielten sich wie 1 : 5. Die Experimente Krabbes sind einleuchtend, abgesehen von den ungünstigen Nebenumständen, dass in seinen ziemlich zusammengesetzten Objecten allerlei Zug- und Druckkräfte wirken, die unbekannt und daher unkontrollierbar sind, besonders in den halben Zentralzylindern. Dies ist wahrscheinlich wenn auch in geringerem Masse bei meinen Objecten der Fall.

Fr. van Rysselberghe 15) stellte bei Pfeffer Untersuchungen über die Permeabilität bei 6, 12, 16, 20, 25 und als oberste Grenze 30 Gr. C. an. Er ging bei diesen Untersuchungen in den Fussstapfen Krabbes 14), indem er die Permeabilität für Wasser untersuchte. Er arbeitete auch mit Schnitten von *Tradescantia*, wobei er in der Schnelligkeit der Plasmolyse einen Maßstab für die Permeabilität des austretenden Wassers sah, was durch Janse 17) bereits 1888 bei *Spirogyra* wargenommen war. Aus dem Verlauf der Deplasmolyse erkannte er die Geschwindigkeit der Permeabilität für verschiedene Ionen. Hierbei muss man jedoch im Auge halten, dass bei Deplasmolyse immer eine Möglichkeit offen bleibt und zwar diese, dass Anatono 18) darauf von Einfluss gewesen war. Wenn nämlich während der Deplasmolyse in der Zelle durch irgend welche Ursachen osmotisch wirksame Stoffe gebildet werden, und das ist durch Iljin 19) und andere in bestimmten Fällen überzeugend nachgewiesen, dann verläuft die Deplasmolyse schneller und das so festgestellte Resultat ist falsch.

Hansteen Cranner 20) hat nur einige Versuche

gemacht, die sich auf meine Untersuchungen beziehen. In der dritten Versuchsreihe geht er den Einfluss der Temperatur auf das Austreten von in Wasser löslichen Phosphatiden und Zellfarbstoffen nach. Er arbeitet mit Scheiben aus der Mitte der Wurzel von *Beta vulgaris*, bei einer Abmessung von 4 zu 5 zu 1 cm. Er spült das Anthocyan des zerstörten Gewebes durch einen kräftigen Wasserleitungsstrahl ab, so dass das Wasser, worin das Material schon lang gestanden hatte, keinen Farbstof mehr enthält. Diese Vorbehandlung dauerte 12 Stunden bei einer Temperatur von 10—15 Gr. C. Dann beginnt er seine Experimente und gebraucht dabei destilliertes Wasser. Er konstatiert dann, dass das Austreten von Phosphatiden in der Regel Hand in Hand geht mit dem Austreten von Anthocyan wozu 19 Stunden bei 30 Gr. C. und danach 24 Stunden bei 17 Gr. C. nötig waren. Als Ausnahme berichtet er, dass in einigen Fällen bei demselben Experiment das Anthocyan nicht austrat.

Ferner bemerkt er noch, dass diese Prozesse *volkommen reversibel* sind, und bei dieser Bemerkung wollen wir einige Augenblicke verweilen. Das *Reversibel-* oder *Irreversibel*sein eines physiologischen Prozesses, in unserem Falle also das Austreten von Anthocyan, wird oft bei zahlreichen physiologischen Untersuchungen diskutiert. Doch wird mit diesem Begriffe manchmal leichtsinnig umgegangen. Der Tod einer Zelle oder einer Zellgruppe ist das Ende eines Prozesses, der im Augenblick des Todes absolut irreversibel wird. Inwieweit frühere Stadien eines solchen Prozesses reversibel sind ist schwierig zu sagen, was aber die Möglichkeit ihrer Reversibilität nicht ausschliest. Wenn z.B. aus Rübengewebe unter dem Einfluss einer bestimmten Temperatur Anthocyan austritt, und das Austreten aufhört, sobald man dasselbe Object in eine tiefere Temperatur überführt, dann darf man daraus nicht auf die Reversibilität dieses Prozesses schliessen. Es ist in der Tat möglich, dass man hier mit einem solchen Prozesse zu tun hat, aber

es besteht noch eine andere Möglichkeit nämlich dass verschiedene Zellgruppen aus diesem Gewebe von ungleicher Resistenz gegenüber den angewandten Temperaturen sind.

Eine Wahl lässt sich jedoch mit Bezug auf dergleichen Untersuchungen zwischen diesen beiden Möglichkeiten nicht gut machen. **Hansteen Canner** hatte also nicht das Recht den Austrittsprozess von Anthocyan als reversibel zu bezeichnen, denn seine Experimente liefern dafür gar keinen Beweis.

Hansteen Canner hatte sehr grosse Stücke von Rübengewebe gebraucht und aus der Darstellung seiner Untersuchungen geht nicht deutlich hervor, welche Fürsorge er traf, um die Temperatur konstant zu halten. Da er selbst von *seinen ziemlich konstanten Temperaturen* spricht, dürfen wir voraus setzen, dass die Technik bei diesen Untersuchungen viel zu wünschen übrig liess.

Lepeschkin 21) hat in seinen Publikationen die Frage nach der Korrelation zwischen Temperatur und Permeabilität besprochen. Sein Zweck dabei war nicht neue Tatsachen zu sammeln, obwohl er doch verschiedene Experimente ausführte, aber nur um die vorhanden Tatsachen zu ordnen und durch Synthese Erklärungen für bereits bekannte Erscheinungen zu geben. Er selbst arbeitete hauptsächlich mit supramaximalen Temperaturen von 45—85 Gr. C. und erklärte die zunehmende Permeabilität aus der ständig anwachsenden Coagulation des Protoplasmas. Erst treten molekular gelöste Stoffe aus, aber später passieren auch Colloide den Protoplasmastoffen und bei vollständiger Coagulation tritt schliesslich der in der Zellflüssigkeit colloidal aufgelöste Farbstoff *sehr schnell* aus. In Verbindung mit meinen eigenen Beobachtungen muss hier der Nachdruck auf *sehr schnell* gelegt werden; denn bei sehr viel tieferen Temperaturen kann man auch Farbstoff austreten sehen, und es ist sehr fraglich, ob das Protoplasma dann schon coaguliert ist. So ist **Lepeschkin** auch der Meinung,

dass die Entfärbung beginnt bei einer höheren Temperatur als die, welche das Protoplasma coaguliert. Wenn das wahr ist, dann muss das Protoplasma bei 20 Gr. C. und jeder höheren Temperatur gerinnen, was allerdings noch bewiesen werden muss.

Er stellt auch einen Versuch mit Rübengeweben an und gebraucht jedesmal 5 Normalschnitte von 2 mm Dicke und $6\frac{1}{2}$ qcm Oberfläche. Dann notiert er die Zeit, die nötig ist, um soviel Anthocyan austreten zu lassen, dass die Farbe des Wassers gleich einer 0.00001 % Fuchsine-Lösung ist, und dass nimmt er als Coagulationszeit des Protoplasmas an.

Die Untersuchungstechnik ist weniger vollkommen; denn um die Temperatur-schwankungen des Wassers zu regeln muss er von Zeit zu Zeit warmes Wasser hinzugießen.

Collander 22) kritisiert die technischen Massregeln bei der Methode Lepeschkins, aber er selbst gibt keine genügende Beschreibung der Umstände, die seine Untersuchungen regelten. Bei der Betrachtung von Collander's Untersuchungen, richten wir zunächst unseren Blick auf seine Meinung, dass jede Zellart ein Temperaturmaximum hätte, das nach kürzerer oder längerer Zeit die Zelle töte, und das der Tod um so schneller eintrete, je nachdem dies Maximum weiter überschritten worden wäre. Er brachte in ein Koordinatensystem die Temperaturen und die Logarithmen der dazu gehörenden Zeiten, wobei die Temperaturen tödlich waren, und erhielt dann ungefähr eine gerade Linie. Er arbeitete auch mit Scheiben aus Rübengewebe, die 0.3 mm dick waren, die Grösze gibt er nicht an. Er untersuchte seine Objecte nach dem Experiment und betrachtete bei den Rüben die Deplasmolyse als Kriterium des Lebens. Er schätzt das Verhältniss von farblosen und gefärbten Zellen und nahm, wenn die Hälfte der Zellen tot war an, dass die Zeit, die nötig war, um das Gewebe zu töten, erreicht war.

Wir lassen hier Tabelle 2 aus dieser Untersuchung folgen.

Versuch	40 Gr. C.	45 Gr. C.	50 Gr. C.	55 Gr. C.	60 Gr. C.
4		330	90	3	
5			80	4,5	0,5
6	1500	420	100	4,5	0,8
7	2500	510		5	0,7
Durchschnitt:	—	420	90	4,3	0,7

Zum tödlichen Temperaturmaximum Collanders möchte ich bemerken, dass er die entfärbte Zelle als abgestorben auffaßte, was ich nicht weiter beurteilen will. Da ich der Ansicht bin, dass eine Zelle von Beta auch bei einer Temperatur von 20 Gr. C. zu entfärbten ist, möchte ich die Frage stellen: *Wie hoch*, oder richtiger noch *wie tief* liegt dann das tödliche Temperaturmaximum für bestimmte Zellen von Beta? Da ich nicht weiss, wie gross die von ihm gebrauchten Normalschnitte waren und auch weil sie dicker waren als die meinigen, und ferner durch den Umstand, dass er bei einem halb entfärbten Gewebestück annahm, dass es tot war, kann ich meine *Entfärbungszeiten* nicht mit seinen *Tötungszeiten* vergleichen. Wenn er bei seinen Beta-Experimenten Gewebestücke aus den am meisten auseinander gelegenen Regionen der Wurzel genommen hätte, dann würde er wohl einen anderen Durchschnitt erhalten haben.

Hieraus ergibt sich, dass Collanders Aufmerksamkeit nicht auf den groszen Unterschied der Permeabilität zwischen Basis und Spitze der Wurzel gerichtet gewesen ist, und auch nicht auf die groszen natürlichen Fluctuationen, die in den Monaten November bis Mai, in den Wurzeln stattfinden.

Sonderbar ist, dass die Zeit von 90 Minuten bei 50 Gr. C. welche er fand, übereinkommt mit der Entfärbungszeit,

die ich gefunden habe. In seinen theoretischen Schlussbetrachtungen spricht er über die Ursache des Todes bei hohen Temperaturen. Er denkt dabei an ein Denaturieren von Eiweissstoffen des Protoplasten und an die Störung von thermolabilen Enzymen.

Sowohl nach Lepeschkin als Collander ist es eine feststehende Tatsache, dass das Protoplasma aus Eiweissstoffen besteht, die durch ihre Reaktion auf die verschiedenen Temperaturen, die verschiedenen Fluktuationen der Permeabilität beherrschen, aber es sind schon eine Reihe von Tatsachen bekannt geworden, die vermuten lassen, dass vielleicht Stoffe aus einer ganz anderen Gruppe, in ihrem durch die Temperatur beeinflussten Benehmen, die mehr oder minder erhöhte Permeabilität verursachen oder doch wenigstens darauf von groszem Einflusß sind.

A. Weis 23) und verschiedene andere Untersucher 24) 25) weisen in Verbindung hiermit auf Lecithine und andere Lipoiden.

Kurz vor der Drucklegung dieser Arbeit fand ich Gelegenheit einen Artikel von Lepeschkin 26) ein zu sehen, dem ich noch das ein und andere entnehmen will. Collander konnte diese Publikation nur in einer Nachschrift seiner oben angedeuteten Arbeit flüchtig besprechen.

L. gibt ausführliche, theoretische Betrachtungen aber auch eine sehr grosse Anzahl Versuche mit *Spirogyra*, die technisch ausgezeichnet eingerichtet gewesen sein müssen; denn er gibt an, dass der von ihm gebrauchte Wasserthermostat bis auf 0.03 Gr. C. konstant war.

Er vergleicht das Plasma mit einer übersättigten Salzlösung d.h. es ist zwar flüssig, aber es kann plötzlich fest werden. Dieser Prozess kann durch mechanische Einflüsse beschleunigt werden, wie es bei Explosionsstoffen der Fall ist. Im Gegensatz zu der früher angeführten Publikation meint er nun, dass Lipoide eine Rolle spielen und sagt,

dass die continue Phase aus losen Eiweissverbindungen mit lipoiden Stoffen besteht. Hier möchte ich gerne fragen: Steht diese Auffassung nicht im Widerspruch mit dem, was die Kolloidchemie heute lehrt?

Bei der Besprechung des Einflusses der Temperatur auf die Stabilität des Plasmas unterscheidet er zwei Einflüsse der hohen Temperatur nl. *Denaturation* und *Coagulation*, wobei nach ihm der zweite Prozess eine Folge des ersten ist. Ferner spricht er von synthetischen Prozessen, die im Plasma stattfinden und die selbst dann noch statt haben, wenn die äusserste Schicht gerinnt. Sobald aber Kern und Chloroplast gerinnen, sind diese Prozesse zerstört.

Er hat auch gefunden, dass die H Ionen Konzentration von Einfluss auf die Gerinnungszeit ist. Erhöhte Konzentration macht den Protoplasten empfindlicher und erniedrigt die Coagulationszeit, sowie bei meinen Experimenten durch den gleichen Einfluss die Entfärbungszeit kurzer wird.

Soweit die Besprechung und allgemeine Betrachtung der hauptsächlichsten Literatur, die sich auf mein Thema bezieht.

Zum Schluss noch eine Bemerkung allgemeiner Natur. Betrachtet man die wissenschaftlichen Publikationen der letzten Jahre, dann bemerkt man, dass bei den Physiologen der verschiedensten Richtungen die theoretischen Betrachtungen ihrer Schriften immer umfangreicher werden. Manchmal selbst gehen die eigenen Untersuchungen und Wahrnehmungen in der theoretischen Abhandlung völlig unter. Besonders die Kolloidchemie liefert aus ihrem reichen Arsenal von Begriffen und Theorien Stoff für manchmal sehr wenig befriedigende *Erklärungen* von Ergebnissen der Experimente. Es kommt manchmal vor, wenn man einem Kolloidchemiker um Rat fragt, das dann die *Erklärungen* abgewiesen oder mit sehr groszer Reserve empfangen werden. Geht man zurück zu den Grossmeistern der Physiologie,

die die Fundamente für diese Wissenschaft gelegt haben, dann fällt die einfache und einfältige Bemühung um zu erklären auf, und ihre Untersuchungen beschämen uns durch die sorgfältige Auswahl ihrer Experimente, die mit solchen einfachen Hilfsmitteln verrichtet wurden.

Da meine Experimente dergleichen Probleme nur streifen, fällt eine tiefer gehende, theoretische Betrachtung dieser Fragen aus dem Kader dieser Einleitung, die ich hiermit beende, um zur Besprechung der eigentlichen Untersuchung über zu gehen.

Material und Methode.

Das bei meinen Untersuchungen gebrauchte Material war das Gewebe der Wurzel von *Beta vulgaris*. Die Rüben stammten teils aus der Umgebung von Utrecht, welche in die Erde vergraben wurden, teils aus dem Hoekschen Waard, welche in ein Treibbeet gepflanzt wurden, worin sie überwinterten mit den Blättern aus ihrer ersten Wachstumsperiode. Als ich im März 1925 von diesem letzteren Material Gebrauch machen wollte, ergab sich, dass die meisten Wurzeln und zwar hauptsächlich ihr oberes Ende, kein Anthocyan mehr enthielten. Die neugebildeten Blätter waren dagegen stark dunkelrot gefärbt. Auf dem Durchschnitte waren diese Rüben fahl von Farbe und enthielten hier und da einen rostbraunen Farbstoff, den ich auch, etwas später, bei einzelnen Utrechter Exemplaren neben dem Anthocyan auftreten sah.

Es befand sich darunter auch ein einziges Exemplar, das durch seine hell grünen Blätter auffiel. Die Blätter waren mit Rost befallen (*Uromyces betae Tul.?*) und die Wurzel unterschied sich von allen übrigen durch starken Anthocyangehalt.

Im Lauf der Untersuchungen stieg bei mir die Vermutung auf, dass die Utrechter Rüben, was den Widerstand

des Gewebes gegenüber den angewandten Temperaturen anbetrifft, langsam veränderten. Um dies zu untersuchen, werden einige Jahre nötig sein, während man dabei mehr einförmiges Material, als worüber ich verfügen konnte, gebrauchen müsste, indem man zum Beispiel von einer einzigen Landrasse von Beta ausginge [Solche Samen werden von der Firma L. de Vilmorin, Paris geliefert und die daraus gezüchteten Rüben sind von einer erstaunlichen Gleichmässigkeit, wovon ich mich selbst überzeugt habe].

Die Rübe beginnt als zweijähriges Gewächs am Ende der ersten Wachstumsperiode eine Winterruhe, woraus sie nach und nach erwacht. Dieser Prozess geht mit Umsetzungen von Anthocyan und einer Veränderung im Verhalten der farbstoffhaltenden Zellen gegenüber verschiedene Temperaturen gepaart, die man anwendet um Rübenfarbstoff austreten zu lassen.

Das Utrechter Material zeigte ausser Blattbildung eine grosse Anzahl kleiner Wurzeln, die lebhaft rot gefärbt waren und an der ganzen Oberfläche der Hauptwurzel erschienen. Diese Bildung von Seitenwurzeln wurde auch bei Rübenstücken, die einige Tage in einem abgeschlossenen, mit Wasserdampf gesättigten Raum aufbewahrt worden waren, wahrgenommen.

Für alle Experimente wurden Gewebestücke von gleicher Dicke und Oberfläche gebraucht nl. Dicke 0,22 mm, Länge 2,03 cm und Breite 1,16 cm; Diese Schnitte nenne ich *Normalschnitte* (abgekürzt: nmsn.)

Die nmsn. wurden immer in derselben Weise geschnitten und zwar so, dass die Längsachse der Schnitte soviel wie möglich dem Cambiumringe parallel orientiert war. Von Wichtigkeit war es ferner, dass die Schnitte morphologisch gleich sein mussten, und deswegen gebrauchte ich ein Stückchen Glas von der Grösse der nmsn, um längst den senkrecht geschliffenen Wänden aus den Wurzeln ein Parallel-

lopidum zu schneiden, das bequem in das Mikrotom eingeklemmt werden konnte und wovon so eine grosse Anzahl nmsn. hergestellt werden konnten.

Um die nmsn. alle gleich dick zu schneiden, wurde das Handschlittenmikrotom von Fritsch 27) gebraucht. Moderne Mikrotome konnten dafür nicht angewendet werden, weil man damit nicht so dicke Schnitte anfertigen kann. Aus der Konstruktion dieses einfachen Instrumentes kann man berechnen, dass die Schnitte bei einem Verschieben des Schlittens über zwei Streifen der Skala ungefähr 0,22 mm dick werden müssen.

Der Zweck der bei der Herstellung der nmsn. beabsichtigt wurde war, dass sie morphologisch gleichwertig sein mussten und allein die Ergebnisse mit nmsn. die dieser Forderung bis zu einer gewissen Vollkommenheit entsprachen, wurden mit einander verglichen. Die *morphologische Gleichheit* der nmsn. war teils durch die Art des Materials, teils durch die Schnittmethode nicht absolut gesichert. So dünn auch die Schnitte sein mögen, so sind sie, was ihr Zellmaterial anbetrifft, nicht vollkommen gleich, abgesehen von zufälligen Unregelmässigkeiten, die beim Gebrauch eines solchen einfachen Handmikrotoms nicht ganz zu vermeiden sind.

Das Bestreben eine morphologische Gleichwertigkeit der nmsn. zu erzielen, brachte mich dazu, die Rübe in 4 über einander gelegene Stockwerke zu verteilen, die beim notieren der Resultate mit den Ziffern von 1—4 ange deutet werden. Da die Gewebestücke aus diesen 4 nach unten an Grösze abnehmenden Teilen der Wurzel ebengross geschnitten werden, nähert man sich mehr und mehr dem Centrum der Rübe und in der untersten Etage wird dieses meistens getroffen.

Dass die für das Experiment gebrauchten nmsn. nicht nur *morphologisch* sondern auch *physiologisch* soviel wie möglich gleichwertig wurden, wurde auf einem anderen Wege erreicht. Beim Beginn meiner Untersuchungen habe

ich die nmsn. erst unter einem Strahl der Wasserleitung abgespült, um das Anthocyan aus den durch das Messer vernichteten Zellen weg zu nehmen. Verschiedene andere Untersucher taten dasselbe.

Dann wurde das abgespülte Material in Wasser gelegt, um nach und nach für die Experimente in die Apparate gebracht zu werden. Es ergab sich, dass durch diese Vorbehandlung die Entfärbungszeiten beeinflusst wurden und auch der längere oder kürzere Verbleib in Wasser von Zimmertemperatur hatte auf die Zeiten Einfluss. Die 4 Stücke, worin eine Wurzel verteilt wurde, kamen in Glaszyylinder mit eingeschliffenen Deckeln, wodurch diese Räume schnell mit Wasserdampf gesättigt waren, und so blieb das Material tagelang frisch erhalten. Auch diese Behandlungsweise führte zu einer physiologischen Ungleichheit, die zwar an sich von weniger Bedeutung als die oben beschriebene war, aber die doch ungewünscht erschien in Bezug auf die Vergleichung der Ergebnisse der verschiedenen Versuche. Um so viel als möglich die physiologische Gleichheit des Materials zu erreichen, gebrauchte ich nur solches, das beim Beginn eines Versuchs aus einer Rübe geschnitten wurde, das nicht von der Wasserleitung abgespült war, und das erst, wenn es in den Apparat gebracht wurde, mit Wasser in Berührung kam. Der nmsn. wird sofort in einen feuchten Raum gebracht und sobald die erforderliche Anzahl davon vorhanden ist, wird ein Versuch gemacht.

