

H P. 192  
N° 3—7 B1

MARS—JUILLET

1936

BULLETIN INTERNATIONAL  
DE L'ACADÉMIE POLONAISE  
DES SCIENCES ET DES LETTRES

CLASSE DES SCIENCES MATHÉMATIQUES ET NATURELLES  
SÉRIE B: SCIENCES NATURELLES (I)

CRACOVIE  
IMPRIMERIE DE L'UNIVERSITÉ  
1936



Publié, par l'Académie Polonaise des Sciences et des Lettres, sous la direction  
de **M. S. Maziarski**, Secrétaire de la Classe des Sciences Mathématiques et  
Naturelles (Cracovie, Institut d'Histologie de l'Université, rue Wielopole 15).

Nakładem Polskiej Akademji Umiejętności.  
Drukarnia Uniwersytetu Jagiellońskiego pod zarządem Józefa Filipowskiego.

*Z rozwoju woreczka zalążkowego ukośnicy Begonia incana Lindl. — Über Embryosackentwicklung bei Begonia incana Lindl. (Ein Beitrag zur Embryologie der Gattung Begonia).*

Mémoire

de M. H. MEREMIŃSKI,

présenté le 4 mai 1936, par M. W. Szafer m. t.

(Planches 3—7).

**I. Einleitung.**

Die Literatur über die Embryosackentwicklung bei Begonien ist ziemlich spärlich, obgleich die ersten Beiträge schon um die Mitte des vorigen Jahrhunderts erschienen sind.

K. Müller (1847), der die Theorie Schleidens über das Entstehen des Embryos aus dem abgeschnürten Ende des Pollenschlauches angreift, beruft sich unter anderen auch auf Beobachtungen an einer Begonie. Er gibt eine längere Beschreibung (S. 758—61) der Entwicklung des Ovulums und des Embryos bei *Begonia cucullata*, nebst einigen Abbildungen (Taf. VII, Fig. 35—45). Zutreffende Beobachtungen und Interpretationen kommen jedoch in dieser Arbeit nur vereinzelt vor.

Schon Hofmeister (1849) berichtet in seiner „Entstehung des Embryo...“ (S. 37—8) einige Behauptungen seines Vorgängers. Er selbst untersuchte die Samenanlagen dreier Arten: *Begonia Drègei*, *B. semperflorens* und *B. cucullata* und gibt ein ziemlich getreues, wenn auch nicht ganz genaues Bild vom Bau des reifen, unbefruchteten Ovulums (Taf. V, Abb. 9).

Angaben über die frühen Entwicklungsstadien der Samenanlage einer Begonie (*Begonia heracleifolia*<sup>1</sup>) finden wir bei War-  
ming (1878), und zwar vier Abbildungen und einige gelegentli-  
che Erwähnungen an verschiedenen Stellen seines Werkes.

Jönsson (1879—80) widmet einen kurzen Abschnitt einigen  
Beobachtungen über *Begonia tuberosa*. Er streift die Frage der  
Deckzelle, der Makrosporenzahl sowie des Schicksals des Nuzellus  
während der Embryosackreifung. Er fügt nur eine einzelne Abbil-  
dung bei (Taf. VII, Fig. 32).

Soltwedel (1881, S. 348) erwähnt wiederum ziemlich kurz,  
daß bei *Begonia Froebeli* die Endospermibildung ganz unterdrückt  
sein soll. Guignard (1886, S. 68) teilt mit, daß manchen hy-  
briden Begonien ein Embryosack fehlt. Diese Wahrnehmung  
trägt, obzwar sie interessant ist (vgl. Tischler 1903, S. 409),  
nichts Wäsentliches zur Klärung unserer Frage bei. Ebenso keine  
neuen Angaben über die Embryologie der Begoniaceen enthält  
die Arbeit Kratzers (1918), obwohl sich Schnarf (1927—29,  
S. 224) auf diese Quelle beruft. Kratzer (S. 276) berück-  
sichtigte zwar diese Familie in seinen Erwägungen über die  
Cucurbitaceen, hat jedoch selbst keine genaueren Untersuchungen  
angestellt.

Erst Sandt (1921), der seine Arbeit hauptsächlich morpholo-  
gischen Problemen widmet, gibt als erster eine Darstellung der  
Samenentwicklung bei Begonien (S. 346—51). Er bespricht alle  
Entwicklungsstadien, einschließlich der reifen Samen, sowie die  
Mikrochemie des Ovulums. Aber diese Darstellung ist ziemlich  
allgemein gehalten. Sie entbehrt der Erwähnung, an wie vielen  
und welchen Arten die embryologischen Ergebnisse gewonnen  
wurden. Auf Grund seiner Abbildungen, er gibt nur zwei (Abb.  
5 u. 6), müßte es sich um *Begonia hirtella* und *B. manicata* han-  
deln. Es ist daher nicht klar, warum sich Schnarf (1927—29,  
S. 375) auf diesen Verfasser auch bezüglich der *Begonia tuberosa*,  
*B. Froebeli* und der „Knollenbegonien“ beruft.

<sup>1</sup>) Nicht „*Begonia crassifolia*“, wie irrtümlich Jönsson (1879, S. 58),  
und dann auch Dahlgren (1927, S. 370) angibt. Auch bei Schnarf (1931,  
S. 98) kommt irrtümlicherweise dieselbe „*B. crassifolia*“ vor, und zwar an-  
statt *B. tuberosa*. Im Index Kewensis konnte ich eine solche Begonien-  
art nicht finden.

Bei Irmscher (1925, S. 565) begegnen wir ebenfalls einer kurzen Erwähnung über die Entwicklungsgeschichte des Embryosackes bei *Begonia manicata*.

Die Dissertation von Maria Pastrana (1932) über die Sporogenesis bei *Begonia Schmidtiana* ist eigentlich die erste genauere Untersuchung über eine bestimmte Begonienart. Alle Vorgänger befaßten sich mit der Begonienembryologie nur gelegentlich beim Besprechen anderer, allgemeinerer Fragen. Da aber Pastrana hauptsächlich gewisse zytologische Probleme genau behandelt, so blieben mehrere wesentliche embryologische Momente unberücksichtigt. Sie verfolgt die Entwicklung des Embryosackes nur bis zum Stadium der Tetrade, so daß wir bezüglich der Makrosporeneimung in Ungewißheit bleiben.