Um Versuche mit Material zu machen, das morphologisch und physiologisch so viel wie möglich gleichwertig ist, sind zwei Apparate erforderlich. Hat man nur einen zur Verfügung, und will man den Einfluss zweier verschiedener Temperaturen untersuchen, dann kann man zwar für die morphologische Gleichmässigkeit des Materials die Fürsorge tragen, aber die physiologische Gleichwertigkeit wird alsdann eine Fiction; denn wenn man den zweiten Versuch auf eine tiefere Temperatur einstellt, sinds die nmsn.

bereits in verschiedener Hinsicht physiologisch ungleich denen, welche beim ersten Versuch benutzt wurden.

Eine Methode die grosse Vorteile über die hier angewandte bieten kann, scheint mir die, wobei man eine Sachssche Blattschere benutzen kann, um *Anthocyan enthaltige Blätter* als Material zu gebrauchen. Leider konnte ich diese Methode nur kurz ausarbeiten und probieren; die erhaltenen Resultate sind deshalb so sparsam, dass ich hier nur zwei Tabellen mit den dazu gehörigen Kurven geben kann. Man könnte stark anthocyanhaltige Blätter der Rübe und von verschiedenen anderen Pflanzenarten gebrauchen, wobei ich die Aufmerksamkeit besonders auf *Iresine Lindenii* lenke, da sie stark durch ein rotes Anthocyan gefärbt ist, dass von ältern Untersuchern zu derselben Gruppe wie Rübenrot gerechnet wird 28) 29).

Der Gebrauch der Blattschere macht es möglich schnell eine grosse Anzahl nmsn. zu erhalten die morphologisch und physiologisch *vollkommen gleich* sind. Die morphologische Gleichheit ist bereits durch den Gebrauch der Blattschere wenn man rechts und links auf gleichen Abständen vom Hauptnerven bleib, gesichert. Die physiologische Gleichheit wird gesichert, durch die Schnellheit, womit die nmsn. hergestellt werden können und durch andere Mittel, die hier schon genannt wurden. Die Wundfläche, die Austrittstelle für das Anthocyan ist *überall gleichgross* und wird durch die Mantelfläche des niedrigen Zylinders, woraus solch ein Stückchen Normalgewebe besteht, gebildet. Es wird selbst möglich sein, die Anzahl der vorhandenen anthocyanhaltenden Zellen genau zu berechnen. Die meist gebräuchlichen Blattscheren beruhen auf das Abpressen eines Blattstückchens aber man müsste sich eine konstruieren, wobei die eine Hälfte am Ende eine massive Platte mit kreisförmigem Einschnitt trüge, und die andere Hälfte ein senkrecht stehendes kreisrundes Messer, welches genau in den Einschnitt passen müsste.

Gebraucht man ein solches Instrument, dann wird beim Herstellen der nmsn. stets eine ungefähr gleich grosse Anzahl von anthocyanhaltigen Zellen getroffen. Das so frei kommende Anthocyan wird eine ungefähr konstante Menge sein, und will man das austretende Anthocyan darin ausdrücken, dann werden diese kolorimetrischen Werte viel mehr Stabilität besitzen als die von mir berechneten.

Mit einer gewissen Periodicität der Permeabilität der anthocyanhaltigen Zellen wird man nicht nur allein rechnen müssen, sondern diese selbst als Ziel der Untersuchung hinstellen können, so wohl was die verschiedenen Wachstumsperioden der Pflanze anbetrifft, als auch was das einzelne Blatt angeht, und überdies was ihr Verlauf in 24 Stunden betrifft.

Wir lassen hier zwei Tabellen folgen, die Bezug haben auf Ergebnisse, die mit nmsn. aus Blättern erhalten wurden. Tabelle 1 von *Iresine Lindenii* und Tabelle 2 von *Beta vulgaris*. Die kolorimetrischen Werte sind in den beiden Fällen nach einer 10 % Anthocyanlösung aus denselben Objecten berechnet.

Tabelle 1 und Tabelle 2.

Temperatur 50 Gr. C. no. des Versuchs: 309. Material: Blätter v. Iresine.				Temperatur 50 Gr. C. no. des Versuchs: 310. Material: Blätter v. Iresine.			
L.	Zt. in Min.	col.	% Anth.	L.	Zt. in Min.	col.	% Anth.
1	5	410/100	41,—	1	5	243/291	11,78
2	5	294/390	7,53	2	5	225/484	4,64
3	5.	—	—	3	10	234/410	5,70
4	10	295/305	9,67	4	10	234/207	11,30
5	10	295/240	12,29	5	10	234/126	18,56
6	10	295/114	25,87	6	10	234/170	13,76
7	10	295/127	23,22	7	10	234/240	9,75
8	15	295/97	30,41	8	15	234/272	8,60
9	15	295/147	20,06	9	15	247/415	6,67

Die Maxima des Austretens sind fett gedruckt.

Bei der ersten Tabelle müssen die Lösungen 1 und 2 ausser Betrachtung bleiben, da sie höchst wärcheinlich auf abgespültes Anthocyan Bezug haben. Lösung 3 enthält keinen Farbstoff, wodurch also die Folgerungen aus den Lösungen 1 und 2 bestätigt werden, so das ferner daraus folgen muss, dass Lösung 4 nur ausgetretenes Anthocyan enthält. Dies bedeutet für die Konstruktion der Kurve, dass in den ersten 25 Minuten 9 % Anthocyan ausgetreten ist. Lösung 5 lässt ein kleines Steigen sehen, 6 dagegen ein Steigen von 50 %, während 7,8 und 9 ein fortwährendes Sinken erkennen lassen. Um das Fallen bei Lösung 8 fest zu stellen, muss die Zeit $1\frac{1}{2}$ Mal so lang sein.

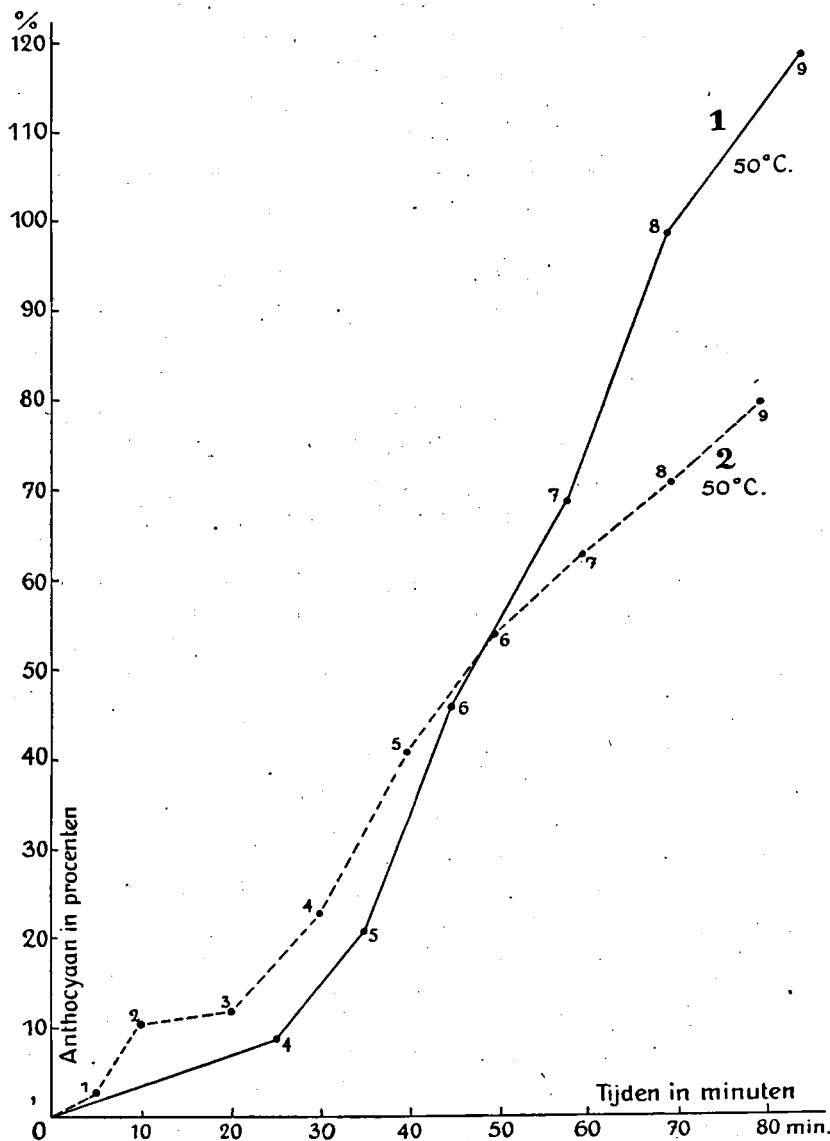
In der Tabelle 2 besteht die erste Lösung zum grössten Teil aus abgespültem Anthocyan, so dass ich hierfür, in Bezug auf die folgende Lösung, nur 3 pCt. ausgetretenes Anthocyan notierte. In Lösung 4 und 5 ist ein Steigen des Austretens wahr zu nehmen und in den übrigen meistens ein Fallen.

Wir lassen hier zwei Kurven folgen, die nach der Besprechung der zugehörigen Tabellen keines weiteren Kommentars mehr bedürfen. Nur will ich noch eben bemerken, dass vor der Kreuzung der Kurven das Blatt von *Iresine* resistenter zu sein scheint als das von *Beta*, was nach der Kreuzung gerade umgekehrt ist. (Kurve 1 und 2).

Diese und alle übrigen Kurven sind in folgender Weise konstruiert. Jedes Stück der Kurve stellt eine Anzahl Procente Anthocyan, welches in einer bestimmten Lösung kolorimetrisch festgestellt werden konnte, dar. Die Nummer der Lösung steht am Ende eines jeden Abschnittes angegeben. Der Gehalt der folgenden Lösung wird durch den sogleich darauf folgenden Abschnitt dargestellt.

Es wurden zwei Apparate gebraucht, die in technischer Hinsicht so vollkommen zuverlässig und exact arbeiteten, wie es bei derartigen Versuchen, soweit ich es habe feststellen können, noch nicht erreicht worden ist.

Kurve 1 und 2.



Während andere Untersucher, um die konstante Temperatur zu erhalten, ihre Zuflucht zum Beigießen von kaltem oder warmem Wasser nehmen mussten, war das bei diesen Apparaten nicht notwendig. Der Verdienst davon kommt dem Institutsmechaniker Herrn P. A. de Bouter zu, der die Apparate konstruierte und kontrollierte.

Im folgenden geben wir eine kurze Beschreibung der Apparate.

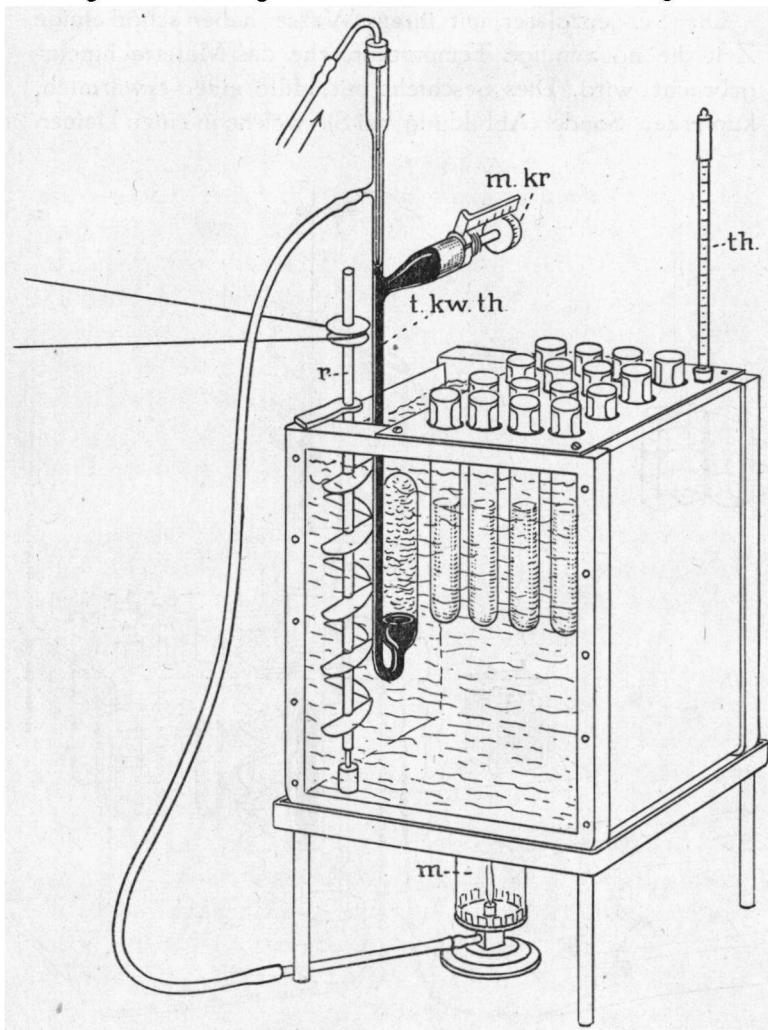
Thermoregulator mit Leuchtgaserwärmung.

Dieser Apparat besteht aus einem Behälter, der auf einem Rahmen von Gusseisen ruht, welcher mit vier Füßen versehen ist, und worunter ein Mikrobrenner steht (Abbildung 1: m). Das Gefäß ist 20 cm. lang 16 breit und 23 hoch, mit einem Inhalt von 7360 ccm. und besitzt kupferne Kanten mit Fugen für die Glasscheiben. Boden und zwei Seitenwände sind von Zink, Vorder- und Hinterwand von Glas.

Das Gefäß ist teilweise von einer kupfernen Platte bedeckt, worin sich 16 runde Öffnungen befinden, welche von federnden kupfernen Kragen umgeben werden, wodurch Reagenzgläser in das auf die erforderliche Temperatur gebrachte Wasser gesteckt werden können. In der Ecke links vorne befindet sich ein durch einen Motor in Betrieb gesetztes Rührwerk (Abbildung S. 127, r).

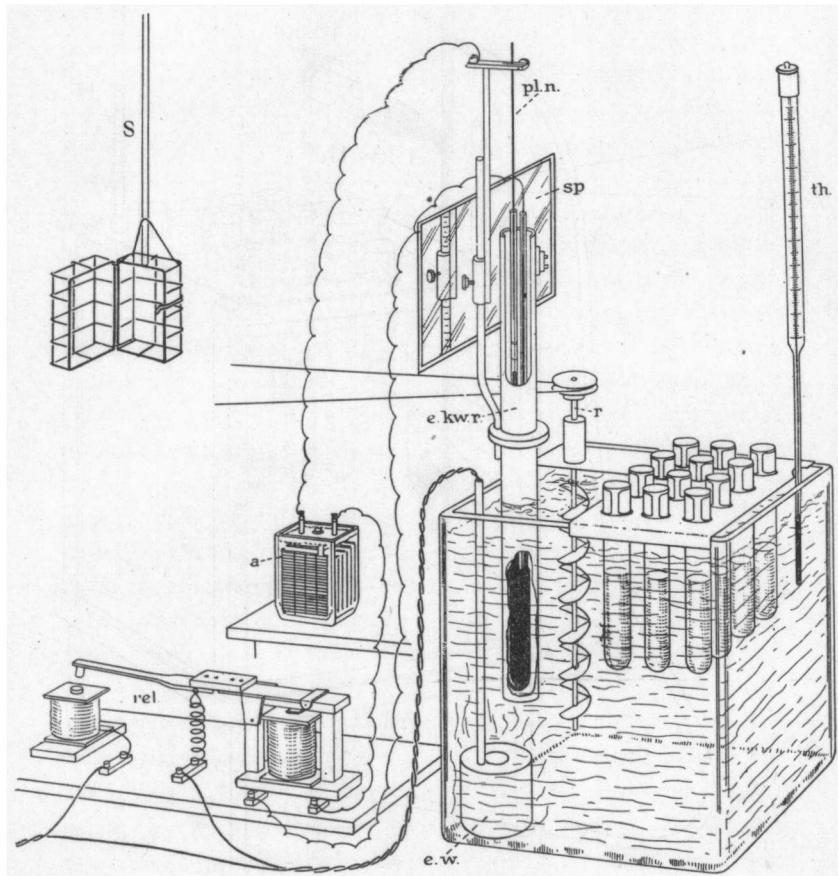
Jedes der 16 Reagenzgläser enthält 20 ccm. Wasserleitungswasser. Deren Gesamtmenge beträgt also 320 ccm. die durch 7360 ccm. Wasser, welches fortwährend durch das Rührwerk in Bewegung gehalten wird, erwärmt und auf Temperatur gehalten wird. Einmal richtig eingestellt, findet praktisch keine Temperaturschwankung von Bedeutung mehr statt, auch nicht, wenn die Objecte, die per Röhre ein Volumen von etwa 1 ccm. haben, in den Apparat gebracht werden. Weiter muss hier noch bemerkt werden, dass niemals mehr als 4 Gruppen von nmsn. (mit

einem Gesamtvolum von etwa 4 ccm) zu gleicher Zeit untersucht wurden, meistens waren es nicht mehr als 2. Eine Temperaturschwankung ist bei dieser Untersuchung erst von Bedeutung und von Einfluss auf die Zuverlässigkeit der Ergebnisse, wenn eine relativ lange Zeit



verläuft, ehe wieder Gleichgewicht entstanden ist; die Zeiten sind in der Tat so ungeheuer klein im Verhältniss zu den Entfärbungszeiten, dass sicher für Experimente von 50 Gr. C. und tiefer, ja sogar für die von 55 und 60. Gr. C. ihr eventueller Einfluss ganz vernachlässigt werden kann.

Die Reagenzgläser mit ihrem Wasser haben schon einige Zeit die notwendige Temperatur, ehe das Material hineingebracht wird. Dies geschieht mit Hilfe einer erwärmten, kupfernen Sonde (Abbildung bei S), welche in einen kleinen



kupfernen Käfig endet, der mit einem Abschluss versehen ist, und worin sich die Nmsn. befinden. Die Kupferdrahtmaschen sind möglichst gross genommen, sodass das Wasser die nmsn. sofort umspült und diese in dem Käfig zusammen bleiben. Das kleine, bequeme Instrument setzte mich in die Lage 20 nmsn. 10 Secunden, und wenn nötig, 5 Sec. einer bestimmte Temperatur aus zu setzen, um sie in einer noch viel kürzeren Zeit, zwei bis drei Sec., in eine andere Röhre, oder selbst in den anderen Apparat, von verschiedener Temperatur, über zu führen.

In dem Gefäss steht der bekannte Toluol-Quecksilber-Thermoregulator (Abbildung S. 127, t, kw, th.) welcher jedoch mit einer Neuerung versehen ist, einem Mikrohahn mit Skalaverteilung (Abbildung S. 127, m.kr.), eine Erfindung von De Bouter, welche von grossem practischem Vorteil ist. Die zugehörende Skala ermöglicht es, jeden Stand des Hahnes bei einer bestimmten Temperatur zu notieren. Diese Notizen kann man gebrauchen, wenn man den Apparat auf eine bestimmte Temperatur haben muss, sodass durch diese Einrichtung das zeitraubende Regulieren wegfällt.

In dem Wasser des Behälters steckt auf der selben Höhe wie die Röhrein Thermometer (Abbildung S. 127, th) auf welchem Zehntel Grad Celsius abgelesen werden können und dessen Maximalhöhe 62 gr. C. ist.

Das zweite Gefäss, welches dicht neben dem ersten steht, wird thermoelectrically reguliert. Hier folgt eine kurze Beschreibung davon. Ein Glasgefäß, das 8400 ccm Wasser von bestimmter Temperatur enthält, hat, in derselben Weise wie vorhin beschrieben, Raum für 12 Reagenzgläser. Das Rührwerk (Abbildung S. 128, r) ist dasselbe wie vorhin. Ein electricischer Erwärmungswiderstand (Abbildung e.w.) bringt das Wasser auf die erforderliche Temperatur. Der electriche Quecksilberregulator (Abbildung e. kw. r.) regelt die Temperatur mit Hilfe einer Platinneadel, deren Spitze im Bedarfsfalle den Strom schliesst oder öffnet. Das

Einstellen der Nadel (Abbildung pl. n.) auf eine bestimmte Temperatur geschieht an einer Skala mittels Spiegelablesung (Abbildung sp.). Vor der Regulation sind ein Relais (Abbildung rel. a.) und ein Accu von 4 Volt eingeschaltet. Das Thermometer (Abbildung th.) ist wie vorhin.

Eine Einzelheit ist noch von Bedeutung. Die Platin-nadel ist in einer dickwandigen engen Röhre angebracht, um das Quecksilber Niveau zu erreichen. Für exakte Arbeit ist es von Wichtigkeit, dass der Kontakt mit der Mitte des Quecksilbermeniscus gemacht wird, und hierzu dient ein dreieckiger stählerner Führer, der mit Silber an die Nadel gelötet ist.

Entfärbungszeiten.

Wenn wir uns auf das wichtigste Object beschränken, welches bei dieser Untersuchung gebraucht wurde, das Wurzelgewebe der roten Rübe, dann soll unter Entfärbungszeit diejenige Zeit verstanden werden, die nötig ist, um alles Anthocyan aus einer konstanten Anzahl nmsn. (10 oder 20) zu ziehen. In physiologischer Hinsicht ist es also der Zeitverlauf, während welchem eine bestimmte Temperatur, auf eine Anzahl nmsn. einwirken muss, um die Permeabilität des Protoplasmas, auch der resistentesten Zellen, derartig zu erhöhen, dass der rote Farbstoff, der in gelöstem Zustand in der Vakuole enthalten ist, austritt. Der Beginn der Entfärbung ist zweifellos von besonderer Bedeutung, aber man kan doch bemerken, wenn man den Gang der Entfärbung nachgeht, dass die grösste Menge Anthocyan erst später austritt. Man bemerkt ein Steigen und Fallen im Diffusionsprozess und darum ist es von Wichtigkeit, die Entfärbungszeiten annährend fest zu stellen; denn die können dann den Ausgangspunkt für eine Untersuchung nach dem Verlauf des Austrittsprocesses bei verschiedenen Temperaturen bilden. Ich habe mich deshalb

bemüht auf einer Temperaturstrecke von 20—60 Gr. C. mit Intervallen von 5 Gr. C. die Entfärbungszeiten zu bestimmen.

Die einfache Tatsache, dass die notwendigen Entfärbungszeiten in dem Masse zunehmen als man von 60 Gr. C. nach 20 Gr. C. hinuntergeht, beweist dass die Entfärbungszeit in grossem Masse von der Temperatur abhängig ist. Bei der Anwendung der höheren Temperaturen, wo die Entfärbungszeit nur einige Minuten beträgt, fiel mir auf, dass die Vorbehandlung des Materials auf die Zeit von Einfluss ist. Sowohl das Abspülen der nmsn. als dass kürzere oder längere Zeit darauf Verbleiben im Wasser verlängert bis zu einer bestimmten Grenze die Entfärbungszeit, um bei einer Überschreitung der Grenze wieder Ursache zu einem Kleiner werden zu sein. Da jedoch bei allen Experimenten das Material in Wasser dem Einfluss einer bestimmten Temperatur ausgesetzt wurde, war natürlich von einem Eliminieren der Einwirkung des Wassers keine Rede, aber es war wohl möglich diesen Einfluss bei der Vorbehandlung vollkommen aus zu schalten. So gebrauchte ich denn unabgespülte nmsn. die sofort nachdem sie geschnitten worden waren für das Experiment angewandt wurden. Jedoch habe ich nur allein für die Temperatur von 60 Gr. C. den Einfluss des Wassers durch die Vorbehandlung untersucht.

Sobald das Experiment abgelaufen ist, werden die nmsn. auf Löschpapier ausgebreitet und getrocknet und dann mit Praedicaten versehen, je nachdem die Entfärbung stark oder minder stark statt gefunden hatte. Zu diesem Zwecke unterschied ich ausser farblosen nmsn, solche mit sehr kleinen Anthocyanresten, mit kleinen, grossen und sehr grossen Resten.

Um den Einfluss der Vorbehandlung mit Wasser einigermassen zu erläuteren, gebe ich hier einige Daten:

No. d. Versuchs No. d. Materials	Stunden in Wasser	Min. bei 60 Gr.	Zustand Nmns.				
			tbl.	s. kl. R.	kl. R.	gr. R.	s. gr. R.
14 ; 2	14	12	1	—	—	9	
15 ; 2	14½	15	7	—	3		
16 ; 2	17	16	7	3			
17 ; 2	17½	15	1	4	5		
18 ; 2	17½	15	2	—	8		
19 ; 2	18½	17	8	2			
28 ; 3	1½	5	4	—	6		
30 ; 3	1½	6	8	—	2		
34 ; 3	26	6	—	—	4	—	6
35 ; 3	26	12	2	—	8		
36 ; 3	26½	14	5	—	5		

Wenn man bei der Betrachtung dieser Zahlen bedenkt, dass die Entfärbungszeiten sich für frisch geschnittenes Material auf 6 Minuten belaufen, dann sieht man daraus, dass man die Entfärbungszeiten verlängeren kann, wenn man die nmsn. mit Wasser behandelt, an Stelle sie sofort frisch zu gebrauchen. Das Material stammt von zwei verschiedenen Rüben, aber aus derselben Etage. Ich habe bei 55 Gr. C. zwei Versuche gemacht und eine vergleichende Entfärbung erhalten, die dasselbe bequemer als obenstehende Tabelle erkennen lässt. Zwei Gruppen von nmsn., die in jeder Hinsicht volkommen aequivalent waren, wurden 20 Min. lange in Wasser von 55 Gr. C. gehalten. Die eine Gruppe war frisch geschnitten und *nicht abgespült* und die zweite Gruppe ebenfalls frisch geschnitten aber *wohl abgespült*. Das Ergebnis war, das die nmsn. der ersten Gruppe *alle farblos* waren und die der zweiten *alle bedeutende Anthocyanreste* enthielten.

Ein zweites noch stärkeres Erforderniss für die Bestimmung vergleichender Entfärbungszeiten ist dass Konstantsein der Oberfläche und der Dicke der nmsn. Oberfläche und Dicke sind von Einfluss auf die Zeiten, aber derjenige des letzten Faktors ist grösser als derjenige von Erstgenannten. Man kann dies mit drei Versuchen zeigen, indem man die Entfärbungszeit von 20 nmsn. bestimmt, von 20 halben nmsn. und danach von 20, die $1\frac{1}{2}$ Mal die gebräuchliche Dicke von 0,22 mm. haben. Ich werde diese Versuche in dem Abschnitt, der über vergleichende Entfärbungen handelt, ausführlich besprechen und hier nur das Resultat anführen. Man findet dann bei 60 Gr. C. Entfärbungszeiten, die sich verhalten wie 73 : 49 : 181, während die Zahlen, wenn die Entfarbungszeiten proportional der Oberfläche und Dicke der nmsn. sind; 72 : $37\frac{1}{2}$: $110\frac{1}{2}$ sein müssten. Beim Schneiden kommt es oft vor, dass ein Rand der Nmsn. etwas dicker wird als der andere und dann wird dort ein Farbstoffrest bleiben, nachdem dieses Object während einer bestimmten Entfärbungszeit einer bestimmten Temperatur ausgesetzt gewesen ist.

Nach diesen allgemeinen Betrachtungen über *Entfärbungszeit* gehen wir über zur Besprechung der beobachteten Zeiten für verschiedene Temperaturen.

Die Entfärbungszeit von 10 oder 20 nmsn. ist bei 60 Gr. C. ungefähr 6 Min., was aus der folgende Tabelle zu ersehen ist.

Tabelle 3.

Entfärbungszeiten bei 60 Gr. C.

No. d. Versuche No. d. Materials	Etage	Zeit in Min.	Zustand Nmns.				
			fbl.	s. kl. R.	kl. R.	gr. R.	s. gr. R.
50 ; 3	1	5	—	—	10		
51 ; 3	1	6	8	—	2		
66 ; 4	1	6	5	—	5		
348 ; 73	1	$5\frac{25}{60}$	8	—	12		
349 ; 73	1	$5\frac{25}{60}$	20				
350 ; 73	4	$5\frac{25}{60}$	20				
351 ; 74	1	$6\frac{5}{60}$	16	—	4		
275 ; 39	3	$2\frac{1}{3}$	20				

Aus diesen Ziffern ist ersichtlich, dass es Entfärbungen gibt, die in 6 Minuten ablaufen, was in dem Umstand seine Ursache finden kann, dass die Schnittmethode keine volkommene Garantie bietet für die gleichmässige Dicke der nmsn. Es gibt jedoch Abweichungen von dieser Entfärbungszeit, die viel grösser sind, und die ihre Ursache nicht in einer eventuellen ungleichmässigen Dicke der nmsn. finden können. So fand ich einige Male Entfärbung nach $2\frac{1}{3}$ Minuten (Versuch 275) und solche schnelle Entfärbungen können auf eine individuelle Empfindlichkeit eines bestimmten Objects für die Temperaturserhöhung zurückgeführt werden. Diese Vermutung erhält eine gewisse Wahrscheinlichkeit, wenn man das Verhalten dieses Objectes bei 55 Gr. C. betrachtet und wenn sich dann ergibt, dass auch dort die Entfärbungszeit weit unter derjenigen verschiedener anderer Objecte sinkt.

Die Entfärbungszeit bei 55 Gr. C. kann annährend aus Tabelle 4 festgestellt werden.

Tabelle 4.

Entfärbungszeiten bei 55 Gr. C.

No. d. Versuchs No. d. Materials	Etage	Zeit in Min.	Zustand Nmns.				
			tbl.	s. kl. R.	kl. R.	gr. R.	s. gr. R.
68 ; 4	1	14	3	—	—	7	
69 ; 4	1	20	6	—	4		
70 ; 4	1	20	7	3			
71 ; 4	1	20	10				
83 ; 5	1	20	4	3	—	3	
266 ; 35	2	8	8	—	2		
267 ; 38	1	11	8	—	12		
267' ; 38	1	11	14	—	4	2	
270 ; 39	1	6	15	—	5		
271 ; 39	2	6	15	—	5		
273 ; 39	4	6	20				
274 ; 39	5	6	17	—	3		
348 ; 73	1	6	2	—	6	12	
349 ; 73	1	6	6	14			
350 ; 73	4	6	10	—	6	4	
352 ; 75	1	10½	12	—	—	8	

In dieser Tabelle findet man Ergebnisse von Versuchen, wobei die Entfärbungszeit bedeutend grösser ist als 10 Min. Man beachte z.B. die Nummern: 68, 69, 70, 71 und 83. Andere Versuche gaben als Entfärbungszeit weniger als 10 Min. z. B. 273 en 274. Während ich bei 60 Gr. C. speziell hinwies auf Versuch no 275, so tue ich das hier noch eben auf die Nummern 273 und 274. Diese stammen von demselben Exemplar wie 275 (Material 39). Die grössere individuelle Empfindlichkeit dieser Wurzel ergibt sich sowohl bei 60 Gr. als auch bei 55 Gr. C. Auch die Nummern 68—71 mit ihren für diese Temperatur so relativ

hohen Entfärbungszeiten sind von einem und demselben Objecte. Ausser individuellen Unterschiede der verschiedenen Objecte und der verschiedenen Gruppen von nmsn. kann hier ein tiefergehender Unterschied zur Ausserung gekommen sein. Die ersten Nummern wurden um den 25sten Januar bearbeitet, die Nummern 273 und 274 sind vom Anfang März, und in diesem Zeitlauf kann eine natürliche Herabsetzung der Resistenz stattgefunden haben, die in Verbindung steht mit dem Erwachen aus der Winterruhe beim Beginn der zweiten Wachstumsperiode.

Nach diesen verschiedenen Betrachtungen meine ich die Entfärbungszeit bei 55 Gr. C. auf ungefähr 10 Min. feststellen zu dürfen.

Die Entfärbungszeit bei 50 Gr. C. beträgt etwa 90 Min. Tabelle 5 gibt verschiedene Versuche, die in diese Richtung weisen. Den Durchschnitt aus diesen Entfärbungszeiten zu berechnen, ist zwecklos, denn erstens müssten dann viel mehr Versuche gemacht werden, zweitens müsste das gebrauchte Material einheitlicher sein, und drittens müsste man Rechnung halten mit den Monaten, in welchen dergleiche Versuche angestellt werden, und die Ergebnisse von November bis Mai vollkommen auseinander halten.

Tabelle 5.

Entfärbungszeiten bei 50 Gr. C.

No. d. Versuchs No. d. Materials	Etage	Zeit in Min.	Zustand nmsn.				
			fbl.	s. kl. R.	kl. R.	gr. R.	s. gr. R.
117 ; 6	1	80	3	—	17		
118 ; 6	1	80	5	—	15		
109 ; 7	1	70	6	—	8		
99 ; 7	1	80	18	—	2		
150 ; 10	1	75	6	—	14		
152 ; 10	4	75	13	—	7		
153 ; 10	4	75	11	—	9		

No. d. Versuchs No. d. Materials	Etage	Zeit in Min.	Zustand nmsn.				
			tbl.	s. kl. R.	kl. R.	gr. R.	s. gr. R.
157 ; 11	4	70	16	—	4		
154 ; 11	1	70	13	—	7		
205 ; 12	1	70	12	—	8		
207 ; 16	1	70	2	7	4	7	
208 ; 17	1	70	13	5	2		
215 ; 19	1	50	2	1	11	6	
284 ; 45	1	114	7	5	8		
284' ; 45	1	105	—	—	7	13	
285 ; 45	1	86	—	—	6	14	
289 ; 46	1	41	—	—	—	20	
294 ; 46	2	56	1	—	6	13	
295 ; 46	1	56	—	—	—	4	16
297 ; 47	2	86 $\frac{1}{2}$	—	—	20		
299 ; 48	1	86 $\frac{1}{2}$	4	3	—	6	7
300 ; 48	2	86 $\frac{1}{2}$	—	—	13		
301 ; 48	3	86 $\frac{1}{2}$	2	9	9		
302 ; 48	4	86 $\frac{1}{2}$	9	—	11		
302' ; 48	4	86 $\frac{1}{2}$	7	—	13		
304 ; 50	4	52	20				

Aus dieser Tabelle kann man wieder, wie in der vorhergehenden, die individuellen Unterschiede der gebrauchten Objecte erkennen, trotzdem weisen alle Nummern daraufhin, dass die Entfärbungszeit von 20 nmsn auf ungefähr 90 Min. festgestellt werden kann.

Betrachtet man die Entfärbungszeiten dieser Tabelle, so erreicht kein Versuch mit Ausnahme von 2 den Wert von 90 Min, wenn trotzdem diese Zeit als Entfärbungszeit angenommen wird, so liegt das daran, dass die nmsn. jedesmal noch mehr oder weniger Farbstoff enthielten.

Aus Nummer 284, 284' und 285 gegenüber 299 und 300 ist deutlich ersichtlich, dass die Rübe no 45 resistenter war als no 48. Beachtet man die Nummern 299-302', die alle van no. 48 stammen, dann wird man dabei in den

verschiedenen Etagen der Rübe, und zwar von oben nach unten (Etage 1-4) eine abnehmende Resistenz sehen.

Versuch 204 bedarf einer näheren Erklärung. Die Entfärbungszeit weicht von der mittleren Zeit stark ab, und da alle 20 nmsn. farblos sind, müsste die Einrichtung der Tabelle eigentlich Raum lassen für die Auffassung, dass die totale Entfärbung noch innerhalb 52 Minuten stattfindet. Ich habe den Verlauf dieser Entfärbung kolorimetrisch kontrolliert und sehen können, dass in dem Wassermuster, welches am Ende der 52 Min. abgegossen worden war, noch 4,51 % Anthocyan vorhanden war, wodurch also die Dauer der Entfärbung sicherer festgestellt wird. Ein besonderer Umstand gibt m.E. eine Erklärung dieser stark abweichenden Entfärbungszeit. Die bei diesem Versuch gebrauchten 20 nmsn. stammten von einer Rübe, die während des ganzen Winters mit Blättern des ersten Jahres versehen, in einem Brutkasten gestanden hatte. Der Unterschied mit dem Material, welches aus eingegrabenen Exemplaren herrührte, wird also hier sehr wahrscheinlich durch die grössere Empfindlichkeit des Wurzelgewebes für Temperaturerhöhung bei 50 Gr. C. verursacht, weil dieses Object durch seine abweichende Behandlung verhindert wurde, in Winterruhe zu gehen.

Eine allgemeine Bemerkung über die drei bis jetzt besprochenen Entfärbungszeiten findet am besten hier statt.

Beim Vergleich der Entfärbungszeiten von 60 Gr. C., 55 Gr. C. und 50 Gr. C. fällt es trotz der gleichen Temperaturintervalle auf, dass die Entfärbung bei 50 Gr. C. so verschieden ist von derjenigen bei 55 und 60 Gr. C., die doch beide so wenig Verschiedenheit zeigen. Der grosse Unterschied liegt, meiner Meinung nach, in der verschiedenen Wirkung der *supramaximalen und inframaximalen* Temperaturen. Wird theoretisch jede Temperatur, die mit dieser Methode auf dieses Gewebe angewandt wird, nach kürzerer oder längerer Zeit im stande sein die Permea-

bilität bis zu einem gewissen Punkt zu erhöhen, wobei der gelöste Farbstoff austritt, dann ergibt sich doch aus diesen drei Entfärbungszeiten, dass die Grenze zwischen supra- und inframaximalen Temperaturen für diese Objecte unter diesen Umständen zwischen 50 gr. C. und 60 Gr. C. liegt.

Die Entfärbungszeit bei 45 Gr. C. ist ungefähr 360 Min., eine Zeit, die bei der Betrachtung der Tabelle 6 wohl eher zu hoch als zu niedrig sein wird.

Tabelle 6.

Entfärbungszeiten bei 45 Gr. C.

No. d. Versuchs No. d. Materials.	Etage	Zeit in Min.	Zustand Nmsn.				
			fbl.	s. kl. R.	kl. R.	gr. R.	s. gr. R.
185 ; 10	1	240	—	—	—	—	20
186 ; 11	1	240	5	15	—	—	—
187 ; 12	1	240	8	—	2	—	10
193 ; 12	4	240	—	8	7	—	5
197 ; 12	3	240	—	—	3	12	5
201 ; 12	2	300	—	—	9	—	11
168 ; 13	5'	160	1	—	8	11	
169 ; 13	5"	160	14	—	6		
170 ; 13	5'''	160	15	5			
171 ; 13	5""	160	14	6			
184 ; 14	1	200	—	9	2	9	
188 ; 14	1	240	4	—	3	5	
189 ; 16	1	180	—	—	—	20	
190 ; 16	2	180	—	—	2	18	
191 ; 16	3	180	2	—	18		
192 ; 16	4	180	1	—	18	1	
315 ; 53	1	218	—	—	—	—	20
315' ; 53	1	225	—	—	—	—	20
204 ; 18	2	300	7	4	9	—	
200 ; 18	3	240	1	4	10	5	
196 ; 18	4	240	11	9			
203 ; 17	2	300	1	14	5		

Die Nummern 185, 187, 197, 200, 201, 203, 204, 315, 315', sprechen mehr oder minder deutlich für eine Entfärbungszeit, die höher als 300 Min. liegt.

Die Nummern 168—171 nahm ich in diese Tabelle auf, weil sie eine höhere Empfindlichkeit für Temperatur, die man in einer fünften Etage der Rübe unterscheiden kann, illustrieren. Es ist die äusserste Spitze, die wieder in fünf Stücke verteilt werden kann. Die Resistenz gegen den angewandten Wärmegrad nimmt nach unten ab, was die Ergebnisse von 5', 5", 5''' und 5'''' erkennen lassen. Der Unterschied zwischen 5''' und 5'''' ist zu klein um hieraus einen Schluss auf den weiteren Verlauf der Resistenz zu ziehen.

Auch in den Nummern 204, 200 und 196 ist dieselbe Erscheinung für höhere Etagen der Rübe wahr zu nehmen.

Bei 40 Gr. C. werden ungefähr 600 Min. nötig sein, um 20 nmsn. vollkommen zu entfärbten. Nachstehende Tabelle gibt einzelne Ergebnisse an, die sich auf diese Temperatur beziehen.

Tabelle 7.

Entfärbungszeiten bei 40 Gr. C.

No. d. Versuchs No. d. Materials	Etage	Zeit in Min.	Zustand Nmsn.				
			tbl.	s. kl. R.	kl. R.	gr. R.	s. gr. R.
222 ; 19	1	580	18	—	2		
223 ; 19	2	580	9	—	11		
220 ; 22	1	580	20				
221 ; 22	2	580	10	10			
240 ; 28	1	420	5	—	2	8	5
241 ; 28	2	420	—	—	—	20	
242 ; 30	1	420	8	—	3	—	9
243 ; 30	2	420	10	—	2	2	6
317 ; 54	1	315	—	—	—	—	20
318' ; 55	1	320	—	—	—	—	20

Die Numern 220 und 221 weisen auf eine Entfärbung bei ungefähr 600 Min. hin. Rübe no 22, die zu diesem Versuch gebraucht wurde, enthielt Anthocyan von einer lilaroten Nuancierung. Viele andere Objecte, die ich gebrauchte, hatten eine mehr gelbrote Farbe. Der Farbenunterschied ist in den Lösungen sehr deutlich wahr zu nehmen. Dieser wird verursacht durch die Verschiedenheit der Acidität der Zellflüssigkeit 30) 31). Im allgemeinen konnte ich bemerken, dass lilarotes Anthocyan schneller austritt als gelbrotes.

Bei 35 Gr. C. ist die Entfärbungszeit sehr schwierig an zu geben, weil die verschiedenen Objecte so stark aus einander laufen, wie aus Tabelle 8 ersichtlich ist.

Tabelle 8.

Entfärbungszeiten bei 35 Gr. C.