Die Embryosackentwicklung bei Begonien ist also bisnun entweder fragmentarisch oder nur in ganz allgemeinen Umrissen bekannt. Laut Schätzung von Shadowsky (1925) wurde bis zum Jahre 1925 etwa 10% der Samenpflanzen embryologisch untersucht. In den folgenden Jahren ist ein großer Fortschritt auf diesem Gebiete zu verzeichnen. Bei der Gattung *Begonia* jedoch, die nach Irmscher (1925) über 760 Arten zählt, wurde bis heute nicht einmal diese „Durchschnittsnorm“ von 1925 erreicht. Bei einem solchen Sachverhalt scheint also eine genauere Untersuchung der Embryosackentwicklung bei einer Begonienart nicht überflüssig zu sein. Bei einer kritischen Berücksichtigung der bisherigen Literaturangaben kann sie auch in gewisser Hinsicht zur besseren Kenntnis der embryologischen Verhältnisse in der ganzen Gattung beitragen<sup>1)</sup>.

Diesen Zweck verfolgen die vorliegenden Untersuchungen über die Makrosporen- und Embryosackbildung bei *Begonia incana* Lindl. Einige Ergebnisse wurden schon kurz in einer vorläufigen Mitteilung (1935) angeführt.

#### Material und Methoden.

Das Material stammt aus den Gewächshäusern des Botanischen Gartens der Jagellonischen Universität in Kraków und wurde im Februar 1934 und teilweise im März 1935 gesammelt.

<sup>1)</sup> Über die Embryosackentwicklung bei einer anderen Begoniacee, *Hillebrandia sandwicensis*, liefert neuerdings Mauritzon (1936, S. 107—8, Abb. 11 A—J) eine kurze Darstellung.

Die Exemplare, welche im Garten als *Begonia peltata* bezeichnet waren, erwiesen sich nach einer Nachprüfung (De Candolle 1859; Klotzsch 1855) als *Begonia peltata* Otto et Dietr. (nicht DC.). Diese ist nach dem Index Kewensis identisch mit *Begonia incana* Lindl. Die Behauptung von Fotsch (1933, S. 77), daß die weiblichen Blüten der letzteren fünfblättrig sind, muß auf einem Irrtum beruhen (vgl. Irmischer 1925, S. 585). Die Blüten der von mir untersuchten Exemplare entsprechen der Abb. B, Taf. VI bei Klotzsch (1855). Die weiblichen Blüten sind in der Regel dreiblättrig. Auf diese Feststellungen anlässlich der Artbestimmung werde ich mich noch später berufen.

**Methoden.** Die Fruchtknoten kommen in die Fixierflüssigkeit nach gänzlicher Entfernung ihrer Flügel und Anschneiden der Wände. Hauptsächlich wurde Carnoy's Eisessig-Alkohol (1:3) benutzt, in dem das Material aufgeköcht wurde. Nach nahezu zwei Minuten langem Kochen wurde ein wenig kalter Fixierflüssigkeit hinzugefügt, und das Material für etwa 20 Stunden darin gelassen. Für spätere Stadien, etwa aus der Zeit der Embryosackbildung, erwies sich als geeigneter Nawaschins Gemisch (mit Alkohol, nach Müntzing 1932). Doch konnte ich auch in Carnoy's Flüssigkeit manche von diesen Stadien ziemlich gut fixiert finden (vgl. Abb. 38, 39). Dagegen habe ich mit Juels Zinkchlorid-Gemisch keine befriedigenden Ergebnisse erzielt.

Zum Färben diente Heidenhains Eisenalaun-Hämatoxylin, zum eventuellen Nachfärben Lichtgrün (in 95<sup>0</sup>/<sub>0</sub> Alkohol). Die Mikrotomschnitte waren 5—12  $\mu$  dick.

## II. Die Samenanlage.

Im dreifächerigen Fruchtknoten von *Begonia incana* sind die sehr zahlreichen Samenanlagen dicht an beiden Seiten jeder Leiste der zweiseptigen Plazenten angeordnet (Abb. 1).

**Die Krümmung der Samenanlage.** Die Samenanlagen beginnen sich früh zu krümmen, wobei die Epidermiszellen an der konvex gekrümmten Seite ihre Dimensionen stark vergrößern (Abb. 2—4).

Diesen charakteristischen Unterschied zwischen den Epidermiszellen der konvexen und der konkaven Seite bei dem jungen Ovulum einer *Begonie* beobachtete schon Müller (1847, S. 758) und bezeichnete dies auf seiner Abbildung 35 a. Warming (1878, S. 233) machte auf die Bedeutung dieser Tatsache für den Prozeß der Krümmung des Ovulums aufmerksam (auch Sandt, S. 347).

Ähnliche Verhältnisse wurden nicht nur bei einigen Begonien festgestellt (vgl. auch Pastrana, S. 372), sondern auch bei *Datiscia cannabina* (Himmelbauer 1909), also bei einem Vertreter der einzigen Familie, die verschiedene Autoren einstimmig als verwandt mit den Begoniaceen ansehen (vgl. darüber Mauritzon 1936, S. 109).

Die Krümmung der Samenanlage bei *Begonia incana* geht ziemlich schnell vor sich. Während der Kern der Embryosackmutterzelle (E. M. Z.) das Stadium der Synzesis durchmacht, hat schon die Samenanlage ein gänzlich anatropes Aussehen (Abb. 6).