No. d. Versuchs No. d. Materials	Etage	Zeit in Min.	Zustand Nmsn.				
			fbl.	s. kl. R.	kl. R.	gr. R.	s. gr. R.
228 : 26	1	810	20				
229 : 26	2	810	20				
230 : 26	3	810	20				
231 : 26	4	810	20				
236 : 28	1	735	20				
237 : 28	2	735	20				
238 : 28	3	735	20				
239 : 28	4	735	20				
319 : 55	2	1080	—	—	—	—	20
320 : 56	1	1215	—	—	—	10	10
322 : 57	1	1540	5	5	10		
324 : 58	1	1540	—	—	—	14	6
328 : 60	1	1470	10	—	10		
330 : 61	1	1350	20	—			
342 : 70	1	3210	15	—	15		
342' : 70	4	3210	—	9	9	2	
344 : 71	1	2580	3	—	4	13	
344' : 71	4	2580	20				

Aus den Nummern 228—231 die alle von derselben Wurzel stammen, könnte man ableiten, dass die Entfärbungszeit 810 Min. sei, aber es ist ebensogut möglich, dass die totale Entfärbung schon eher eingetreten ist und das ist selbst wahrscheinlich, wenn man bedenkt, dass kein Unterschied besteht zwischen den Ergebnissen des Materials, das aus verschiedene Etagen genommen ist.

Dieselbe Bemerkung gilt für die Nummern 236—239; da wird die tatsächliche Entfärbungszeit also wahrscheinlich kleiner als 735 Min. gewesen sein. Da ich bei diesen Versuchen noch kein Kolorimeter zur Verfügung hatte, so ist hier der Verlauf der Entfärbung nicht untersucht und es kann also hier nicht angegeben werden, wieviel die Zeiten unter 730 Min. bleiben.

Obwohl die Nummern 319, 320 und 322 von verschiedenen Rüben resp. 55, 56 und 57 sind, so können sie doch mit einander verglichen werden, und man kann die Entfärbungszeit für alle drei auf mehr als 1540 Min. festsetzen. Aus den Nummern 342 und 342' ergibt sich, dass die Entfärbungszeit für Rübe no. 70 mehr als 3210 Min. beträgt. Die Nummern 344 und 344' zeigen deutlich eine zunehmende Resistenz von 4 nach 1.

Die Entfärbungszeit bei 30 Gr. C. zeigt Tabelle 9; sie ist ebenso fluctuabel wie bei 35 Gr. C.

Tabelle 9.

Entfärbungszeiten bei 30 Gr. C.

No. d. Versuchs No. d. Materials	Etage	Zeit in Min.	Zustand Nmns.				
			tbl.	s. kl. R.	kl. R.	gr. R.	s. gr. R.
224 ; 25	1	1110	1	—	6		13
225 ; 25	2	1110	14	1	5		
226 ; 25	3	1110	10	7	—	3	
227 ; 25	4	1110	16	4			

No. d. Versuchs No. d. Materials	Etage	Zeit in Min.	Zustand Nmns.				
			tbl.	s. kl. R.	kl. R.	gr. R.	s. gr. R.
321 ; 56	1	1095	—	—	—	—	20
323 ; 57	1	1540	—	—	—	—	20
325 ; 58	1	1540	—	—	—	—	20
327 ; 59	1	1320	—	—	—	—	20
329 ; 60	1	1470	—	—	—	12	8
331 ; 61	1	1350	—	—	—	7	13
331' ; 61	1	2170	12	—	8		
343 ; 70	1	3110	—	—	10	5	5
343' ; 70	4	3110	20				
345 ; 71	1	2560	—	—	—	3	17
345' ; 71	4	2560	—	—	—	7	13

Die Nummern 224–227 der Rübe no 25 weisen auf eine verhältnismässig niedrige Entfärbungszeit, die für die erste Etage auf 1500 Min. zu schätzen ist. Die Resistenz-Unterschiede von 1 und 4 kommen deutlich zum Vorschein, die zwischen 2 und 3 sind aber umgekehrt, wie man bei einer allmählichen Abnahme der Resistenz nach unten erwarten würde.

Alle übrigen Nummern aus dieser Reihe, insofern sie Bezug haben auf die höchste Etage der Objecte und von 8 verschiedenen Rüben herrühren, sind vergleichbar und weisen auf eine Entfärbungszeit weit über 1540 Min. und wahrscheinlich selbst noch höher als 3110 Min. Nummer 343' zeigt wieder deutlich die höhere Empfindlichkeit der 4ten Etage und bestätigt den Schluss, dass für Rübe no 70 die erste Etage einige Stunden länger als 3110 Min. für die totale Entfärbung nötig haben wird.

Die Entfärbungszeit bei 25 Gr. C. muss für die erste Etage auf mehr als 4000 Min. festgestellt werden, wie aus Tabelle 10 ersichtlich.

Tabelle 10.

Entfärbungszeiten bei 25 Gr. C.

No. d. Versuchs No. d. Materials	Etage	Zeit in Min.	Zustand Nmsn.				
			tbl.	s. kl. R.	kl. R.	gr. R.	s. gr. R.
334 ; 63	1	3965	3	—	—	9	8
334' ; 63	2	3965	16	—	4		
334'' ; 63	3	3965	—	—	—	—	20
334''' ; 63	4	3965	20				
335 ; 64	1	2730	1	—	17	2	
335' ; 64	2	2730	15	5			
335'' ; 64	3	2730	—	—	—	20	
335''' ; 64	4	2730	20				
336 ; 65	1	2820	—	—	8	5	7
336' ; 65	2	2820	—	—	10	10	
336'' ; 65	3	2820	—	—	—	8	12
336''' ; 65	4	2820	—	—	18	2	

Drei verschiedene Rüben no 63, 64, und 65 lieferten hierzu das Material. Sonderbar ist die auffallende erhöhte Resistenz der dritten Etage, die selbst grösser ist als bei der ersten und zweiten. Auch hier bemerkt man wieder, dass die 4te Etage den geringsten Widerstand bietet und, verglichen mit den anderen Teilen, in derselben Zeit einen grösseren Farbstoffaustritt zeigt.

Aus den Zahlen der Rübe 64 ergibt sich, dass die Entfärbungszeit für die erste Etage niedriger ist als 4000 Min. und wahrscheinlich etwa 3000 Min. beträgt. Rübe 65 wird jedoch, was die Resistenz betrifft, mit 63 übereinstimmen.

Entfärbungszeiten bei 20 Gr. C. zu bestimmen werden eine ganz besondere Techniek erfordern. Das Material muss zu lange im Apparat bleiben, sodass Infectionen durch Bacteriën und Actinomyceten oft vorkommen, was

an der Form der Entfärbung manchmal zu sehen ist. Es treten dann sehr scharf abgegrenzte, entfärbte Flecke auf, die man bei Entfärbung mittels Temperatureinflüsse niemals wahrnimmt.

Zwar habe ich einige Tatsachen bezüglich der Temperatur gesammelt, aber eine zuverlässige totale Entfärbung habe ich nie erhalten. In einem bestimmten Falle war nach ungefähr 6000 Min. eine verhältnismässig kleine Menge Anthocyan ausgetreten. In einem Abschnitt über vergleichende Entfärbungen wird sich die Gelegenheit bieten auf diese Temperaturen und die damit erhaltenen Ergebnisse zurück zu kommen.

Der Verlauf der Entfärbungen.

Um den Verlauf einer Entfärbung fest zu stellen und um darüber Zahlen zu erhalten, die zum konstruieren von Kurven dienen können, habe ich erst eine Methode ausgearbeitet, die ich zwar später aufgegeben habe, weil der Gebrauch eines Kolorimeters den Vorzug verdient. Wenn man nun nicht über ein solches Instrument verfügt, so kann diese Methode von grossem Dienste sein.

Diese Methode beruht auf einer von mir verfertigten Farbenskala von Anthocyanlösungen. Diese wurden verglichen mit den Lösungen, die sich bei den Versuchen ergeben und so wurden die Zahlen erhalten.

In 10 oder 20 ccm Leitungswasser von 55 Gr. C. werden 10 oder 20 nmsn. vollkommen entfärbt. Das ganz farblose Gewebe wird entfernt und die erhaltene Lösung ist die Normallösung und erhält in der Skala die No 100. In den folgenden 10 oder 20 ccm Leitungswasser von 55 Gr. C. werden 9 oder 18 nmsn. vollständig entfärbt. Diese Normallösung erhält in der Skala die No. 90. In derselben Weise werden die Nummern 80—70—60—50—40 u.s.w. erhalten.

Das Vergleichen der verschiedenen Farbennuancierungen geschieht in folgender Weise. Man setzt die erhaltenen

Lösungen neben den verschiedenen Nummern der Skala über einer weissen Unterlage und sieht senkrecht in die Öffnung der Reagenzgläser. So vergleichend schliesst man das Versuchsobject zwischen zwei Nummern der Skala ein, es sei denn, dass es mit einer der Nummern grade in Farbe übereinkommt. So erhält man brauchbare Zahlenwerte.

Bei meinen Versuchen habe ich das Kolorimeter von Jules Dubosq gebraucht, und die erste Frage die zu beantworten war, lautete: Mit welcher Standardlösung müssen die verschiedenen Anthocyanlösungen verglichen werden?

Zunächst machte ich Gebrauch von einer Lösung, die gemacht wurde, während das zu untersuchende Object einer bestimmten Temperatur ausgesetzt wurde.

Das Material von Standardlösung und Versuch war soviel wie möglich gleichwertig: von derselben Rübe, aus derselben Etage, von demselben Parallelepipedon, gleichzeitig für Versuch und Standardlösung hergestellte nmsn, dieselbe Anzahl nmsn, zu gleicher Zeit in den Apparat gebracht und wieder herausgenommen.

Da ich zunächst nicht abspülte, enthielt das erste Farbmuster, das von dem Versuchsobject abgegossen wurde, abgespültes Anthocyan. Es war nun schwierig fest zu stellen, ob dieses Muster auch ausgetretenes Anthocyan enthielt und auch bei dem zweiten Muster konnte sich noch abgespültes Anthocyan befinden. Die Standardlösung enthielt alles Anthocyan sowohl abgespültes als ausgetretenes. In dieser Art und Weise untersuchte ich zahlreiche Entfärbungen. Später habe ich die Herstellung von Standardlösungen unterlassen und zwar aus folgendem Grunde, weil bei dieser Methode doch immer zwei Gruppen von 20 nmsn. gebraucht werden müssen. Ich ging jetzt anders vor und brachte beim Beginn eines Versuches die zu untersuchenden nmsn. mit der Sonde in den Apparat, wo sie eine Weile schnell auf und nieder bewegt wurden. Dieses

erste Muster, das sofort abgegossen wurde, wurde nun als Standardlösung gebraucht und alle auf diesen Versuch sich beziehenden Lösungen wurden nun mit einer Lösung von *denselben* nmsn. verglichen. Im ersten Augenblick scheint diese Methode eine weniger feste Basis für die kolorimetrische Bestimmung zu geben. Wenn man jedoch das abgespülte Anthocyan von *verschiedenen Gruppen von nmsn.* in besondere Lösungen von derselben Anzahl ccm Wasser bringt, danach die Lösungen kolorimetrisch mit einander vergleicht, und die gefundenen Werte in % umrechnet, dann ergeben die Unterschiede, die man findet, nicht mehr als 5 %, was auf die Feststellung der Zahlen, die den Verlauf der Entfärbung angeben, keinen wesentlichen Einfluss ausübt.

Wir werden nun einige Entfärbungen bei verschiedener Temperatur untersuchen und besprechen.

Zunächst eine Entfärbung bei 60 Gr. C., ohne Gebrauch einer besonderen Standardlösung, sondern wo die kolorimetrischen Werte erhalten wurden, indem man die abgegossenen Muster mit dem in den ersten 5 Secunden abgespülten Anthocyan vergleicht.

Tabelle 11.

Temperatur: 60 Gr. C.

No. d. Versuchs: 348.

No. d. Materials: 73—1.

No. d. L.	Zeit in Sec.	col. W.	% Anth.
1	5	—	—
2	10	50/340	14.70
3	10	30/410	7.31
4	10	35/330	10.60
5	10	35/360	9.72
6	10	30/310	9.67

No. d. L.	Zeit in Sec.	col. W.	% Anth.
7	10	49/300	16.33
8	10	36/300	12.—
9	10	40/347	11.52
10	20	50/233	21.45
11	40	50/223	22.42
12	60	38/250	10.85
13	120	50/290	17.24

12 sehr kleine Anthocyanreste und 8 farblos.

Man sieht in dieser Tabelle bei der ersten Lösung keinen kolorimetrischen Wert eingetragen, weil dies eine Lösung von *abgespültem* Anthocyan ist, womit alle übrigen Lösungen (von 2—13) von *ausgetretenem* Anthocyan verglichen sind. Vergleicht man die % der Lösungen 2,3 und 4, dann kann man daraus ableiten, dass No. 1 nicht das gesammte abgespülte Anthocyan enthält, sondern dass auch ein Teil davon in das zweite Muster gekommen ist und zwar in Verbindung mit dem Umstand, dass der Austrittsprozess langsam beginnt und nach und nach an Schnellheit zunimmt. Mit Bezug darauf, dass im dritten Muster sich 7.31 % befinden, kann man annehmen, dass im zweiten Muster sich etwa 6 % ausgetretenes Anthocyan befinden und 8.7 % abgespültes. Bei der Konstruktion einer Kurve muss also darauf geachtet werden, dass in den ersten 15 Sec. etwa 6 % Anthocyan ausgetreten ist und weiter wird es sehr *wahrscheinlich* sein, dass in den ersten 5 Sec. überhaupt kein Anthocyan austritt.

Nach 35 Sec. findet man eine Steigung im Austrittsprozess, daraufhin wieder zwei Perioden, von je 10 Sec., wo der Prozess stationair ist. In Lösung 7; 65 Sec. nach Beginn des Versuchs sehen wir eine letzte bedeutende Steigung, danach Fallen und Stabilität in 4 Perioden von je 10 Sec., wenn man die Lösung 10 als aus zwei Intervallen

von je 10 Sec. bestehend betrachtet. Dann folgt ein starkes Fallen (50 % der vorhergehenden Periode) 145 Sec. nach Beginn, was sich aus Lösung 11 ergibt. In Lösung 12 schreitet das Fallen fort, sodass der Anthocyangehalt noch keine 35 % der vorhergehenden Lösung beträgt. In der letzten Lösung ist ebenfalls ein Fallen fest zu stellen. Dass der Verlauf dieser Entfärbung ein richtiges Bild des Austretungsprozesses gibt, beweist der Umstand, dass noch 12 sehr kleine Reste zurück geblieben sind. Wenn alles farblos geworden, ist die Zeit zur Herstellung der letzten Lösung kein richtiger Maßstab mehr. In Tabelle 12 sind die Daten einer anderen Entfärbung aufgenommen, wobei man, wenn man die Nummern 3 und 4 beachtet, denselben Verlauf mit demselben fortgesetzten Fallen in den Nummern 6—10 sehen kann.

Tabelle 12.

Temperatur: 60 Gr. C.

No. d. Versuchs: 351.

No. d. Materials: 74—1.

No. d. L.	Zeit in Sec.	col. W.	% Anth.
1	5	—	—
2	15	27/315	8,75
3	15	39/340	11,47
4	15	30/300	10,—
5	15	50/320	15,62
6	30	66/290	22,75
7	30	58/300	19,33
8	60	57/330	17,27
9	60	40/375	10,66
10	120	37/340	10,88

16 nmsn. farblos: 4 mit kleinen Resten.

Die Maxima des Austretens sind fett gedruckt.

Für die Entfärbung bei 55 Gr. C. wählen wir Versuch 349' von der Materialnummer 73, ein Exemplar mit stark ausgelaufenen Blättern und Wurzeln. Die Resultate findet man in der folgende Tabelle.

Tabelle 13.

Temperatur: 55 Gr. C.

No. d. Versuchs: 349'.

No. d. Materials: 74-1.

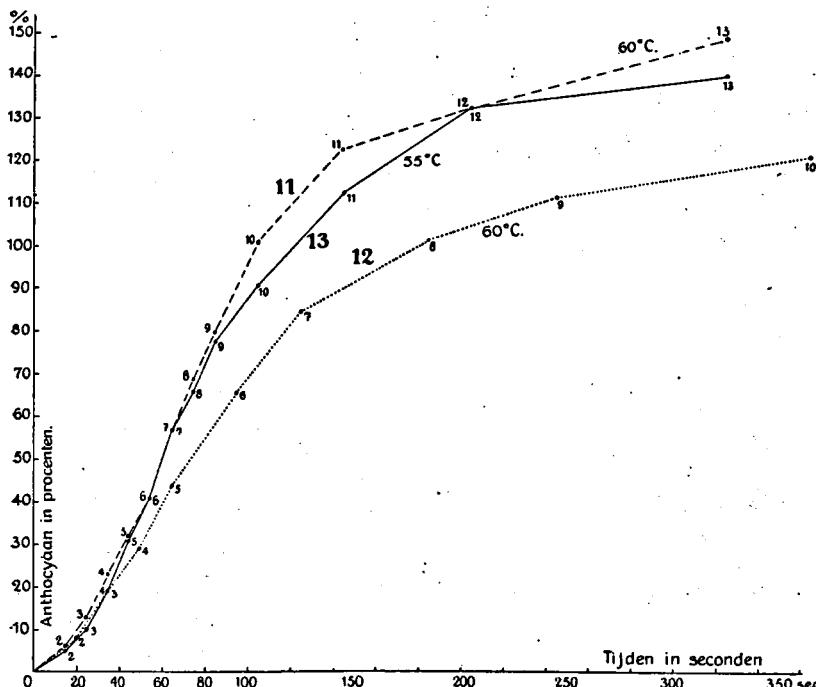
No. d. L.	Zeit in Sec.	col. W.	% Anth.
1	5	—	—
2	10	30/404	7,42
3	20	20/380	5,26
4	10	35/380	9,21
5	10	50/400	12,5
6	10	40/380	10,52
7	10	50/300	16,66
8	10	40/440	9,09
9	10	40/330	12,12
10	20	47/350	13,42
11	40	80/350	22,85
12	60	65/320	20,31
13	120	38/440	8,63

Die Maxima des Austretens sind fett gedruckt.

Es ist keine Standardlösung gemacht worden, aber Lösung 1 ist der Maßstab, womit die kolorimetrischen Werte der übrigen Lösungen bestimmt werden. Da Lösungen 2, 3 und 4 resp. 7,42 %, 5,26 % und 9,21 % ergeben, liegt es auf der Hand, wenn ich die von mir wahrgenommene kleinere Anfangsgeschwindigkeit des Entfärbungsprozesses betrachte, dass Lösung 2 noch abgespültes Anthocyan enthält, sodass man den Gehalt dieser Lösung auf ungefähr 5 % feststellen kann. Beim Konstruieren der Kurve setzte ich ihn auf 5 % fest. Der Prozess steigt bis Lösung 5, sinkt in 6,

steigt wesentlich in 7, sinkt stark in 8, steigt in 9 und dann folgt fortgesetzt zunehmendes Fallen bis zum Ende, wo noch nicht alles entfärbt ist, denn es bleiben noch 14 sehr kleine Anthocyanreste übrig.

Kurve 11, 12 und 13.



Diese Kurven haben Bezug auf die gleichnamigen Tabellen. Die Kurven 11 und 13 sind von derselben Wurzel und illustrieren ausser dem Verlauf der Entfärbung bei 60 und 55 Gr. C. auch die beziehungsweise geringe Abweichung des Verlaufes bei supramaximalen Temperaturen, die nur 5 Gr. C. auseinander liegen.

Kurve 12 stellt die Resultate einer anderen Rübe dar, und der Verlauf dieser Kurve beweist, dass der Unterschied der individuellen Resistenz sehr gross sein kann.

Für die Entfärbung bei 50 Gr. C. diente Versuch 305. Die Materialnummer ist 51. Die Tabelle 14 umfasst alle Daten.

Tabelle 14.

Temperatur: 50 Gr. C.

No. d. Versuchs: 305.

No. d. Material: 51—1.

No. d. L.	Zeit in Min.	col. W.	% Anth.
1	10/60	82/450	18,22
2	10/60	49/460	10,65
3	10/60	18/470	3,82
4	1/3	20/480	4,16
5	1/3	14/460	3,04
6	1/3	14/460	3,04
7	1/2	15/480	3,12
8	5	78/453	17,21
9	15	60/485	12,37
10	30	20/470	4,25

1 farblos; 13 kleine Reste und 6 sehr grosse Reste.

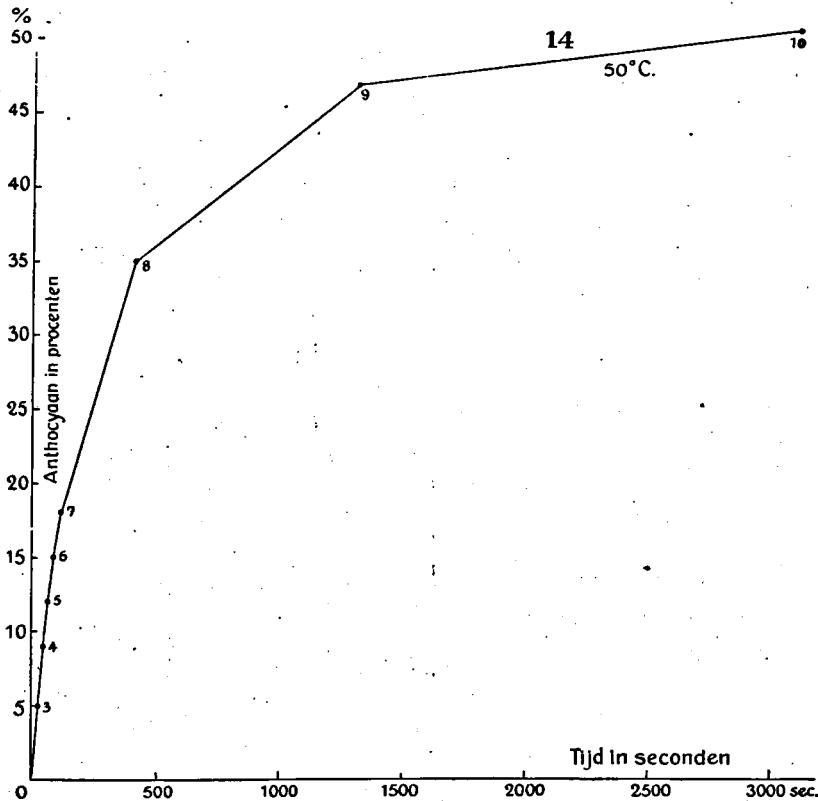
Die Daten dieser Tabellen geben sofort Anlass zur Discussion, weil hier mit einer Standardlösung gearbeitet ist, und die erste Frage, welche beantwortet werden muss, ehe man die Kurve zeichnen kann, ist diese: Wo ist die Grenze zwischen dem *abgespülten* und dem *ausgetretenen* Anthocyan? Die Zahlen weisen in diesem Falle die Grenze deutlich an. Lösung 1 besteht wahrscheinlich ganz aus *abgespültem* Anthocyan, No. 2 gröstenteils, sodass man nach Schätzung höchstens 2 % der Lösung die mit 10.65 % bezeichnet wird, als *ausgetretenes* Anthocyan ansehen kann.

Das ist dann auch die Basis für die Konstruktion des ersten Abschnittes der Kurve, die zu dieser Temperatur gehört. Bei der Konstruktion der Kurven liess ich immer die Zahlen hinter dem Decimalzeichen ausser Betrachtung.

Die Lösungen 1,2 und 3 werden also zusammen genommen, die Zeit ist dann 30 Sec. und das ausgetretene Anthocyan 5 %. Bei 4 tritt also ein deutliches Fallen ein, fortgesetzt bis 5. No. 7—10 zeigen gleichfalls ein Fallen. Da nun die behandelten nmsn. noch 6 sehr grosse Reste und 13 kleinere enthalten, ist die Entfärbungszeit bedeutend höher als 52 Min. und wird der weitere Entfärbungsprozess wahrscheinlich mit einer starken Steigung gepaart gehen.

Die folgende Kurve zeigt den Verlauf bei dieser Temperatur an.

Kurve 14.



Den Verlauf der Entfärbung bei 45 Gr. C. bestimmte ich mit den Daten aus Tabelle 15.

Tabelle 15.

Temperatur: 45 Gr. C.

No. d. Versuchs 360.

No. d. Materials: 78—1.

No. d. L.	Zeit in Min.	col. W.	% Anth.
1	10	—	—
2	20	30/488	6,89
3	40	37/296	12,50
4	60	40/190	21,05
5	60	77/280	27,5
6	60	70/410	17,07
7	60	10/460	2,17

Von den 20 nmsn. sind 15 farblos und 5 haben sehr kleine Reste.

Diese Daten weisen daraufhin, dass Lösung 2 nur wenig abgespültes Anthocyan enthält, sodass die Lösungen 4 und 5 ein zunehmendes Austreten zeigen und die Nummern 6 und 7 eine Abnahme. Von den 20 nmsn. sind schliesslich 15 farblos und 5 haben kleine Reste.

Den Entfärbungsverlauf bei 40 Gr. C. kann man aus Tabelle 16 ersehen.

Tabelle 16.

Temperatur: 40 Gr. C.

No. d. Versuchs: 359.

No. d. Materials: 78—1.

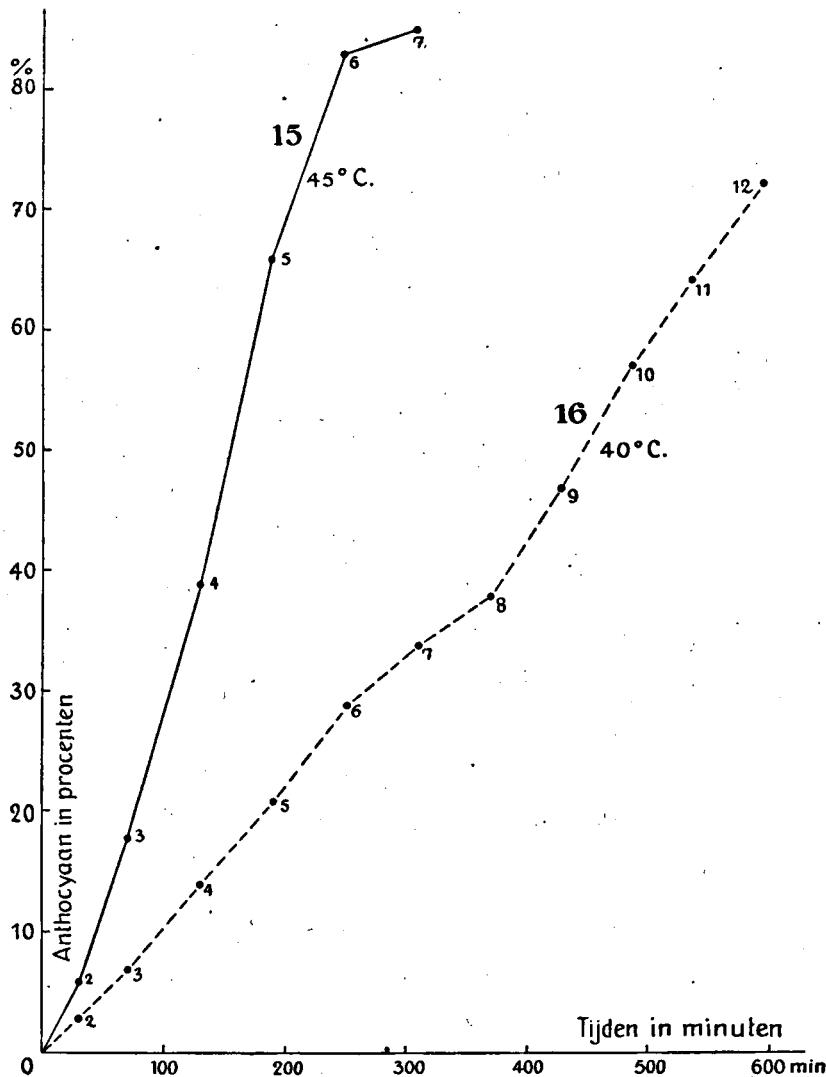
No. d. L.	Zeit in Min.	col. W.	% Anth.
1	10	—	—
2	20	15/433	3,46
3	40	20/465	4,32

No. d. L.	Zeit in Min.	col. W.	% Anth.
4	60	30/390	7,69
5	60	30/384	7,81
6	60	26/320	8,12
7	60	25/437	5,72
8	60	20/460	4,34
9	60	44/433	9,93
10	60	50/470	10,6
11	50	35/470	7,44
12	60	40/450	8,88
13	60	50/475	10,52
14	60	30/440	6,81
15	60	20/440	4,54

Von den 20 nmsn. hatten 4 kleine Reste und 16 grosse Reste.

Lösung 2 enthält hauptsächlich ausgetretenes Anthocyan und beim Konstruieren der Kurve betrachtete ich die darin anwesende Menge als ganz ausgetreten. Die Nummern 4, 5 und 6 bedeuten dann eine kleine Zunahme des Prozesses, während 6 und 8 ein Fallen zeigen, dagegen 9 und 10 über das Niveau von 4, 5 und 6 steigen. Die Lösungen 11 und 12 bedeuten ein Sinken, 13 ein Steigen und 14 und 15 ein starkes Fallen. Nun sind noch 16 grosse und 4 kleine Reste in den nmsn. geblieben. Hier folgen zwei Kurven, die nach den Daten aus Tabelle 15 und 16 konstruiert sind. Das für diese Versuche gebrauchte Material ist vollkommen gleichwertig, sodass diese Kurven auch als Illustration für eine *vergleichende Entfärbung* dienen können. (Kurven 15 und 16).

Kurven 15 und 16.



Für den Verlauf des Entfärbungsprozesses bei 35 Gr. C. gebrauchte ich die Daten von Tabelle 17.

Tabelle 17

Temperatur: 35 Gr. C.

No. d. Versuchs: 342.

No. d. Materials: 70—1.

No. d. L.	Zeit in Min.	col. W.	% Anth.
1	15	—	—
2	30	—	—
3	60	—	—
4	60	—	—
5	60	—	—
6	120	—	—
7	300	—	—
8	720	14/17	83.35
9	60	60/230 × 8	21.48
10	180	116/300 × 9	8.30
11	180	—	—
12	345	20/420	4.76
13	660	50/384	13.02
14	240	140/440 × 13	4.14
15	180	—	—

15 nmsn. sind farblos und 5 haben kleine Reste von Anthocyan.

Von den Lösungen 1—7 ist allein die erste hell gefärbt und wohl ausschliesslich durch *abgespültes* Anthocyan, was auch aus dem Umstand hervorgeht, dass 6 farblose Muster darauf folgen. In einem Zeitverlauf von 645 Min. ist also nichts *ausgetreten*. Die Entfärbung hat später angefangen, aber wann dieser Prozess genau beginnt, ist schwer fest zu stellen. Ungefähr kann man das wohl sagen, wenn man die Geschwindigkeit von 9 als Ausgangspunkt nimmt und für die kleine Anfangsgeschwindigkeit 100 Min.

rechnet, man kann dann etwa sagen, dass der Beginn der Entfärbung 400 Min. nach dem Einsetzen des Versuchs beginnt. Diese Betrachtungen habe ich beim Konstruieren der zugehörigen Kurve nicht in Rechnung gesetzt.

Lösung 9 wird jedoch wohl ein Steigen bezeichnen, da die Anfangsgeschwindigkeit des Austritts im allgemeinen kleiner ist.

Lösung 10 entstand während eines starken Fallens des Austrittsprozesses, ebenso 12, während 11 kolorimetrisch nicht zu bestimmen war.

Lösung 13 zeigt wieder eine Steigung und 14 ist stationair, am Schluss sind 15 nmsn. farblos und 5 zeigen kleine Reste. Lösung 15 ist nicht zu bestimmen.

Für 39 Gr. C. wird Versuch 343 gebraucht, die Materialnummer beträgt 70 und davon wird die empfindlichste vierte Etage benutzt.

Tabelle 18.

Temperatur: 30 Gr. C.

No. d. Versuchs: 343.

No. d. Materials: 70—4.

No. d. L.	Zeit in Min.	col. W.	% Anth.
1	15	—	—
2	30	9/460	1,95
3	60	9/384	2,34
4	60	198/455 × 3	1,01
5	60	—	—
6	120	—	—
7	300	—	—
8	720	12/425	2,82
9	60	178/340 × 8	1,47
10	180	400/470 × 9	1,25
11	180	20/380	5,26
12	345	50/410	12,19
13	660	134/139	96,40
14	240	20/120 × 13	16,06
15	180	—	—

Ohne Standardlösung; das abgespülte Anthocyan bildet die Basis für die kolorimetrischen Bestimmungen.

Wegen der langen Entfärbungszeiten sind die Lösungen 2, 3 und 4, was die Herkunft des darin vorhandenen Anthocyan anbetrifft, nicht zuverlässig.

In Lösung 8 finden wir also die ersten 2 % ausgetretenes Anthocyan. In 10 ist ein Fallen bemerkbar, ein Steigen in 11, in 13 eine sehr starke Steigung und in 14 ein starkes Fallen bis zur volkommenen Entfärbung in 15.

Für 25 Gr. C. ist es schwierig bei meinen Versuchen eine Entfärbung, die ein deutliches Bild des Austrittsprozesses gibt, zu finden. Ich wählte deswegen das sehr empfindliche Material aus der 4ten Etage von No. 64.

Tabelle 19.

Temperatur: 25 Gr. C.

No. d. Versuchs: 335.

No. d. Materials: 64—4.

No. d. L.	Zeit in Min.	col. W.	% Anth.
1	15	—	—
2	15	—	—
3	1140	100/275	36,36
4	180	25/183	13,66
5	1200	55/67	82,08

Lösung 2 ist farblos, 3 enthält 36 % als Ergebnis von 1170 Min. Ich sah, dass in 4 das Austreten weiter voranschritt und so bildet diese Nummer denn auch eine starke Steigung gegenüber 3. Für 5 waren 1200 Min. nötig, und wenn für das Erzeugen von diesen 82 % Anthocyan die ganze Zeit in Anspruch genommen worden ist, dann ist die Geschwindigkeit in 4 und 5 gleich geblieben.

Bei 20 Gr. C. konnte ich aus Gründen, die ich bereits eher entwickelte, schwer eine volkommene Entfärbung erhalten.

Tabelle 20.

Temperatur: 20 Gr. C.

No. d. Versuchs 338.

No. d. Materials: 67—1.

No. d. L.	Zeit in Min.	col. W.	% Anth.
1	30	—	—
2	1280	10/344	2,90
3	1440	10/422	2,36
4	1440	35/430	8,13
5	300	304/364 × 4	6,79
6	1440	244/378 × 5	4,38

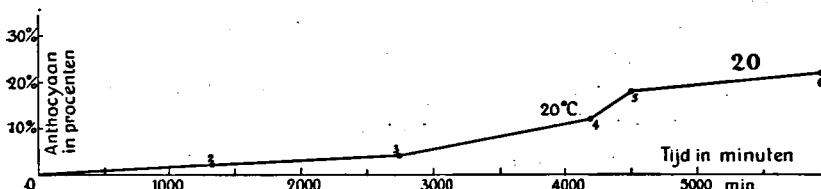
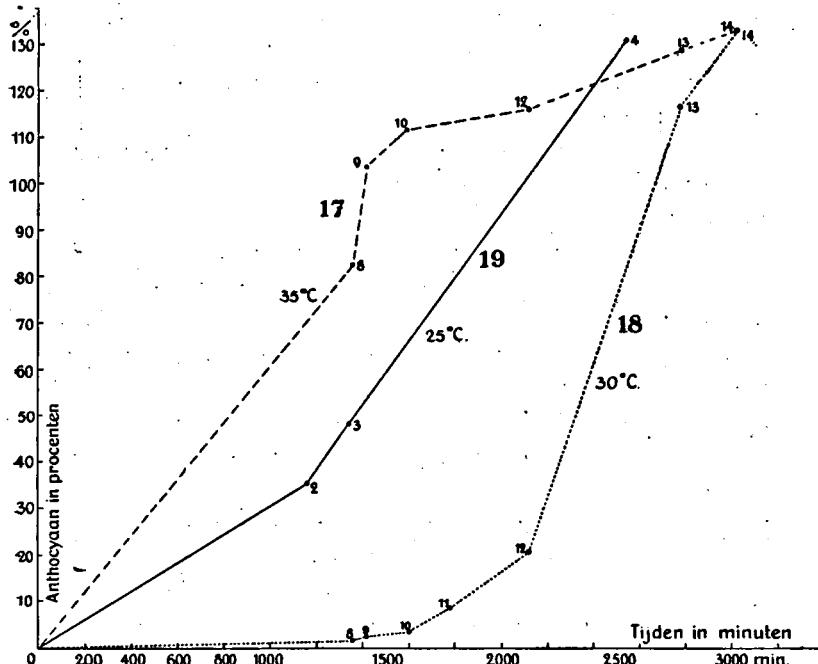
Die auffallenden Winkel in Kurve 17 bei den Punkten 9 und 10 machen diese wenig instructiv. Die Erklärung liegt in dem grossen Zeitintervall von 720 Min.; denn, wenn man den Verlauf des Austretens von diesen 83 % nachgegangen wäre durch Auflösung dieser 720 Minuten in eine Anzahl kleinerer Intervalle, dann würde das Einsinken bei 8 wegfallen und der Verlauf der ganzen Kurve mehr normal geworden sein.

Kurve 18 hat Bezug auf dasselbe Material, das jedoch aus der vierten Etage genommen ist. Da hier aber die Temperatur 5 Grad tiefer liegt als bei 17, kann der Verlauf von 18 gegenüber 17 als normal bezeichnet werden.

Kurve 19 hat Bezug auf die vierte Etage, und ich hatte mir den Verlauf davon *um Kurve 18 herum* gedacht. Da aber das Material von 19 von einer anderen Rübe stammt als das von 17 und 18, so ist der stark abweichende Verlauf von Kurve 19 nur durch die individuelle Empfindlichkeit zu erklären.

Kurve 20 illustriert den Einfluss der tiefsten von mir gebrauchten Temperatur. Keine einzige der konstruierten Kurven schmiegt sich so dicht der Abscisse an.

Kurven 17, 18, 19 en 20.



Vergleichende Entfärbungen.

Die vergleichenden Entfärbungen müssen verschiedene Fragen erklären, die beim Bestimmen der Entfärbungszeiten (Abschnitt 3) oder bei der Untersuchung des Verlaufs der verschiedenen Entfärbungsprozesse (Abschnitt 4) in mir aufstiegen.

Für einige dieser Versuche war ein Apparat ausreichend: z. B. um die divergierende Empfindlichkeit der verschiedenen Etagen der Wurzeln zu untersuchen.

Andere Experimente erforderten jedoch zwei Apparate, die gleichzeitig arbeiten konnten.

Hier werden also verschiedene Typen von vergleichenden Entfärbungen untersucht und an der Hand von Tabellen besprochen.

Zunächst wurde Gewebe aus verschiedenen Etagen der Wurzel genommen, um die divergierende Resistenz zu untersuchen.

Im Folgenden werden einige Unterschiede angeführt, die beim ersten Blick ins Auge fallen.

- a. Die Zeit für Totalentfärbung ist bei Gewebe aus der ersten Etage viel länger als bei demjenigen aus der vierten.
- b. Das Austreten des Anthocyan beginnt bei der ersten Etage viel später als bei der vierten.
- c. Der Verlauf der Entfärbung ist in beiden Fällen anders und besonders die Zeiten des beschleunigten Austritts von Anthocyan fallen nicht zusammen.
- d. Das Endresultat der Temperatureinflüsse von derselben Zeitdauer auf Material aus verschiedenen Etagen zeigt nach Abbruch der Versuche deutlich, dass die Farbstoffreste des dicken Endes der Rübe (erste Etage) viel ansehnlicher sind als diejenigen der Spitze.

Es sind mir aber Umstände bekannt geworden, wo die unter a—d angegebenen Erscheinungen nicht wahrgenommen werden können, sondern eher das Umgekehrte der Fall ist. Als Ursache betrachte ich die durch die Natur erhöhte *Permeabilität* beim Beginn der zweiten Wachstumsperiode. Dann kann der Austritt gleichzeitig beginnen, Etage 4 kann eine grössere Zeit erheischen für die Entfärbung als 1 und dann sind also die Anthocyanreste beim Abbrechen der vergleichenden Entfärbung in den nmsn.

von Etage 4 grösser als bei 1. Am Schlusse dieses Abschnittes soll eine Tabelle mit dazu gehörigen Kurven dies näher deutlich machen.

Wir lassen jetzt einige Beispiele folgen woraus das Fluctuieren der Resistenz in den verschiedenen Regionen der Rübe sich ergibt.

Tabelle 21.

Temperatur: 45 Gr. C.

No. d. Versuchs: 355.

No. d. Materials: 76; 1 en 4.

No. d. L.	Zeit in Min.	col. W.		% Anthocyan	
		Etage 1	Etage 4	Etage 1	Etage 4
1	10	—	—	—	—
2	120	40/255	70/238	15,68	29,41
3	60	38/230	60/196	16,52	30,62
4	60	29/284	24/220	10,21	10,90
5	60	14/460	7/470	3,04	1,48
6	120	140/396 × 5	—	1,07	—

Von 1 sind alle nmsn. farblos von 4 ebenso.

Das in den ersten 10 Min. abgespülte Anthocyan war der Ausgangspunkt beim Bestimmen der kolorimetrischen Werte.

Wir bemerken zur Tabelle 21, dass die maximale Geschwindigkeiten des Austretens auf derselben Höhe liegen. Ob das Austreten gleichzeitig beginnt, ist nicht zu entscheiden, weil das zweite Zeitintervall dafür zu gross genommen ist (120 min.). Da das Resultat in beiden Fällen gleich ist, nämlich die totale Entfärbung der 20 nmsn., ergibt sich aus dem früheren Ablauen der Entfärbung, die grössere Empfindlichkeit der vierten Etage.

In der folgenden Tabelle kommt dasselbe zum Ausdruck bei einer Temperatur von 25 Gr. C.

Tabelle 22.

Temperatur: 25 Gr. C.

No. d. Versuchs: 341.

No. d. Materials: 69; 1 und 4.

No. d. L.	Zeit in Min.	col. W.		% Anthocyan	
		Etage 1	Etage 4	Etage 1	Etage 4
1	30	—	—	—	—
2	1440	—	48/385	—	12,46
3	1440	—	60/312	—	19,23
4	1440	40/403	139/426	11,91	32,62
5	1440	97/417	113/402	23,26	28,10

Die Zahlen dieser Tabelle zeigen deutlich, dass die Resistenz von Spitze und Basis der Rübe stark auseinander läuft, was bei einer tieferen Temperatur mehr zum Ausdruck kommt. Totale Entfärbung wurde nicht erhalten, sodass der Schluss der Austrittsprozesse nicht verglichen werden konnte. Der Beginn des Austrittsprozesses ist jedoch in diesem Falle ein überzeugender Beweis für die schnellere Reaction des Spitzengewebes bei dieser Temperatur, denn dort beginnt der Austritt 1880 Min. früher.