Integumente und Mikropyle. Die Ovula bei *Begonia incana* sind bitegmisch. Die Anlagen der Integumente treten schon deutlich in dem Augenblicke auf, in welchem im Nuzellus eine Archesporzelle, bzw. Embryosackmutterzelle differenziert erscheint (Abb. 2—4). Von da ab entwickelt sich das äußere Integument schneller als das innere, wie dies auch bei anderen Begonien der Fall ist. Wenn sich in den Samenanlagen die E. M. Z. im Stadium der Synzesis befindet, erreicht das äußere Integument gewöhnlich die Höhe des Nuzellusscheitels oder wächst sogar über ihn hinaus. Das innere Integument erreicht gleichzeitig höchstens die Höhe des Kernes der E. M. Z. (Abb. 6).

Nicht selten kann man dabei beobachten, daß das innere Integument an einer Seite des Nuzellus rascher wächst. Die schnellere Entwicklung beobachten wir dann an der Funikularseite (Abb. 6 und 7). Umgekehrte Fälle sind viel seltener, auch sind dann die Unterschiede weniger deutlich.

In den Samenanlagen, deren E. M. Z. das Stadium der Diakinese durchmacht, aber nicht selten auch früher (manchmal sogar in später Synzesis), umgibt schon das äußere Integument gänzlich den Nuzellus und läßt nur die mikropylare Öffnung frei (Abb. 7). Das Exostom kann zu dieser Zeit etwas breiter sein, oder es ist schon ganz schmal, wie in der endgültig ausgebildeten Mikropyle.

Es kann auch vorkommen, daß die Mikropyle nicht symmetrisch gelegen ist, daß sie nämlich gegen den Funikulus zu verschoben ist (Abb. 7 sowie 27). Wenn auch das innere Integument zusammenwächst und nur ein schmales Endostom freiläßt (was schon vor der Diakinese vorkommen kann, häufiger aber erst während der I. Teilung oder etwas später eintritt), so kann in

solchen Fällen die Mikropyle einen unterbrochenen Verlauf haben. Das Exostom ist dann etwas verschoben im Verhältnis zum Endostom, welches über der Nuzellusspitze liegt. Eine schwach angedeutete Verschiebung des Exostoms (Abb. 8) kommt ziemlich häufig vor.

Beide Integumente sind zweischichtig. Nur im mikropylaren Teil tritt eine Störung dieser Zweischichtigkeit ein (Abb. 8). Die äußere Schicht des äußeren Integumentes unterscheidet sich durch die Größe ihrer Zellen. Besonders groß sind die Seitenzellen.

Ganz ähnliche Verhältnisse sehen wir bei vier anderen *Begonia*-arten auf den entsprechenden Abbildungen von Hofmeister, Warming, Sandt und Pastrana, wie auch bei *Hillebrandia sandwicensis* (Mauritzon 1936). — Die etwas abweichende Abbildung 38 bei Müller lasse ich unbeachtet, da sie nicht ganz sicher ist.

Das Leitungsgewebe. In Übereinstimmung mit den Beobachtungen von Hofmeister (S. 35) und Sandt (S. 348), konnte ich kein Gefäßbündel in dem Funikulus bei *Begonia incana* bemerken. Dagegen tritt in diesem deutlich ein Strang kleiner, sich dunkel färbender Zellen hervor (auf Abb. 8 etwas schematisch dargestellt), welche augenscheinlich ein Leitungsgewebe bilden. Diesen Zellstrang kann man nämlich innerhalb der Plazenta verfolgen und feststellen, daß er mit den Leitungsbündeln in Verbindung steht. Am anderen Ende führt er wiederum zu einer Gruppe kleiner, inhaltsreicher Zellen an der Chalaza (Abb. 8; s. auch Abb. 6 bei Sandt). Dies ist, laut genauen mikrochemischen Untersuchungen von Sandt (S. 349), ein Teil der „Zuckerstraße“, welche dem Embryosacke als Zufuhrbahn für Baustoffe aus der Plazenta dient.

Derjenige Teil der „Zuckerstraße“, der sich von der Chalaza zum Embryosack innerhalb des Nuzellus erstreckt, wird von einer Gruppe länglicher, schmaler Zellen gebildet (Abb. 8). Diese sind von der Epidermisschicht des Nuzellus umgeben. Auf Hofmeisters Abbildung 9, Taf. V, sind eben diese Zellen nicht wahrnehmbar.

Nuzellus. Die Embryosackmutterzelle (E. M. Z.) wird bei *Begonia incana* von der Nuzellusepidermis durch eine einzelne Zellschicht getrennt (Abb. 4). Dieser Zustand unterliegt bis zur Zeit der Makrosporenauslese keiner Änderung (Abb. 7, 13, 27, 30,



32). Erst später, wenn die keimende chalazale Makrospore die drei Teilungsschritte der Embryosackbildung durchmacht, erliegt diese einzige Schicht allmählich einer Degeneration (Abb. 34—38). Der achtkernige Embryosack liegt also unmittelbar der Nuzellusepidermis an (Abb. 39). Er sprengt sie nicht, „zehrt“ sie auch nicht auf. Diese Epidermis hat inzwischen ein anderes Aussehen bekommen; sie erinnert an die Mantelschicht (Integumenttapetum) vieler tenuinuzellater Samenanlagen (Abb. 8, 39).

Es ist zwar bekannt, daß eine ähnliche Beschaffenheit des Ovulums, wie sie bei den jungen Samenanlagen von *Begonia incana* vorliegt, auch durch eine einmalige tangentielle Zellteilung der Nuzellusepidermis entstehen kann; ein Beispiel dafür bildet das von Svensson (1925, Abb. 195 u. a.) untersuchte *Heliotropium europaeum*. Auch stößt man manchmal auf erhebliche Schwierigkeiten bei der Feststellung, wie die Nuzellusschichten entstanden sind, was wir am Beispiel von *Viburnum opulus* (Dahlgren 1927, S. 392) oder *Sagina procumbens* (vgl. Schnarf 1927—29, S. 54 und Rocén 1927, S. 114) sehen. Ich selbst habe keine periklinen Zellteilungen in der Nuzellusepidermis von *Begonia incana* beobachtet. Auch das Verhalten der Nuzellusepidermis während der Embryosackreifung dürfte dafür sprechen, daß das Ovulum von *Begonia incana* krassinuzellat (im Sinne Schnarfs 1927—29) ist. Es gehört aber zu den dünnsten unter den krassinuzellaten, denn es besitzt nur eine Schicht zwischen der Epidermis und der E. M. Z. Nur in einem Falle habe ich beobachtet, daß ein schon vierkerniger Embryosack an der einen Seite durch zwei Zellschichten von der Epidermis getrennt war (etwas ähnliches sehen wir vielleicht auch auf Fig. 9, Taf. V bei Warming 1878). Dies aber war nur ein vereinzelter Ausnahmefall.