Schon bei der Besprechung der Tabelle 7 und 8 wies ich darauf hin, dass einige kleine Andeutungen für eine weniger starke Empfindlichkeit der dritten Etage gegenüber der zweiten bestanden.

Während also die Resistenz von 1 nach 2 abnimmt, nimmt sie von 2 nach 3 wieder zu, um von 3 nach 4 wieder zu fallen.

Wir geben im Zusammenhang hiermit zwei Tabellen, worin alle Regionen der Rübe vertreten sind um die verschiedene Empfindlichkeit des Gewebes aus den verschiedenen Teilen zu illustrieren.

Tabelle 23.

Temperatur: 25 Gr. C.

No. d. Versuchs: 334.

No. d. Materials: 65; 1—2—3—4.

No. d. L.	Zeit in Min.	col. W.				% Anthocyan			
		1	2	3	4	1	2	3	4
1	5	—	—	—	—	—	—	—	—
2	3960	20/34	70/67	9/40	1	58,82	104,47	22,5	100

Tabelle 24.

Temperatur: 25 Gr. C.

No. d. Versuchs: 336.

No. d. Materials: 65; 1—2—3—4.

No. d. L.	Zeit in Min.	col. W.	% Anth.
1	5	—	—
		—	—
		—	—
2	30	—	—
		—	—
		—	—
3	60	—	—
		—	—
		—	—
4	1020	10/230 20/150 18/174 17/140	4,34 13,33 10,34 12,14

No. d. L.	Zeit in Min.	col. W.	% Anth.
5	180	20/147 x 4	0,59
		70/90 x 4	10,37
		90/234 x 4	3,97
		70/110 x 4	7,72
6	180	30/190 x 4	0,68
		—	—
		—	—
		109/220 x 4	6,01
7	360	28/164	17,07
		14/150	9,33
		10/200	5,—
		20/140	14,28
8	720	38/110	34,54
		40/110	36,36
		19/126	15,07
		30/93	32,25
9	180	50/130 x 8	13,28
		60/142 x 8	15,36
		80/200 x 8	6,03
		30/110	27,27

Die kolorimetrischen Werte sind für jede Nummer in der Reihenfolge der verschiedenen Etagen von oben nach unten angegeben.

Der Zustand der nmsn. nach dem Versuch.

1. 8 mit kleinen Resten, 5 mit grossen und 7 sehr grossen.
2. 10 kleine Reste und 10 mit grossen Resten.
3. 8 grosse Reste und 12 sehr grosse Reste.
4. 18 kleine Reste und 2 grosse.

Wenn man von Tabelle 23 die % des ausgetretenen Anthocyans kontrolliert, dann geben diese ein sehr deutliches Bild der Empfindlichkeit für Temperaturerhöhung

in den verschiedenen Teilen der Rübe. So ist bei Etage 1 58,82 % ausgetreten gegen 104,47 % bei Etage 2, was m.E. ein überzeugender Beweis ist für die grössere Empfindlichkeit der 2 Etage; 3 hat jedoch nur 22,5 %, was auf eine sehr grosse Resistenz hinweist, und die Spitze der Wurzel hat 100 %, ein Beweis für die sehr grosse Empfindlichkeit dieses Teiles der Rübe für Temperatureinflüsse. Dieses ergibt sich auch aus Tabelle 24.

An zweiter Stelle können vergleichende Entfärbungen den Beweis des Einflusses liefern, den die grössere Acidität der Zellflüssigkeit hat. Das ergibt sich aus den Daten, die ich von einem bestimmten Objecte erhielt, das sich dazu besonders gut eignete; denn die erste Etage war gelbrot und die vierte enthielt lilarotes Anthocyan. Wie schon bemerkt, ist dieser Farbenunterschied eine Folge der Verschiedenheit des *pH* des Vakuolen Inhaltes.

Dass der Unterschied der Resistenz durch die Verschiedenheit der *pH* verursacht wird, liegt nicht auf der Hand, da im allgemeinen die Resistenz von der ersten und vierten Etage sich immer bedeutend unterscheidet. Um die Zeit, als ich diese Objecte bearbeitete, bemerkte ich bei den verschiedenen Rüben eine Tendenz, die sich dahin äusserte, dass die vierte Etage durch natürliche Ursachen resistenter war als die erste, sodass im vorliegenden Falle dennoch das *pH*, ersichtlich aus dem Farbenunterschied zwischen der ersten und vierten Etage, die Ursache der geringeren Resistenz der vierten Etage sein muss.

Tabelle 25 enthält darauf bezügliche Daten.

Tabelle 25.

Temperatur: 30 Gr. C.

No. d. Versuchs 343.

No. d. Materials: 70; 1 und 4.

No. d. L.	Zeit in Min.	col. W.		% Anthocyan	
		Etage 1	Etage 4	Etage 1	Etage 4
1	15	—	—	—	—
2	30	—	9/460	—	1,95
3	60	—	9/384	—	2,34
4	60	—	198/455 × 3	—	1,01
5	60	—	—	—	—
6	120	—	—	—	—
7	300	—	—	—	—
8	720	—	12/425	—	2,82
9	60	—	178/340 × 8	—	1,47
10	180	—	400/470 × 9	—	1,25
11	180	18/424	20/380	4,24	5,26
12	345	30/410	50/410	7,31	12,19
13	660	100/415	134/139	24,09	96,40
14	240	250/455	20/120 × 13	13,23	16,06
15	180	30/375	—	8	—

Beim Abschluss des Versuchs ist der Zustand der nmsn.:

Auf Etage 1 gibt es 10 mit kleinen Resten, 5 mit grossen und 5 mit sehr grossen.

Auf Etage 4 sind alle nmsn. farblos.

Lässt man die kolorimetrischen Werte der Etage 4 der Lösungen 2, 3 und 4 ausser Acht, dann beginnt der Austritt aus dem Gewebe mit einer hohen *pH* 420 Min. früher als aus solchem von geringerer Acidität.

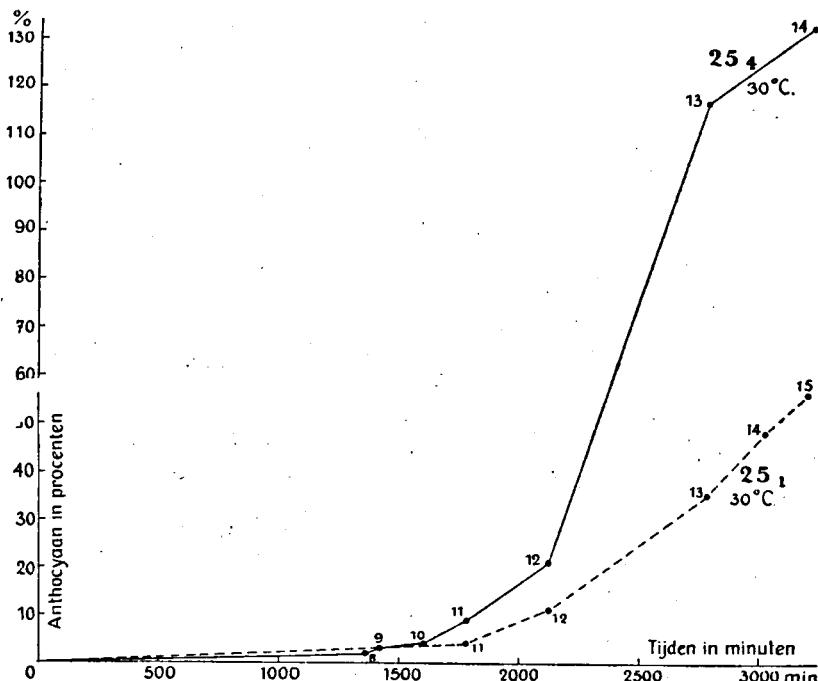
In Lösung 13 ist das letzte Maximum des Austritts für Etage 4 bereits erreicht, was bei Etage 1 erst bei 14 wahr zu nehmen ist, sodass bei dieser letztgenannten Etage beim

Abschluss des Versuches vielleicht noch ein zweites Maximum erwartet werden kann.

Die vollständige Entfärbung ist bei 4 schon eine Tatsache vor dem Ablaufe des Versuchs, während sie bei 1 noch wohl länger auf sich warten lassen kann, denn die nmsn. enthalten noch alle Farbstoff: 10 kleine, 5 grosse Reste und 5 sehr grosse.

Die Kurven 25 — 4 und 25 — 1 demonstrieren deutlich Tabelle 25.

Kurve 25-4 und 25-1.



Zwei vergleichende Entfärbungen sind von Bedeutung um den Einfluss der Oberfläche und Dicke der nmsn. auf die Zeiten nach zu forschen. Es wurden 20 nmsn. von der Standarddicke genommen (a), 20 die $1\frac{1}{2}$ mal so dick

sind (b) und 20 nmsn. von der Standarddicke aber von der halben Oberfläche (c).

Hierauf bezieht sich Tabelle 26.

Tabelle 26.

Temperatur: 60 Gr. C.

No. d. Versuchs: 351.

No. d. Materials: 74—1.

No. d.L.	Zeit in Sec.	col. W.			% Anthocyan.		
		a	b	c	a	b	c
1	5	—	—	—	—	—	—
2	15	27/315	40/425	63/407	8.57	9.41	15.47
3	15	39/340	28/440	90/470	11.47	6.36	19.14
4	15	30/300	29/460	65/434	10.—	6.30	14.97
5	15	50/320	30/440	60/390	15.62	6.81	15.38
6	30	66/290	50/307	50/380	22.75	16.28	13.15
7	30	58/300	50/296	49/420	19.33	16.89	11.90
8	60	57/330	40/180	27/466	17.27	22.22	5.79
9	60	40/375	35/194	7/470	10.66	18.04	1.48
10	120	37/340	45/205	—	10.88	21.95	—
11	180		20/150			13.33	
12	180		14/327			4.28	
13	180		6/460			1.30	

In dieser Tabelle stehen unter a die kolorimetrischen Werte, und die dazu gehörigen % Anthocyan von 20 nmsn; unter b dasselbe von $1\frac{1}{2}$ mal so dicken Schnitten und unter c von halben nmsn.

Wenn man der Maximumgeschwindigkeit in diesen drei Spalten nachgeht, dann zeigt a zwei Maxima und zwar in No. 3 und 5; b hat nur eins, welches auffallenderweise in einer höheren Lösung vorkommt (7). Lösung 2 von b wird noch abgespültes Anthocyan enthalten und ist also kein Maximum.

Bei den Werten von c kommen auch zwei Maxima vor und zwar wie bei a in Lösung 3 und 5. Bei allen Gruppen folgt auf das letzte Maximum ein Sinken der Entfärbungsgeschwindigkeit bis zum Ende. Beim Abschluss des Versuchs zeigt a 16 farblose nmsn. und 4 mit kleinen Resten. Die nmsn. von b und c sind alle farblos.

Die Entfärbungszeiten der Gruppen a, b und c verhalten sich wie 73 : 181 : 49, während die Zahlen bei einer proportionalen Abhängigkeit von der Oberfläche, respective der Dicke der nmsn. : 73 : 110 $\frac{1}{2}$: 37 $\frac{1}{2}$, sein müssten.

Bei dieser Betrachtung sind die 4 kleinen Reste von a ausser acht gelassen. Rechnet man dafür 60 Secunden, was tatsächlich nicht zu niedrig ist, dann wird das Verhältnis: 85 : 181 : 49, während es bei der proportionalen Abhängigkeit 85 : 127 $\frac{1}{2}$: 42 $\frac{1}{2}$, sein müsste; hieraus ergibt sich dann auch noch, dass die Dicke von grösserem Einfluss auf die Entfärbungszeit ist als die Oberfläche.

Zur selben Gruppe vergleichender Entfärbungen gehört Tabelle 27. Hier werden 20 (b) und 10 nmsn. (a) bei 55 Gr. C. verglichen.

Tabelle 27.

Temperatur: 55 Gr. C.

No. d. Versuchs: 352.

No. d. Materials: 75—1.

No. d. L.	Zeit in Min.	col. W.		% Anthocyan	
		a	b	a	b
1	5/60	—	—	—	—
2	25/60	60/364	80/453	16,45	17,66
3	+	63/410	100/310	15,36	32,25
4	1	116/380	176/264	30,52	66,66
5	2	137/310	150/220	44,19	68,18
6	2	125/390	110/404	32,05	27,22
7	2	87/340	40/460	25,58	8,69
8	2	70/400	9/475	17,5	1,89

Von a sind 12 farblos und 8 haben grosse Anthocyanreste.

Von b sind alle 15 farblos.

Aus diesen Zahlen ergibt sich, dass das Schnelligkeitsmaximum jedesmal in derselben Lösung zum Vorschein kommt. [Die Zeiten müssen beachtet werden bei der Bestimmung der Maxima.]

Nach Lösung 4 zeigen die übrigen Nummern ein fortwährendes Fallen. Das Sinken in a und b ist jedoch verschieden, denn in a ist es ziemlich gleichmässig und schwankt um 30 % der unmittelbar vorhergehenden Lösung, während in b das Fallen 50—75 % beträgt. Aus dem Zustand der nmsn. folgt, dass die totale Entfärbung bei a noch einige Minuten länger dauert als bei b, woraus sich ergibt, dass die Entfärbungszeiten nicht proportional der Oberfläche sind.

Jetzt folgen einige Tabellen, die Bezug haben auf vergleichende Entfärbungen bei Temperaturen, die sich um mehr als 5 gr. C. unterscheiden.

Tabelle 28.

Temperaturen: 60 Gr. C. und 55 Gr. C.

No. d. Versuche: 349 und 349'.

No. Materials: 73—1.

No. d. L.	Zeit in Sec.	col. W.		% Anthocyan	
		349	349'	349	349'
1	5	—	—	—	—
2	10	60/317	30/404	18,92	7,42
3	10	68/320	20/380	21,25	5,26
4	10	87/365	35/380	23,83	9,21
5	10	68/240	50/400	28,33	12,5
6	10	63/320	40/380	19,68	10,52
7	10	70/386	50/300	18,13	16,66
8	10	50/395	40/440	12,65	9,09
9	10	28/300	40/330	9,33	12,12
10	20	40/357	47/350	11,20	13,42
11	40	38/355	80/350	10,70	22,85
12	60	25/320	65/320	7,81	20,31
13	120	17/440	38/440	3,86	8,63

Von No. 349 sind alle nmsn. farblos, von No. 349' sind 6 farblos und 14 enthalten kleine Reste Farbstoff.

Diese beiden Entfärbungen zeigen, dass bei 60 Gr. C. bei 5 ein Maximum gelegen ist, während bei 55 Gr. C. drei Maxima vorkommen [es sind die Zeiten zu beachten], welche aber verschiedener Art sind. Dasjenige von 7 ragt über die anderen hinaus; es ist das eigentliche Maximum bei 60 Gr. C., woraus sich ergibt, dass bei einer tieferen Temperatur das Maximum *in die Endrichtung des Prozesses verschoben wird*.

Am Schlusse des Versuchs sind alle nmsn. bei 60 Gr. C. farblos und bei 55 Gr. C. haben 14 noch sehr kleine Reste.

Tabelle 29 enthält die entsprechenden Daten bei 35 Gr. C. und 30 Gr. C.

Tabelle 29.

Temperaturen: 35 Gr. C. und 30 Gr. C.

No. d. Versuche: 342 und 343.

No. d. Materials: 70—1.

No. d. L.	Zeit in Min.	col. W.		‰ Anthocyan	
		342	343	342	343
1	15	—	—	—	—
2	30	—	—	—	—
3	60	—	—	—	—
4	60	—	—	—	—
5	60	—	—	—	—
6	120	—	—	—	—
7	300	—	—	—	—
8	720	14/17	—	82,35	—
9	60	60/230 × 8	—	21,48	—
10	180	116/300 × 9	—	8,30	—
11	180	—	18/424	—	4,24
12	345	20/420	30/410	4,76	7,31
13	660	50/384	100/415	13,02	24,09
14	240	140/440 × 13	250/455 × 13	4,14	13,23
15	180	—	30/375	—	8,—

Von 342 sind 15 nmsn. farblos und 5 haben kleine Reste Farbstoff.

Bei 343 sind 10 kleine Reste, 5 mit grossen Resten und 5 mit sehr grossen Resten.

Für 342 liegt das Maximum der Austrittsgeschwindigkeit des Farbstoffes bei 35 Gr. C. in 9.

Das für 11 keine kolorimetrische Zahl angegeben wurde, soll nicht bedeuten, dass diese Lösung kein Anthocyan enthält.

Bei Versuch 343 beginnt das Austreten ungefähr 960 Min. später, und es erscheint ein Maximum bei 14. Das Steigen beträgt hier mehr als 50% gegenüber 13. Da diese nmsn.-Gruppe beim Abschluss des Versuchs noch viel Farbstoff enthält, ist ein zweites Maximum zu erwarten.

Tabelle 30 gibt die Einzelheiten bei 30 und 25 Gr. C. wieder.

Tabelle 30.

Temperaturen: 30 Gr. C. und 25 Gr. C.

No. d. Versuche: 332 und 333.

No. d. Materials: 62—1.

No. d. L.	Zeit in Min.	col. W.		% Anthocyan	
		332	333	332	333
1	15	—	—	—	—
2	15	25/113	10/100	22,12	10,—
3	180	12/60	8/42	20,—	5,63
4	180	55/150	—	7,33	—
5	180	65/240	—	5,41	—
6	180	—	—	—	—
7	600	35/65	—	53,84	—
8	240	30/120	—	25,—	—

Der sofortige Beginn der Entfärbungen ist hier nur Schein, denn die Anfangsnummern enthalten teils abgespültes

Anthocyan, welches aus beschädigten Zellen stammt. Lösung 7 und 8 bei 332 enthalten mit Sicherheit ausgetretenes Anthocyan, während bei 333 noch kein Farbstoff ausgetreten ist 840 Minuten nachdem bei 332 der Austritt begonnen hat.

Tabelle 31 zeigt, dass in bestimmten Fällen Etage 4 eine grössere Resistenz zeigen kann als 1.

Tabelle 31.

Temperatur: 40 Gr. C.

No. d. Versuchs: 359.

No. d. Materials: 78—1.

Temperatur: 40 Gr. C.

No. d. Versuchs: 359 a.

No. d. Materials: 78—4.

No. d. L.	Zeit in Min.	col. W.	% Anth.	No. d. L.	Zeit in Min.	col. W.	% Anth.
1	10	—	—	1	10	—	—
2	20	15/433	3,46	2	20	16/450	3,55
3	40	20/465	4,32	3	40	20/478	4,18
4	60	30/390	7,69	4	60	28/360	7,77
5	60	30/384	7,81	5	60	20/385	5,19
6	60	26/320	8,12	6	60	30/300	10,—
7	60	25/437	5,72	7	60	19/430	4,41
8	60	20/460	4,34	8	60	20/450	4,44
9	60	44/433	9,93	9	60	30/460	6,52
10	60	50/470	10,6	10	60	28/480	5,83
11	50	35/470	7,44	11	50	27/475	5,68
12	60	40/450	8,88	12	60	20/478	4,18
13	60	50/475	10,52	13	60	29/430	6,74
14	60	30/440	6,81	14	60	27/500	5,40
15	60	20/440	4,54	15	60	20/470	4,25

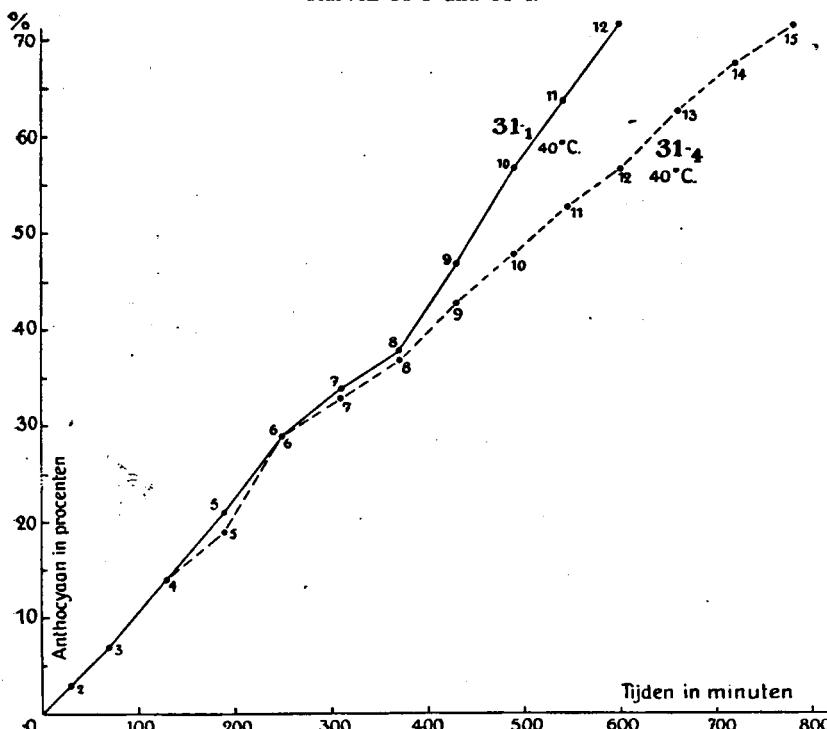
Von den 20 nmsn. hatten 4 kleine Reste und 16 grosse.