Ähnliche Verhältnisse liegen bei anderen Begonien vor, soweit man aus Abbildungen und Darstellungen schließen kann, die sich entweder auf den gesamten Samenentwicklungsgang (lediglich bei Sandt), oder nur auf frühe Stadien (Warming 1878, Pastrana), oder endlich ausschließlich auf das reife Ovulum (Hofmeister) beziehen.

Jönsson ist der einzige Verfasser, der diese Frage anders beleuchtet. Er spricht vom Durchbrechen des Nuzellus durch den Embryosack (S. 58), fügt aber keine entsprechende Abbildung bei. Gleichzeitig erwähnt er die Gattung *Begonia*, soweit es den

Entwicklungstypus der Samenanlage betrifft (S. 61), unter solchen Dialypetalen, wie *Linum*, *Impatiens*, *Hedera* u. s. w., die tenui- oder fast tenuinuzellat sind. Bei diesen liegt der reife Embryosack unmittelbar dem inneren Integumente an, dessen innere Schicht eventuell als eine Mantelschicht ausgebildet sein kann. Hat etwa Jönsson irrtümlich die Nuzellusepidermis der Begonien als Teil des inneren Integuments aufgefaßt?

Bemerkenswert ist auch folgender, eigentümlicher Widerspruch, den wir bei Warming finden. Dieser führt in seinem „De l'ovule“ (1878, S. 210) eben das Ovulum der Begonien — an Hand seiner eigenen Abbildungen — als Beispiel der kleinsten Samenanlage vom Typus „dichlamydé“ an, welcher, laut einer späteren Abhandlung Warmings (1913, S. 13), dem krassinuzellaten bitegmischen Typus am nächsten steht. Doch zählt der Autor in der zuletzt erwähnten Arbeit (1913, S. 14) die Begonien samt den Orchidaceen, Primulaceen, Droseraceen und anderen zu dem „leptosporangiate dichlamydé“, d. h. tenuinuzellaten bitegmischen Typus, ohne aber neue Angaben anzuführen. Auch Kratzer (1918, S. 337), der jedoch, wie erwähnt, die Begonien genauer nicht untersuchte, schreibt, daß die Begoniaceen „einen dünnen Nuzellus“ haben, eine Bezeichnung, die dieser Autor sonst auch bei den tenuinuzellaten Loasaceen und Campanulaceen gebraucht.

Von der Samenanlage der Begonien kann man aber nur behaupten, daß sie die dünnste unter den krassinuzellaten ist. Dies scheint ein Familienmerkmal der Begoniaceen zu sein, da dieselben Verhältnisse auch bei *Hillebrandia sandwicensis* vorliegen (Mauritzon 1936).

### III. Das Archespor und das Problem der Deckzelle.

Die Frage, ob eine Deckzelle vorhanden ist oder nicht, scheint in der Zusammenstellung von Schnarf (1931, S. 98) das Streitproblem der Embryologie der Begoniaceen zu sein. Ich werde deshalb, an Hand eigener Beobachtungen, diese Angelegenheit ein wenig eingehender behandeln.

Beobachtungen. Die Archesporzelle kann man bei *Begonia incana* mit vollkommener Gewißheit nur dann erkennen, wenn sie schon durch eine Zellschicht von der Nuzellusepidermis getrennt ist (Abb. 4). Sie ist die Embryosackmutterzelle.

Von den Nachbarzellen unterscheidet sie sich durch ihre Größe. Dann hat ihr Kern vor allem einen großen Nukleolus und sieht auch ein wenig anders wie die übrigen Zellkerne des Nuzellus aus. Die letzteren sind dunkler gefärbt, da sie ziemlich große „Körnchen“<sup>1)</sup> enthalten. Häufig ist es nicht leicht unter diesen einen größeren Nukleolus wahrzunehmen. Der Kern der E. M. Z. dagegen ist allgemein heller gefärbt, besitzt entweder solche „Körnchen“ überhaupt nicht oder, wenn sie vorhanden sind, dann gleichen sie bei weitem nicht der Größe nach dem Nukleolus. Letzterer ist gewöhnlich von einem helleren Hof umgeben.

Es ist auch charakteristisch, daß die E. M. Z. selbst heller ist als die sie umgebenden Zellen. Das erweckt den Anschein, als ob sie große Vakuolen hätte. In Wirklichkeit beruht das offenbar auf der eigentümlichen Konsistenz und auf den besonderen optischen Eigenschaften ihres Plasmas. Auch Sandt spricht von einem „stärkeren Glanz“ des Plasmas dieser Zelle.

Diskussion. Es scheint, daß die Archesporzelle bei *Begonia Schmidiana* ähnlicherweise erst ziemlich spät wahrnehmbar ist. Pastrana schreibt nämlich, daß man die E. M. Z. („megasporocyte“) gleich nach der Entstehung der Anlagen der Integumente als „the second cell below the epidermis“ (S. 372) erkennen kann.

Es ist auch fraglich, ob diejenigen Autoren, die von einer Deckzelle sprechen, wirklich die primäre Archesporzelle (Dahlgren 1927, S. 354) beobachten konnten. Sandt (S. 347) schreibt in dieser Angelegenheit folgendes: „Bei der ersten Krümmung der Samenanlage, wo die Integumente gerade an ihren Initialzellen kenntlich werden, ist der Nucellus noch völlig undifferenziert. Erst später, ungefähr auf dem Stadium der Fig. 5, tritt die Archesporzelle *a* durch den stärkeren Glanz ihres Plasmas und ihre Größe vor den anderen Zellen hervor. Sie hat vorher eine kleinere Schwesterzelle nach außen abgegliedert“<sup>2)</sup>. Aber die Fig. 5, auf die sich dieser Autor beruft, entspricht gänzlich den Verhältnissen auf der Textfigur 5 bei Pastrana, wie auch auf unserer Abb. 4 (ebenso Warmings Fig. 9, Taf. IX). Vorher ist aber der Nuzellus, wie Sandt selbst bemerkt, noch ganz

<sup>1)</sup> Färbungen, die eine Unterscheidung des Chromatins von den Nukleolen ermöglichen, habe ich nicht durchgeführt, weshalb ich mich auch über den Charakter dieser „Körnchen“ nicht äußere.

<sup>2)</sup> Von mir gesperrt.

undifferenziert. Die Behauptung von einer Deckzellenbildung scheint also eher eine Vermutung zu sein. Ebenso stellt sich die Sache bei Warming (1878), wenn wir nach seinen Abbildungen schließen sollen, dar. Dafür spricht auch die Tatsache, daß — worauf ich noch später zurückkommen werde — keine einheitliche Ansicht darüber besteht, in welchem Punkte des Nuzellus das Archespor angelegt wird.

Andererseits kann ich nicht die Meinung Schnarfs (1931, S. 98 und besonders 1927—29, S. 80) teilen, der bereit ist anzunehmen, daß Irmscher den unten besprochenen Anschauungen Jönssons beipflichtet, da er die Bildung einer Deckzelle nicht erwähnt. Doch wäre zu betonen, daß Irmscher sich auf Beobachtungen beruft, die an *Begonia manicata* gemacht worden sind, also an derselben Art, die auch von Sandt untersucht wurde<sup>1)</sup>. Die Darstellung Irmschers ist sonst ganz den entsprechenden Beschreibungen Sandts ähnlich. Bei beiden Autoren finden wir dieselbe Behauptung, das Archespor sei „die Endzelle einer axialen Zellreihe“. Dies läßt sich nur auf die primäre Archesporzelle beziehen. Gleichzeitig jedoch gebraucht Sandt stets den Ausdruck „Archesporzelle“ im Sinne der Embryosackmutterzelle, d. h. der sekundären Archesporzelle (Dahlgren 1927, S. 355). Wir haben deshalb keine Gewißheit, ob auch Irmscher diesen Ausdruck nicht in derselben Bedeutung gebraucht, wenn er behauptet, die Archesporzelle bilde vier Makrosporen. So hätten wir hier eine Übereinstimmung mit Sandt, nicht aber mit Jönsson.

Jönsson scheint also mit seinem Standpunkt ganz vereinzelt da zu stehen. Wenn dieser Autor vom Fehlen einer Deckzelle bei *Begonia tuberosa* berichtet, so meint er ausdrücklich, daß die (primäre) Archesporzelle direkt zu einer E. M. Z. wird. Im Gegensatz zu anderen untersuchten Begonienarten soll bei dieser Art die E. M. Z. unmittelbar unter der Nuzellusepidermis liegen (syndermal — nach Dahlgren 1927). Dies wäre übrigens nichts Außergewöhnliches, da solche Fälle auch innerhalb anderer Gattungen bekannt sind. So z. B. ist nach Oksijuk (1929, S. 37) die Samenanlage bei *Reseda alba* stets syndermal, während bei *Reseda lutea* und *Reseda odorata* Deckzellen gebildet werden. Ebenso

<sup>1)</sup> Es ist leider aus den Angaben Sandts nicht ersichtlich, welche Entwicklungsstadien er bei dieser Art untersucht hat.

soll unter den *Trillium*-Arten die Samenanlage bei *T. grandiflorum* syndermal sein, bei *T. cernuum* dagegen, apodermal (Heatley 1916, S. 428).

Es wäre uns jedoch einzig und allein auf Grund der Angaben Jönssons, die von niemandem bis jetzt bestätigt worden sind, unmöglich Ähnliches über die Gattung *Begonia* zu behaupten. Die Angaben dieses Autors scheinen Dahlgren (1927, S. 370) mit Recht sehr zweifelhaft zu sein. Die einzige Abbildung Jönssons (Taf. VII, Fig. 32), die ein junges tenuinuzellates Ovulum darstellt, unterscheidet sich vollkommen durch sein Aussehen von den entsprechenden Abbildungen aller anderen Autoren. Unwillkürlich liegt die Vermutung nahe, daß wir es hier vielleicht mit einem ähnlichen Falle zu tun haben wie bei *Plumbago*, wo man nach Dahlgren (1916, S. 47) fast mit Sicherheit behaupten kann, daß bei diesem Autor eine Verwechslung der Aufzeichnungen zweier Gattungen vorliegt. Eine solche Annahme ist nicht unwahrscheinlich, wenn man berücksichtigt, daß diese Abbildung bei Jönsson bloß eine von ca 300 ist, die sich auf etwa 90 verschiedene Arten beziehen. Ich möchte auch auf die Erwähnung bei Coulter und Chamberlain (1903, S. 76) hinweisen, nach der die Ursache vieler fehlerhafter Angaben hauptsächlich in den massenhaften Untersuchungen, die ein einziger Forscher „in the hasty examination“ durchführte, zu suchen ist.

Versuch einer Lösung des Problems. Aus obiger kritischer Übersicht der Literaturangaben geht hervor, daß die Archesporzelle bei den Begonien erst dann mit aller Gewißheit wahrnehmbar ist, wenn sie sich in der dritten Schicht des Nuzellus befindet (die Nuzellusepidermis mitgerechnet). Das ist übrigens eine nicht seltene Erscheinung (als Beispiele seien genannt: *Pachyrrhizus angulatus* und einige andere bei Singh und Shivapuri 1935, S. 429 erwähnte Papilionaceen; *Veltheimia viridiflora* — Stiffler 1925; *Pancratium maritimum* — Shadowsky 1925). Dies zwingt uns allerdings nicht zur Folgerung, daß das Archespor in dieser (dritten) Schicht entsteht, wie es beispielsweise Baranov und Poddubnaja (1925, S. 6) von *Ixiolirion tataricum* behaupten, und daß es bestimmt nicht subepidermaler Herkunft ist. Das bedeutet nur, daß wir mit den uns zur Verfügung stehenden Mitteln die Archesporzelle erst in der dritten Schicht unterscheiden können. Um festzustellen, wie diese Lage der Zelle

zustandegekommen ist, muß man in jedem einzelnen Falle spezielle Untersuchungen anstellen, da solche Verhältnisse auf verschiedene Weise entstehen können (vgl. Dahlgren 1927, S. 352).