Alle 20 nmsn. hatten grosse Reste.

Auffallend ist hier der gleichzeitige Anfang des Austrittsprozesses und die Anthocyanreste, die bei 4 bedeutender

sind als bei 1. Die zugehörigen Kurven (31-1 und 31-4) illustrieren das vorhergehende.

Kurven 31-1 und 31-4.



Die punktierte Linie, welche sich also mehr der Abscisse nähert als die ausgezogene Linie, bezieht sich auf der 4. Etage. Die Annäherung der Zeitlinie ist im allgemeinen ein Beweis für die grössere Resistenz der Zellen.

Der gleiche Verlauf in den drei ersten Abschnitten ist deutlich und weist auf ein gleichzeitiges Austreten, während doch das Material von 4 darin voraus ist. Man vergleiche diese beiden Kurven mit denjenigen, welche zu Tabelle 25 gehören; man wird dann sehen, dass die punktierte Linie, die

sich auf die erste Etage bezieht sich der Zeitlinie nähert und die ausgezogene Linie (Etage 4) weit davon abbeugt.

Abgebrochene Entfärbungen.

Die Frage, die hier beantwortet werden soll, ist diese: kann durch eine tiefere Temperatur ein bei höherer Temperatur begonnener Entfärbungsprozess verändert werden und können Maxima verschoben werden, oder mit a. W. ist der Entfärbungsprozess *reversibel* oder *nicht*?

Da die Temperatur die Austrittsgeschwindigkeit des Anthocyans stark beeinflusst wird Verminderung der Austrittsgeschwindigkeit ein Beweis sein für eine gewisse Reversibilität innerhalb bestimmter Grenzen.

Meine Aufmerksamkeit fiel zuerst auf Versuche mit teilweise entfärbten nmsn. die sofort einer tieferen Temperatur ausgesetzt wurden, um zu sehen ob dann noch Farbstoff austrat. In Versuch 319 des Materials 55—2 gebrauchte ich eine Temperatur von 35 Gr. C. Nach 1080 Min. waren 27,16 % Anthocyan *ausgetreten*. Dieser Prozess wurde nun abgebrochen, und die nmsn. in Wasser von 14 Gr. C. gebracht. Nachdem sie hier 22, 48, 72, und 144 Stunden geblieben waren, wurde dieses Wasser in 16 cm hohen Säulen untersucht.

In keinem Falle war auch nur eine Spur von Rotfärbung zu sehen, obwohl die nmsn. noch sehr viel Anthocyan enthielten. Bei 30 Gr. C. wurde dasselbe nach einem Aufenthalt von 336 Stunden in Wasser von 14 Gr. C. wahrgenommen.

An zweiter Stelle richtete ich meine Aufmerksamkeit auf einen bestimmten Versuch von Sachs, worüber ich schon in der historischen Übersicht sprach. Er legte eine Anzahl nmsn. in Wasser von 51 Gr. C. worin sie *einige Minuten* blieben. Danach brachte er sie schnell in Wasser von 22 Gr. C. und er sah, dass das Anthocyan noch weiter austrat. Sachs meinte das dies Ergebniss bewies, dass in 51 Gr. C. nicht nur der Diffusionsprozess beschleunigt ist,

sondern dass die Zellen tatsächlich verändert sind. Ich bemühte mich durch einige Versuche dieses Resultat von Sachs zu kontrollieren, wie sich aus Tabelle 32 ergibt.

Tabelle 32.

Temperaturen: 52 Gr. C. und 22 Gr. C.

No. d. Versuchs: 346: a, b, c, d, e, f, g, h.

No. d. Materials: 72—1.

	Zeit in Min. 52 Gr. C.	idem 22 Gr. C.	col. W.	% Anth.
a	1	5	40/450	8,88
		10	—	—
		15	—	—
		30	—	—
b	2	5	46/439	10,47
		10	—	—
		15	—	—
		30	—	—
c	3	5	68/440	15,45
		10	40/425	9,41
		15	—	—
		30	—	—
d	4	5	46/440	10,45
		10	—	—
		15	—	—
		30	—	—
e	5	5	16/480	3,33
		10	—	—
		15	—	—
		30	—	—
f	6	5	40/460	8,69
		10	—	—
		15	—	—
		30	—	—

	Zeit in Min. 52 Gr. C.	idem 22 Gr. C.	col. W.	% Anth.
g	7	5	50/430	11,62
		10	—	—
		15	—	—
		30	—	—
h	8	5	10/440	2,27
		10	—	—
		15	—	—
		30	—	—

Zustand der Nmsn. nach den Versuchen,

- a. alle mit sehr grossen Resten,
- b. ein kleine Reste, 4 grosse Reste,
- c. 4 grosse Reste, 1 sehr grosser,
- d. 5 sehr grosse Reste,
- e. 3 farblos, 2 mit kleinen Resten,
- f. 2 kleine, 1 grosser Rest, 2 sehr grosse,
- g. 5 grosse Reste,
- h. 5 sehr kleine Reste.

Tabelle 33.

Temperaturen: 52 Gr. C. en 22 Gr. C.

No. d. Versuchs: 347 : a, b, c, d, e.

No. d. Materials: 72—4.

	Zeit in Min. 52 Gr. C.	idem 22 Gr. C.	col. W.	% Anth.
a	3	5	30/430	6,97
		10	10/470	2,12
		15	—	—
		30	—	—

	Zeit in Min. 52 Gr. C.	idem 22 Gr. C.	col. W.	% Anth.
b	6	5	46/400	11,5
		10	20/455	4,39
		15	—	—
		30	—	—
c	9	5	30/465	6,45
		10	—	—
		15	—	—
		30	—	—
d	12	5	20/475	4,21
		10	—	—
		15	—	—
		30	—	—
e	15	5	20/450	4,44
		10	13/420	3,09
		15	—	—
		30	—	—

Zustand der nmsn. nach den Versuchen.

- a. 1 grosser Rest, 4 sehr grosse Reste,
- b. 2 grosse Reste, 3 sehr grosse,
- c. 1 grosser Rest, 4 sehr grosse,
- d. 5 kleine Reste,
- e. 5 kleine Reste,

Absichtlich nahm ich die erste Temperatur einen Grad höher, als Sachs es tat, um die Gegensätze der Ergebnisse noch mehr zu unterstreichen.

Wir sehen tatsächlich, dass in allen Fällen das Austreten des Anthocyan einiger Zeit fortgesetzt wird, aber nirgends führt es zu vollständiger Entfärbung.

Nach der Erklärung von Sachs musste man annehmen, dass der Austrittsprozess bis zur vollkommenen Entfärbung

stattfände, was sich aus den Ergebnissen dieser Versuche nicht feststellen lässt.

In einzelnen Fällen, Tabelle 32 c, geht auch während des zweiten Zeitintervalls der Austritt weiter. In Tabelle 33 finden wir es drei mal, wobei zu bemerken ist, dass dieses Material aus der vierten Etage stammt.

Bei 30 und 35 Gr. C. konnte ich keine Spur vom fortgesetzten Austritt beobachten. Die Temperaturunterschiede waren hier bedeutend kleiner, 16 resp. 21 Gr. C. während sie bei Sachs 30 Gr. C. betrugen.

Diese Überlegungen bringen mich dazu an eine besondere Erscheinung zu denken, wofür gefordert werden müsste:

a. der Verbleib der Gewebe in einer supramaximalen Temperatur,

b. das sehr schnelle Überbringen der Objecte in eine inframaximale Temperatur, die bedeutend tiefer ist (hier 30 Gr. C.).

Diese Erscheinung bringt plötzlich einen Stillstand in der Reaktion des Gewebes auf die Temperatur, sodass bei viel tieferer Temperatur das Ausströmen ebenso weiter geht wie bei höherer, bis das Gewebe sich den neuen Verhältnissen angepasst hat, und damit das Austreten aufhört.

Man kann das noch etwas anders ausdrücken: *Genannte Erscheinung fixiert plötzlich den Zustand des Protoplasten, der in diesem Augenblicke eine bestimmte Entfärbungsgeschwindigkeit hat und die Anpassung schreitet kontinuierlich fort.* Diese wird illustriert durch den Umstand, dass in den 10 Min., die auf der ersten Periode von 5 Min. folgen, nie mehr oder ebenso viel sondern immer *viel weniger* Anthocyan austritt und dass diese zweite Periode also immer ein Fallen von 25—60 % bedeutet.

Für diese *Reversibilität* sprechen die folgende Tatsachen, die in den Tabellen 34 und 35 aufgeführt sind. Hier stehen nebeneinander eine durchlaufende Entfärbung von 55 Gr. C. und eine von 55 Gr. C. auf 50 Gr. C. *abgebrochene*.

Tabelle 34.

Temperatur: 55 Gr. C.

No. d. Versuchs 352 b.

No. d. Materials: 75—1.

Temperatur: 55 Gr. C. und 50 Gr. C.

No. d. Versuchs: 353.

No. d. Materials 75—1.

No. d. L.	Zeit in Sec.	col. W.	% Anth.	No. d. L.	Zeit in Sec.	col. W.	% Anth.
1	5	—	—	1	5	—	—
2	25	80/453	17,66	2	25	80/320	25,
3	30	100/310	32,25	3	30	130/430	30,23
4	60	176/264	66,66	4	60	200/360	55,55
5	120	150/220	68,18				55 Gr. C.
6	120	110/404	27,22				50 Gr. C.
7	120	40/460	8,69	5	120	170/334	50,89
8	120	9/475	1,89	6	120	110/490	22,44
				7	120	70/462	15,15
				8	120	20/460	4,34
				9	120	10/470	2,12
				10	120	10/492	2,03
				11	120	8/482	1,65
				12	120	—	—
				13	300	16/478	3,34

Die nmsn von beiden Gruppen sind alle farblos.

Betrachten wir diese Daten näher, dann fällt ein Sinken auf, das wir bei *fortlaufender* Entfärbung auftreten sehen, und das ununterbrochen weiter geht bis es nach 10 Min. abgelaufen ist.

Die nach 4 plötzlich *abgebrochene* Entfärbung (353), welche sogleich 5 Gr. C. tiefer fortgesetzt wird, sehen wir in Lösung 7 viel langsamer fallen. Auch in der folgenden Periode geht das Sinken langsamer als bei 352 b. Das weitere Fällen ist schwankend und tritt erst 13 Min. später ein.

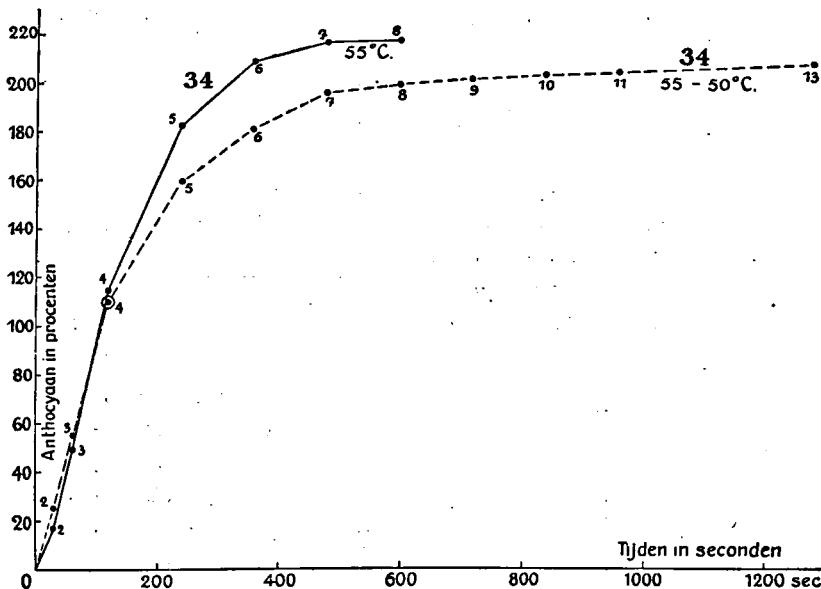
Lösung 12 ist kolorimetrisch nicht zu bestimmen aber

doch wahrscheinlich anthocyanhaltig. Jedenfalls tritt starkes Sinken ein.

Der Schluss liegt m.E. auf der Hand, dass der Lauf der Entfärbung durch plötzliches Abbrechen und sofortiges Fortsetzen auf eine 5 Gr. C. tiefere Temperatur, stark verzögert wird. Es ergibt sich sowohl aus den totalen Entfärbungszeiten als auch aus der Vergleichung der Anthocyanlösungen, dass das gleichmässige Sinken des Austrittsprozesses in ein ungleichmässiges verändert.

Man würde hier also von Reversibilität sprechen können. Eine schon erreichte Entfärbungsgeschwindigkeit des Gewebes ist durch ein Eingreifen mittels tieferer Temperatur in die Richtung ihrer normalen Reaktion bei dieser Temperatur zurück gegangen, was durch folgende Kurven illustriert wird.

Kurve 34-55 Gr. C. und Kurve 34-55-50 Gr. C.



Der umkreiste Punkt 4 bestimmt den Augenblick, wo in dem Entfärbungsprozess von 55 Gr. C. die Temperatur plötzlich auf 50 Gr. C. gebracht wird. Man sieht dort das sofortige Abbeugen der Kurve, welche die abgebrochene Entfärbung darstellt.

In Tabelle 35 tritt die Reversibilität noch viel stärker hervor, weil die Entfärbungstemperaturen um 10 Gr. C. verschieden sind.

Tabelle 35.

Temperatur: 50 Gr. C.

No. d. Versuchs: 362.

No. d. Materials: 80—1.

Temperatur: 50 Gr. C. und 40 Gr. C.

No. d. Versuchs: 363.

No. d. Materials: 80—1.

No. d. L.	Zeit in Min.	col. W.	% Anth.	No. d. L.	Zeit in Min.	col. W.	% Anth.
1	3	—	—	1	3	—	—
2	5	30/485	6,18	2	5	20/480	4,16
3	5	10/510	1,96	3	5	10/474	2,10
4	5	—	—	4	5	—	—
5	5	—	—	5	5	—	—
6	10	—	—	6	10	—	—
7	10	—	—	7	10	—	—
8	20	20/475	4,21	8	20	30/480	6,25
9	50	60/440	13,63	9	50	65/490	13,26
10	20	68/425	16,—				50 Gr. C.
11	40	90/340	26,47				40 Gr. C.
12	60	78/408	19,11	10	20	28/465	6,02
13	60	—	—	11	40	45/450	10,—
				12	90	50/483	10,3
				13	60	20/475	4,21
				14	60	26/475	5,47
				15	120	27/436	6,19
				16	120	19/410	4,63
				17	120	20/475	4,21

Die Daten dieser Tabelle werden dargestellt durch die Kurven 35—50 Gr. C. und 35—50—40 Gr. C., wobei der Temperaturunterschied zweimal so gross ist, was in dem stärker Divergieren der Kurven schön zum Ausdruck kommt.

Kurven 35-50 Gr. C. und 35-50-40 Gr. C.

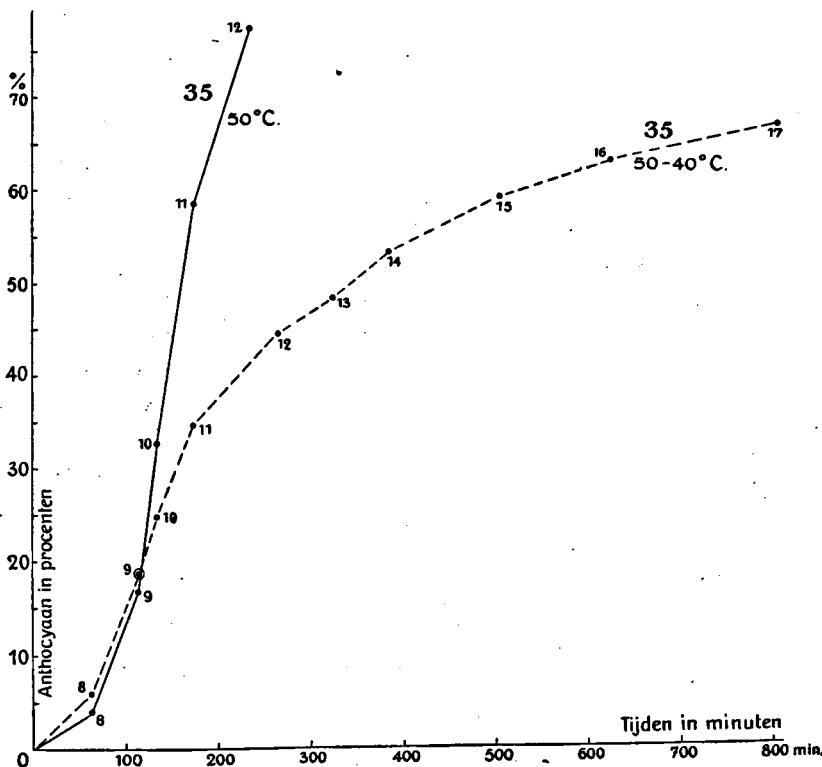


Tabelle 36 zeigt die Zahlen, die bei der abgebrochenen Entfärbung von 45—40 Gr. C. erhalten wurden.

Tabelle 36.

Temperatur: 45 Gr. C.

No. d. Versuchs: 361.

No. d. Materials: 79—1.

Temperatur: 45 Gr. C. und 40 Gr. C.

No. d. Versuchs: 361a.

No. d. Materials: 79—1.

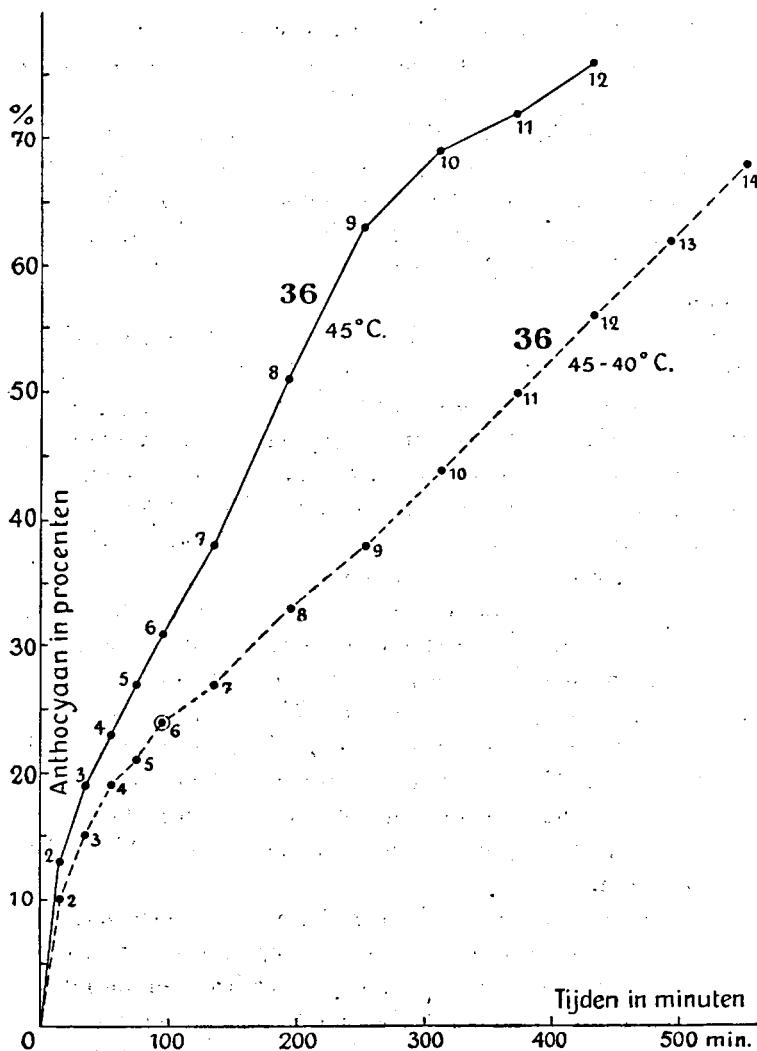
No. d. L.	Zeit in Min.	col. W.	% Anth.	No. d. L.	Zeit in Min.	col. W.	% Anth.
1	5	—	—	1	5	—	—
2	10	38/286	13,29	2	10	40/380	10,52
3	20	30/433	6,92	3	20	20/343	5,82
4	20	20/414	4,83	4	20	19/470	4,04
5	20	20/438	4,56	5	20	10/434	2,30
6	20	20/455	4,39	6	20	15/433	3,46
7	40	30/416	7,21				45 Gr. C.
8	60	68/436	13,30				40 Gr. C.
9	60	60/470	12,76	7	40	16/410	3,90
10	60	30/470	6,38	8	60	27/450	6,—
11	60	14/468	2,99	9	60	25/458	5,44
12	60	20/440	4,54	10	60	30/440	6,81
				11	60	30/478	6,81
				12	60	28/450	6,27
				13	60	28/470	6,22
				14	60	27/453	5,97
							5,99

Von den 20 nmsn. haben 10 kleine Reste und 10 sind farblos.

Von den 20 nmsn. sind 4 farblos, 4 haben kleine und 12 grosse Reste.

Aus Tabelle 36 ergeben sich Kurve 36—45 Gr. C. und Kurve 36—45—40 Gr. C.

Kurve 36-45 Gr. C. und Kurve 36-45-40 Gr. C.



Zusammenfassung.