Freilich bot sich mir bei *Begonia incana* keine Gelegenheit, die hier ausschlaggebenden Teilungsstadien zu beobachten. Doch können, glaube ich, die von mir gemachten Beobachtungen, obgleich sie keinen endgültigen Charakter haben, zur Klärung dieser Frage beitragen.

So konnte ich in einigen Fällen (Abb. 2) unter der Nuzellusepidermis eine Zelle bemerken, die sich von den Nachbarzellen nicht durch ihre Größe, sondern durch ihr Aussehen unterscheidet. Ihr Plasma sowie der Zellkern waren heller. Auch war der Kern und insbesondere der von einem hellen Hof umgebene Nukleolus etwas größer als bei den übrigen Nuzelluszellen. Wie wir oben gesehen haben, sind dieselben Eigenschaften auch für die E. M. Z. in ihren jüngsten Stadien kennzeichnend.

In der Literatur sind Fälle bekannt, in welchen eine subepidermale Archesporzelle — hauptsächlich, wenn nicht gar ausschließlich — durch den etwas größeren Kern und Nukleolus differenziert erscheint (z. B. *Malvaceae*, Stenar 1925, S. 14; *Epirrhizanthes*, Wirz 1910, S. 10). Auch kann es vorkommen, daß die Archesporzelle sich durch ein weniger dichtes Plasma unterscheidet (z. B. *Potamogeton natans*, Holferty 1901, S. 341), obwohl es gewöhnlich dichter ist und sich intensiver färbt (Schnarf 1927—29, S. 65), ja manchmal wird sogar die Archesporzelle eher durch die Dichte des Plasmas als durch ihre Dimensionen gekennzeichnet (vgl. Maheshwari und Singh 1930, S. 32 über *Asphodelus tenuifolius*).

Zu betonen wäre auch, daß die Verhältnisse bei der von mir untersuchten Art keineswegs so labil sind, wie beispielsweise bei *Celastrus orbiculatus* (Andersson 1931, S. 10), wo etwa ein Drittel der Ovula syndermal, die übrigen aber apodermal sind (vgl. Dahlgren 1927, S. 411). Wenn ich bisweilen in den späteren Stadien ein unmittelbares Anliegen der E. M. Z., bzw. der Tetrade an den mikropylaren Teil der Nuzellusepidermis beobachten konnte (z. B. Abb. 9), so geschah dies nur in ganz vereinzelten Ausnahmefällen, die bei weitem seltener waren als die oben erwähnten, in welchen ich eine Zelle subepidermal differenziert in frühen Stadien gesehen habe.

Alles scheint dafür zu sprechen, daß wir hier mit einer schwer wahrnehmbaren subepidermalen (primären) Archesporzelle zu tun haben. Diese Interpretation dürfte auch mit der Beobachtung, welche ich einige Male gemacht habe, übereinstimmen, daß sich zwei am Nuzellusscheitel übereinanderliegende Zellen durch den etwas helleren Kern, wie auch größeren Nukleolus (besonders den der inneren Zelle) von den Nachbarzellen unterscheiden. Wir haben hier wahrscheinlich mit einer sehr jungen E. M. Z. (einer sekundären Archesporzelle) und ihrer schwesterlichen Deckzelle zu tun (Abb. 3).

Zusammenfassend können wir sagen, daß die Samenanlage bei *Begonia incana* apodermal ist, und daß diese Beschaffenheit höchstwahrscheinlich durch Deckzellenbildung zustandekommt. Ähnliche Verhältnisse scheinen den Begonien gemeinsam zu sein. Dasselbe wurde unlängst bei *Hillebrandia sandwicensis* festgestellt (Mauritzon 1936).

Einige Ausnahmefälle. Es ist eine sehr stabile Eigenschaft des Ovulums von *Begonia incana*, daß die E. M. Z. und ihre Abkömmlinge (bis etwa zum zweikernigen Embryosack) vom Mikropylarteil der Nuzellusepidermis durch eine einzige Zellschicht getrennt sind. Fälle, in welchen wir zwei Schichten beobachten (Abb. 10), die vielleicht infolge tangentialer Teilung der Deckzelle entstanden sind, kommen ebenso vereinzelt und ausnahmsweise vor, wie die, wo die Deckzelle gänzlich zu fehlen scheint.

Etwas häufiger, obwohl ebenso vereinzelt, konnte ich die E. M. Z., bzw. eine der Tetradenzellen, seitlich unmittelbar der Nuzellusepidermis anliegen sehen. Eine solche Unterbrechung der oben erwähnten trennenden Schicht, die aber stets ganz schmal ist, beobachtete ich sowohl an der konkaven (Abb. 5) als auch an der konvexen Seite.

Warming (1878, S. 227) war der Ansicht, daß das Archespor an der konvex gekrümmten Seite angelegt wird, obwohl seine Abb. 8, Taf. IX, auf welche er sich beruft, zu einer solchen Behauptung kaum berechtigt. Oben (S. 62) zitierte ich die entgegengesetzte Meinung von Sandt und Irmscher. Diejenigen Verhältnisse, welche die erwähnte Abb. 5 darstellt, scheinen in gewisser Hinsicht zugunsten der Anschauung Sandts, die Archesporzelle sei die Gipfelzelle einer axialen Zellreihe, zu sprechen.

#### IV. Diakinese.

Angaben über die meiotische Prophase bei Begonien finden wir nur in der Abhandlung von Maria Pastrana (1932)). Aus diesen geht hervor, daß die Diakinese bei *Begonia Schmidiana* einen ganz eigentümlichen Verlauf hat. Gleich nach der Konjugation („synapsis“) der Chromosomen, oder richtiger gesagt, der Fäden („the paired threads“) sollen nämlich die Partner auseinandergehen. Die Wiedervereinigung der Einzelchromosomen, die inzwischen einer Kondensation unterlagen, soll nach dem Verschwinden der Kernmembran eintreten. Gemini erscheinen erst in der späteren Prometaphase, wenn die Spindel schon deutlich hervortritt, und machen bald die Teilung durch (vgl. die Fig. 59—61 sowie 31—34 bei Pastrana. In ihrem Texte heißt es: „...the pairs loosen, each thread becoming a chromosome... During the formation of the spindle the homologous chromosomes become arranged in pairs“, S. 374. Es ist auffallend, daß in ihrer Zusammenfassung dieses eigentümliche Verhalten der Partner gar nicht erwähnt wird).

Fälle weitgehender Trennung der Chromosomenpaare in der Diakinese sind auch anderswo bekannt. Über solche berichten z. B. Strasburger (1909 b, 1910, S. 246) und Schürhoff (1925). Bei *Begonia Schmidiana* fällt es nun auf, soweit man nach den Abbildungen schließen kann, daß hier weder eine einseitige Verbindung der Chromosomenenden, wie z. B. bei *Daphne mezereum* (Strasburger 1909 b, S. 73), noch eine gewisse Annäherung der Partner im Laufe der Diakinese (vgl. *Saxifraga decipiens*, Schürhoff 1925, S. 445) und erst recht nicht eine Anordnung von einer Anzahl von Chromosomen in deutliche Gemini (wie z. B. bei *Urtica dioica*, Strasburger 1910, Taf. VII, Abb. 6) stattfinden soll. Auf den Abbildungen Pastranas (Fig. 57 u. 29—31) treten nur Einzelchromosomen auf. Dies gäbe ungefähr ein Bild, wie man es in der E. M. Z. mancher apogamer Pflanzen beobachten kann (vgl. Holmgren 1919, S. 23), wenn nicht die Tatsache zuträfe, daß es dennoch bei *Begonia Schmidiana* kurz vor der Metaphase zur Ausbildung von echten Gemini kommt. Diese eigenartige Geminibildung dürfte aber ganz anderer Art sein, wie z. B. die „Paarung der Chromosomen in der späten Diakinese“ von *Ribes Gordonianum* (Tischler 1927), da



bei diesem letzteren während der Gliederung der Spiremafadens keine Rede von „irgendwelchen Parallelfadensystemen“ ist.

Wir hätten hier also mit einer vorübergehenden Dekonjugation (Desynapsis, Sharp 1934 S. 273) zu tun. Die gleiche Erscheinung einer zeitweiligen Trennung der gepaarten Chromosomen ist an zoologischen Objekten genauer beschrieben worden. Die Rekongugation der Partner tritt dann entweder im Laufe der Diakinese (z. B. bei der Gallwespe *Rhodites rosae*, Hogben 1920), oder erst in der Prometaphase ein (bei *Lepidosiren paradoxa*, Agar 1911). Letzteres würde, nach obigen Ausführungen, bei *Begonia Schmidtiana* zutreffen.

Doch muß bemerkt werden, daß ein genaues Beobachten und Zählen der Segmente im Stadium, welches direkt der Trennung der homologen Fäden vorangeht, bei *Begonia Schmidtiana* recht schwierig sein soll, obwohl es sich nur um eine geringe haploide Chromosomenzahl handelt. Das geht sowohl aus dem Texte (S. 370) als auch aus den Abbildungen von Pastrana hervor. Jedenfalls verdient dieses Stadium (Abb. 28 und 56 bei Pastrana) kaum als „diakinesis“ (ebenda, S. 370 u. 384) bezeichnet zu werden, da es eher den Eindruck eines früheren macht. In der eigentlichen Diakinese von *Begonia Schmidtiana* kommen also keine Gemini vor.

Wenn nun bei dieser einzigen untersuchten Begonienart die Diakinese so eigenartig auftreten sollte, so scheint die genaue Untersuchung eben dieses Stadiums die interessanteste Frage bei der Behandlung der meiotischen Prophase von *Begonia incana* zu sein. Ich widme deshalb den früheren Meiosestadien nur einige lose Bemerkungen.

Beobachtungen. Die Synizesis bei *Begonia incana* (Abb. 11 u. 12) scheint das am längsten andauernde Stadium der Meiose zu sein, da ich in einem und demselben Fruchtknoten alle Entwicklungsstadien von früher Postsynizesis bis zur Makrosporenauslese antraf, während dagegen in den entsprechenden Fruchtknoten die Synizesis fast allein vorkommt, und außer ihr konnte ich nur die Nachbarstadien wahrnehmen.

Die E. M. Z. zeichnet sich schon zur Zeit der Synizesis durch ihre Größe und ihr dichtes, körniges Plasma aus. In der im Kerne zusammengeballten Chromatinmasse kann man dunklere, fadenartige, ziemlich dicke Gebilde sehen, deren Umrisse jedoch ver-

schwommen sind. Manchmal hat man den Eindruck, als ob in dem Chromatinknäuel ein ovales „Körperchen“ läge, gleichzeitig aber sieht man auch den Nukleolus außerhalb des Knäuels. Eine solche Lage des Nukleolus, nicht innerhalb sondern außerhalb der Chromatinmasse, und zwar gewöhnlich in ihrer Nähe, scheint am häufigsten vorzukommen. Der Nukleolus ist dann entweder schwächer (Abb. 11) oder intensiver (Abb. 12) als das Chromatin gefärbt.