Nach Betrachtung der einschlägigen Literatur ergab sich, dass die Priorität der Entdeckung der Osmose dem Abte Nollet (1748) zuzuschreiben ist. Weiter zeigte sich, dass die Permeabilität des Plasmas für endosmotische und exosmotische Strömungen nicht genügend als besondere Frage aufgefasst worden ist und letztere besonders wenig Gegenstand einer genauen Untersuchung gewesen ist. Wo das Studium der exosmotischen Strömungen unter Einfluss von plasmolysierenden Ionen mir weniger richtig erschien, habe ich so viel wie möglich nur den Einfluss der Temperatur untersucht.

Ob die Zellen, welche durch Einwirkung von verschiedenen Temperaturen eine erhöhte Permeabilität erhalten, lebend oder tot sind, lasse ich hier unbeantwortet, genau so wie Nägeli, de Vries und Bayliss es taten. Dass ich zur erstenen Auffassung neige, hat darin seinen Grund, dass die Untersuchungen mir bedeutende Unterschiede in der Reaktionsgeschwindigkeit des normalen lebenden Wurzelgewebes der roten Rübe zeigten.

Dass Rübengewebe ein besonders günstiges Object ist für dergleichen Untersuchungen, beweist der Umstand, dass beinahe alle Forscher, die sich mit der Permeabilität befassten, dieses gebraucht haben: Nägeli, Sachs, de Vries, Hansteen, Cranner, Lepeschkin und Collander. Die meisten von ihnen haben jedoch nur einige Versuche mit diesem Objecte gemacht. Dagegen dachte ich, dass grosse Reihen vergleichender Versuche nötig waren.

Das Interesse jener Männer ist viel zu viel auf die maximalen und supramaximalen Temperaturen gerichtet gewesen, wogegen ich gerade den Nachdruck auf die infra-maximalen gelegt habe. Dabei fand ich, dass eine grosse Anzahl Temperaturen denselben Einfluss ausüben konnten als

die maximalen und höheren, wenn sie nur lange genug auf das Material einwirkten. Dass ein scharfer Unterschied besteht zwischen supramaximalen, maximalen und inframaximalen Temperaturen scheint mir nach meinen Befunden sehr fraglich, obwohl die drei Ausdrücke für die Praxis handlich sind.

Durch die geringe Anzahl von Versuchen anderer For- scher ist es diesen entgangen, dass das Gewebe der Rübenwurzel auf Temperaturen sehr verschieden reagiert, je nachdem es aus dem oberen oder unteren Ende der Wurzel genommen wird, wobei ich an den von mir gefunden Unter- schiede der Resistenz erinnere, die von der Basis nach der Spitze hin abnimmt, wenn auch nicht immer ganz gleich- mässig.

Dadurch, dass ich Monatelang mit demselben Object arbeitete, wurde meine Aufmerksamkeit gelenkt auf die natürlichen und allmählichen Übergänge (*in ihrer Empfind- lichkeit für Erhöhung der Temperatur*) die bestehen zwischen

1. den Rübenwurzeln am Ende der ersten Wachstums- periode,
2. denjenigen, welche in tiefer Winterruhe sind,
3. jenen, welche nach und nach aus der Winterruhe erwachen,
4. den Rüben, die die zweite Wachstumsperiode be- gonnen haben.

Was hier von Resistenzunterschieden von ein und derselben Wurzel gesagt worden ist, kann noch mit dem Folgenden ergänzt werden, dass nämlich der Verlauf der Resistenz im vierten Stadium sich genau umgekehrt ver- halten kann, also *zunehmend von der Basis nach der Spitze*.

Ich arbeitete mit Gewebestücken, die ich *Normalschnitte* nannte, um an zu deuten, dass diese Stücke *immer von gleicher Oberfläche und Dicke waren*. Darauf beruht die *Methode dieser Untersuchung*.

Es konnte der Einfluss der Vorbehandlung mit Wasser

auf diese Normalschnitte und die damit erhaltenen Resultate gezeigt werden.

Der Einfluss der Dicke und der Oberfläche der Normalschnitte auf die Entfärbungszeiten konnte in Zahlen gegeben werden.

Es wurde in Übereinstimmung mit Lepeschkin der Einfluss der *pH* des Zellsaftes auf den Widerstand des Protoplasmas gegen Erhöhung der Temperatur wahrgenommen, wobei sich zugleich ergab, dass die *pH* in einer und derselben Wurzel sehr verschieden sein kann.

Das für solche Versuche gebrauchte Material muss nicht nur *morphologisch* (die Normalschnitte und ihre Anfertigung) sondern auch *physiologisch* (der Gebrauch von zwei Apparaten und andere methodische Vorsorgen) soviel wie möglich gleichwertig sein, was ausführlich bemerkt worden ist und was durch verschiedene Massnahmen ernstlich zu erreichen bestrebt wurde.

Um den Verlauf von Entfärbungen zu untersuchen, wurde eine Methode ausgearbeitet, wobei eine *natürliche Farbenskala* angelegt wurde.

Um den Verlauf der Entfärbung zu kontrollieren wurde von mir zum ersten Male das Kolorimeter gebraucht, was ich als die sicherste Methode betrachte um exosmotische Strömungen von gefärbtem Zellsaft in ihrem Verlauf zu registrieren.

Ich richtete den Blick auch auf anderes Material als die Rübenwurzel und hielt es dabei für gut für eine Untersuchung mit einer Sachsschen Blattschere an anthocyanhaltigen Blättern methodische Anleitungen zu geben. Einige Resultate sind in dieser Abhandlung aufgenommen und beweisen die Ausführbarkeit einer solchen Untersuchung.

Ich widmete mich mit besonderer Aufmerksamkeit einigen Versuchen von Sachs und den daraus von ihm gezogenen Folgerungen. Sachs legte eine Anzahl Normalschnitte *einige Minuten* in Wasser von 51 Gr. C., um sie dann

schnell in Wasser von 22 Gr. C. über zu führen. Er sieht nun das Austreten des Anthocyans ungestört weiter gehen und dies beweist nach seiner Meinung, dass *nicht allein der Diffusionsprozess beschleunigt wird, sondern dass die Zellen tatsächlich verändert sind.* Ich habe durch einige Versuche dieses Resultat von *Sachs* geprüft und kam zu folgenden Ergebnissen,

Die Erklärung von *Sachs* lässt an eine Fortsetzung bis zur vollkommenen Entfärbung denken, wogegen meine Resultate eine ganz andere Richtung anzeigen. Die Entfärbung geht wirklich nach dem Überbringen in eine tiefere Temperatur einige Zeit weiter, aber nirgends führt sie zu einer vollkommenen Entfärbung. Man könnte sich denken, die bei diesen Versuchen auftretenden Erscheinungen würden verursacht durch einen zeitlich fixierten Zustand des Protoplasmas sodass das Gewebe nicht reagiert wie sonst.¹⁾

Ich sah nämli. bei anderen Versuchen bei einer ebenso plötzlichen aber weniger grossen Temperaturabnahme (5 oder 10 Gr. C.), dass das Vermögen, um in gewöhnlicher Weise zu reagieren, nicht aufgehoben wird sondern, dass die Reaktion unmittelbar darauf folgt. Diese eigenartige Erscheinung beim Nacharbeiten der *Sachs* schen Versuche liess mich an eine *Schock-Erscheinung* denken, die in der Tierphysiologie so oft eine Rolle spielt.

Diese Arbeit wurde hergestellt im *Botanischen Laboratorium der Reichsuniversität Utrecht*. Dem Director dieses Instituts, Herrn Prof. Dr. F. A. F. C. Went, möchte ich bei dieser Gelegenheit nicht versäumen meinen geziemenden Dank aus zu sprechen für das rege Interesse und die

¹⁾ Diese Frage wird aber im Nachtrag weiter besprochen. So auch die Erscheinungen, die im Abschnitt der abgebrochenen Entfärbungen mitgeteilt worden sind und wo von Reversibilität die Rede war. Man wird sehen in wiefern man hier und auch in *Hansteen Cranners* Versuchen von wirklicher Reversibilität sprechen kann.

zahlreichen Anregungen, die ich im Verlauf dieser Untersuchungen von ihm entgegen nehmen konnte.

Für die freundliche Hilfe bei der Übersetzung dieser Arbeit danke ich meinem Freunde A. Radermacher aufrichtig.

Utrecht, im Juli 1925.

Nachtrag.

Herr D. de Visser Smits, der in niederländischem kolonialem Dienst ist, musste leider früher nach Java abreisen als beabsichtigt war. Die Folge davon war dasz er seine Arbeit abschliessen musste, während noch verschiedene Fragen der Beantwortung warteten. Ein anderer Schüler von mir, Herr Ramaer, hat die Sache zur Hand genommen und nicht allein die Versuche von Dr. de Visser Smits wiederholt, sondern dieselben noch ergänzt durch mikroskopische Beobachtungen. Das Resultat davon wird hier im Anschluss an die Versuche von Dr. de Visser Smits mitgeteilt.

F. A. F. C. WENT.

Wie sich aus den Untersuchungen von Dr. de Visser Smits ergeben hat, ist das Gewebe von *Beta vulgaris* sehr empfindlich für die Einwirkung verschiedener Temperaturen, was sich besonders dadurch schön beobachten lässt, weil dieses Gewebe mit einer schwächeren oder stärkeren Exosmose von Anthocyan reagiert.

Es war also zu erwarten, dasz eine mikroskopische Beobachtung des Entfärbungsprozesses das Verhalten der einzelnen Zellen deutlich hervor bringen würde. Um dieses bei verschiedenen Temperaturen zu ermöglichen, wurde aus einem Gefäss mit Wasser bestimmter konstanter Temperatur fortwährend Wasser durch ein plattes Glas-

röhrchen geführt, welches sich auf dem Objekttisch eines Mikroskops befand.

Ein Thermometer unmittelbar vor, und eins nach dem Objekttisch eingeschaltet, ermöglichen eine ziemlich genaue Bestimmung der Temperatur, welche immer etwas niedriger wie die Temperatur in grossen Gefäss, jedoch bei einer bestimmten Zuführungsgeschwindigkeit konstant war.

In das Röhrchen wurden, mittels einem Rasiermesser hergestellte, Querschnitte gebracht. Durch das Mikroskop konnten ungefähr sechzig gefärbte Zellen eines Schnittes (nicht alle Zellen enthalten noch Anthocyan) ausgewählt und mittels einem Zeichenapparat notiert werden.

Im ersten Versuch wurde ein Schnitt einer Temperatur von 50 Gr. C. ausgesetzt. Die durch das Messer verletzten Zellen entfärbten sich sobald das Wasser die Schnitte umspült. Es bleiben also die normalen Zellen übrig. Diese sind alle mehr oder weniger intensiv gefärbt und dabei sehr verschieden, dunkelanthocyan-farbig bis gelb, was wie de Visser Smits schon betont hat auf eine stark verschiedene Acidität des Zellsaftes zurück zuführen ist.

Während 10 Minuten behielten sämmtliche notierten Zellen dieselbe Farben-Intensität. Nachher entfärbte sich eine Zelle; dieser Prozess war innerhalb 40 Sekunden abgelaufen.

Allmählich folgten mehrere Zellen, jede mit derselben Entfärbungszeit und zuletzt auch die am meisten resistenten. Sämmtliche Zellen entfärbten sich innerhalb einer Stunde, also etwas schneller wie die Normalschnitte welche de Visser Smits benützte.

Dies ist leicht verständlich, weil die Normalschnitte bis 10 Zellschichten enthielten und ein Querschnitt höchstens zwei.

Wurde jetzt eine wässrige Eosinelösung zugefügt, so färbten sich ausnahmslos alle Zellen, auch die notierten ganz deutlich, woraus man schliessen muss, dasz die bei

einer Temperatur von 50 Gr. C. entfärbten Zellen abgestorben sind. (1)

Weitere Beobachtungen wurden gemacht: bei Temperaturen von 48 Gr. C., 40 Gr. C., 34 Gr. C., und 24 Gr. C., also auch bei inframaximalen Temperaturen.

Es ergab sich, dasz jeder Entfärbungsprozess eines Schnittes die Summe der Entfärbungszeiten der einzelnen Zellen darstellt, wie es den Kurven von de Visser Smits entspricht und weiter dasz eine entfärbte Zelle immer abgestorben ist auch wenn die Entfärbung bei 24 Gr. C. stattgefunden hat. (2, 3, 4) Letzteres könnte fraglich erscheinen, aber man soll dabei erwägen, dasz die Zellen bei dieser Temperatur bisweilen 60 Stunden in einer zweifellos schädigenden Umgebung, das Wasser, verweilen.

Nun gibt es weiter einen bemerkenswerten Unterschied zwischen der Entfärbungszeit einer Zelle bei 50 Gr. C. und der einer Zelle bei 24 Gr. C. Wie schon vorher gesagt, beträgt die erstere keine Minute, die letztere oft länger als eine Stunde.

Diese Abhängigkeit der Entfärbungszeit von der Temperatur ist auf die Absterbungszeit des Protoplasmas zurückzuführen. (5)

Die Entfärbungsprozesse der Normalschnitte sind also dadurch wichtig, weil sie die Fluktuationen in der Resistenz der Zellen demonstrieren. Denn auch bei 24 Gr. C. ist die Entfärbungszeit einer Zelle nur ein kleiner Bruchteil von der eines Normalschnittes, 1/40 bis 1/50, den Proportionen bei 50 Gr. C. also ganz ähnlich.

In einem weiteren Versuche gelang es während der Entfärbung einer Zelle bei 48 Gr. C. sehr schnell (innerhalb 2 Sekunden) Wasser von 14 Gr. C. herbei zu führen. Die Entfärbung verlief indessen mit derselben Geschwindigkeit wie vorher bis zum Ende.

Hieraus kann man den Schluss ziehen, dasz die Entfärbung einer Zelle bei supraoptimalen Temperaturen

nicht reversibel ist. Jedoch würde eine ganze Reihe von ähnlichen Versuchen erforderlich sein, um diese höchst wichtige Frage in allen Unterteilen zu lösen.

Im allgemeinen sei darauf hingewiesen, dasz man aus dem Verhalten eines Gewebestückes noch nicht schliessen darf auf bestimmte Eigenschaften der einzelnen Zellen. So konnte Hansteen Cranner (6) nicht wissen ob die ausgetretenen Farbstoffe von sämmtlichen Zellen herrühren oder aber von Zellen die, ihrer grösseren Empfindlichkeit für den Einfluss des Wassers, der Salze oder der Temperatur wegen, schnell zerstört worden sind. Das eben ist das Prinzip der Versuche von Hansteen Cranner über Anthocyanaustritt.

Zweitens ist ein Fosfatidenverlust des Protoplasmas nicht zu vergleichen mit einem Anthocyanverluszt durch die Vakuole. Weder de Visser Smits noch Hansteen Cranner können also mit Hülfe dieser Methode eine reversibile Permeabilitäts erhöhung des Protoplasmas durch die Temperatur beweisen. Ob letzteres überhaupt möglich ist, bleibt dahingestellt, aber für Anthocyan liefern die Tatsachen bis jetzt keine Stütze.

Mehr berechtigt is man, mit Hülfe der Gewebemethode Durchschnittswerte der Empfindlichkeit und Resistenz zu bestimmen, wie es de Visser Smits getan hat oder wenn man will, die Koagulationszeiten oder Absterbezeiten wie sie Lepeschkin gegeben hat; allein das Verhalten der Zellen soll mikroskopisch untersucht werden.

Utrecht, im Jan. 1926.

H. RAMAER.

Literatur.

- 1) **Julius Sachs.** Geschichte der Botanik. München 1875. S. 550.
- 2) **R. Dutrochet.** Nouvelles observations sur l' endosmose et l'exosmose et sur la cause de ce double phénomène. Ann. chim. phys. Ser. 2.35.393 — 400. 1827.
- 3) **Histoire de l'Acad. Roy. des Sci. avec les Mém. de Math. et de Phys. Mém. 57—104** 1748.
- 4) **Friedrich Dannemann.** Die Naturwissenschaften in ihrer Entwicklung und in ihrem Zusammenhange. Vierter Band. Leipzig und Berlin. 1913 S. 39.
- 5) **Walter Stiles.** Permeability. New Phytologist reprint no. 13. 1924.
- 6) **Carl Nägeli und Carl Cramer.** Pflanzenphysiologische Untersuchungen Zürich 1855 S. 5, 7 und 31.
- 7) **W. M. Bayliss.** Principles of General Physiology. Fourth Edition. London 1924 Pag. 126.
- 8) **Julius Sachs.** Gesammelte Abhandlungen über Pflanzen Physiologie Erster Band, Leipzig 1892. S. 133—136.
- 9) **Wilh. Hofmeister.** Die Lehre von der Pflanzenzelle. Leipzig 1867. S. 4 und 5.
- 10) **Hugo de Vries.** Sur la mort des cellules végétales par l'effet d'une température élevée. Archives Néerlandaises des sciences exactes et naturelles. T. 6 1871. p. 245.
- 11) ———. Opera e periodicis collata. Utrecht 1918. Vol. 1 p. 100.

- 12) **Hugo de Vries.** Sur la permeabilité du protoplasma des betteraves rouges. *Archives Néerlandaises des sciences exactes et naturelles.* T. 6. 1871 p. 117.
- 13) ——. *Opera e periodicis collata.* Vol 1 pag. 92.
- 14) **G. Krabbe.** Ueber den Einfluss der Temperatur auf die osmotischen Processe lebender Zellen. *Pringsheim's Jahrbücher.* Bnd 29, 441—498. Berlin. 1896.
- 15) **Fr. van Rysselberghe.** Influence de la Température sur la Perméabilité du Protoplasma vivant pour l'Eau et les substances dissoutes. 1899. *Bulletins de l'Académie royale de Belgique*, no. 3, pp. 173—221, 1901.
- 16) **Aristides Kanitz.** Temperatur und Lebensvorgänge. Berlin 1915. S. 90.
- 17) **Janse.** Die Permeabilität des Protoplasmas. *Verslagen mededeel. d. Kon. Akad. van Wetensch. van Amsterdam. afd. Natuurkunde, reeks 3, deel 4, bl. 332.*
- 18) **R. Höber.** Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe, Fünfte Auflage. Leipzig 1922—1924. S. 409.
- 19) **W. S. Iljin.** Permeabilität des Plasmas für Salze und die Anatonose. *Stud. from the Plant Physiol. Labor. of the Charles Univ. Prague* 1923.
- 20) **B. Hansteen Cranner.** Zur Biochemie und Physiologie der Grenzschichten lebender Pflanzenzellen. *Meldinger fra Norges Landbrukshoiskola* 1922, pag. 96.
- 21) **Lepeschkin.** Zur Kenntnis der Einwirkung supramaximaler Temperaturen auf die Pflanze. *Ber. d. D. B. G.* Bnd. 30 1912. S. 703.
- 22) **Runar Collander.** Beobachtungen über die quantitativen Beziehungen zwischen Tötungsgeschwindigkeit und Temperatur beim Wärmetod pflanzlicher Zellen. *Societas Scientiarum Fennica. Commentationes Biologicae.* Tomus 1 No. 7—9. pag. 1—11.
- 23) **A. Weiss.** Beiträge zur Kenntnis der Plasmahaut. *Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie.* Bnd 1 Heft 1. Berlin 1925. S. 160.

- 24) R. Höber. Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. Fünfte neubearbeitete Auflage. Leipzig 1922 — 1924, S. 487.
- 25) Olof Hammarsten. Lehrbuch der physiologischen Chemie. Achte Aufl. Wiesbaden 1914. S. 9 en 10.
- 26) W. Lepeschkin. The Constancy of the Living Substance. (Experiments made on Spirogyra). Studies from the Plant Physiological Laboratory of Charles University. Prague 1923. pag. 5—44.
- 27) Leopold Dippel: Handbuch der allgemeinen Mikroskopie, 2te umgearbeitete Auflage, 1882, S. 675 en 676.
- 28) L. Weigert. Beiträge zur Chemie der roten Pflanzenfarbstoffe. Jahresb. d. önol. u. pomol. Lehranstalt z. Klosterneuburg. 1894—1895.
- 29) R. Willstätter. Untersuchungen über Anthocyane. Liebigs Annalen der Chemie. 401 (1913, 404 (1915) & 412 (1917)

Literatur zum Nachtrag.

- 1) **Julius Sachs:** Gesammelte Abhandlungen über Pflanzen-Physiologie. Erster Band, Leipzig 1892. S. 133—136.
- 2) **Wilh. Hofmeister:** Die Lehre von der Pflanzenzelle. Leipzig 1867. S. 5.
- 3) **H. de Vries:** Sur la permeabilité du protoplasma des betteraves rouges Opera e periodicis collata. Utrecht 1918. Vol. 1. p. 92.
- 4) **Ragnar Collander:** Beobachtungen über die quantitativen Beziehungen zwischen Tötungsgeschwindigkeit und Temperatur beim Wärmetod pflanzlicher Zellen. Societas Scientiarum Fennica Commentationes Biologicae. Tomus 1 No. 7—9.
- 5) **Lepeschkin:** Zur Kenntnis der Einwirkung supramaximaler Temperaturen auf die Pflanze. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. Band 30, 1912. S. 703.
- 6) **B. Hansteen Cranner:** Zur Biochemie und Physiologie der Grenzschichten lebender Pflanzenzellen. Meldinger fra Norges Landbrukshoiskola 1922, S. 96.