Für die postsynizetischen Stadien (Abb. 13—17) ist gewöhnlich das Auftreten eines zweiten Gebildes innerhalb des Kernes charakteristisch. Dieses Gebilde steht mit den Chromatinfäden in engem Zusammenhang und kann ein verschiedenes Aussehen haben. Häufig ähnelt es einem zweiten kleineren Nukleolus (Abb. 16, 17, vielleicht auch 15) und ist oft schwächer gefärbt. Ein andermal hat man den Eindruck, als ob es nur ein Knoten von Fäden sei, wie wir dies auf Abb. 14 sehen (wo jedoch dieser Knoten in Wirklichkeit in einer anderen optischen Ebene wie der Nukleolus liegt). Manchmal wiederum sieht es sichelförmig aus (Abb. 13).

Für die Pollenmutterzellen von *Begonia Schmidtiana* gibt Pastrana an<sup>1)</sup>, daß der Nukleolus vor der Synzesis birnförmig u. dgl. aussehen kann. In der E. M. Z. von *Begonia incana* aber sind dies postsynizetische Stadien, wie aus der Gestalt der Integumente und aus dem Vergleich mit anderen Entwicklungsstadien desselben Fruchtknotens hervorgeht. Dabei handelt es sich hier nicht um den eigentlichen Nukleolus, obwohl die Fäden auch mit diesem im Kontakte stehen, sondern um dasjenige kleinere Gebilde, mit welchem sie inniger verbunden sind, und das vor der Diakinese verschwindet. Ich habe nie in der Diakinese mehr als einen Nukleolus beobachtet. Auch diese Verhältnisse gestalten sich anders wie bei *Begonia Schmidtiana*. Bei dieser sieht man nämlich auf den Abbildungen der „Diakinese“ manchmal zwei Nukleolen (vgl. Abb. 57 bei Pastrana), während in den vorangehenden Stadien nie mehr als einer erscheint.

In den erwähnten postsynizetischen Stadien konnte ich auch bisweilen den Doppelcharakter mancher Fäden bemerken (Abb. 15). Doch berühre ich nicht die Frage nach dem Modus der Gemi-

<sup>1)</sup> Die Verfasserin erwähnt ausdrücklich (S. 373), daß der Verlauf der Prophase in den Pollenmutterzellen und in der E. M. Z. identisch ist.

nientstehung, da die Bilder, die ich beobachten konnte, nicht so deutlich waren, um genügende Sicherheit zu Schlußfolgerungen zu bieten.

Was nun das letzte Stadium der Prophase, die Diakinese, betrifft, so ist es in der E. M. Z. von *Begonia incana* gut ausgebildet. Aus den Bildern, die sich uns hier darbieten (Abb. 18—21), geht hervor, daß wir es hier mit typischen Doppelchromosomen zu tun haben, die an der Peripherie des Zellkernes zerstreut liegen. Ihre Doppelstruktur tritt in der Mehrzahl der Fälle recht deutlich hervor. Man kann verfolgen, wie nach und nach „die Gemini die Gestalt annehmen, die sie in der Metaphase dieser Teilung aufweisen“, was eben laut Bělař (1928, S. 169) die Diakinese charakterisiert. Auch sieht man, daß die Gemini in der Prometaphase (Abb. 26) die Gestalt kondensierter Klümpchen haben, die aber noch ihren Doppelbau verraten.

Ebenso ist die Diakinese in den Pollenmutterzellen der von mir untersuchten Art<sup>1)</sup> in typischer Weise ausgebildet, wie aus den Abb. 23 und 24 hervorgeht. Auf Abb. 24 kann man deutliche Gemini in der späten Diakinese wahrnehmen, wenn die ersten schwachen Spuren der Spindelfasern bereits erkennbar sind, und der Nukleolus sich schwächer zu färben beginnt. Ich muß jedoch hervorheben, daß ich in der Diakinese der E. M. Z. eine schwächere Färbbarkeit des Nukleolus beobachtete, ohne dabei einen deutlichen Zusammenhang mit der Entwicklungsphase festzustellen.

Ich konnte endlich in der Diakinese der E. M. Z. sogar die Längsspalten in den Einzelchromosomen bemerken, die auf die Vorbereitung zur II. Teilung hindeuten. Sie treten ziemlich deutlich hervor, obwohl nur bei einer verhältnismäßig kleinen Anzahl von Doppelchromosomen (Abb. 18—21). Ähnliche Wahrnehmungen wurden auch in vielen anderen Fällen (vgl. z. B. bei *Lopezia*, Täckholm 1914) gemacht, wenn sich auch die Sachlage häufiger so verhält wie bei *Begonia Schmidtiana*, bei welcher die ersten Spuren der Längsspaltung der Chromosomen erst in der Anaphase der I. Teilung sichtbar werden (Pastrana).

Der Verlauf der Diakinese ist also bei *Begonia incana* ganz normal. Nach den Figuren schließend, die ich in den Pollenmutter-

<sup>1)</sup> Die männlichen Blüten wurden im Carnoy's Gemisch (1:2), so wie dies in der Einleitung angegeben wurde, fixiert.

zellen zweier anderer Begonienarten gesehen habe, dürften bei diesen etwa dieselben Verhältnisse vorhanden sein. Es sollte die Aufgabe zukünftiger Untersuchungen sein, dieses Stadium an mehreren Begonienarten kennen zu lernen. Allerdings unterliegt es schon jetzt keinem Zweifel, daß die Ergebnisse Pastranas bezüglich der *Begonia Schmidtiana* keineswegs ausschlaggebend für die ganze Gattung *Begonia* sind.

Die Chromosomenzahl. Obwohl die Diakinese bei *Begonia incana* gut ausgebildet ist, stößt das Feststellen der Chromosomenzahl auf gewisse Schwierigkeiten. Die Gemini (besonders in den Pollen-M. Z.) liegen oft dem Nukleolus an und können leicht übersehen werden. Dann sind sie in den folgenden Teilungsstadien gewöhnlich aneinander geklebt. Auch das dichte Plasma, das intensiv sich färbende Körner enthält, begünstigt kaum das Zählen der verhältnismäßig kleinen Chromosomen.

Trotz alledem würde ich auf Grund einer Reihe von Beobachtungen die haploide Chromosomenzahl  $n = 14$  als die wahrscheinlichste bezeichnen. Diese Zahl konnte ich in der Diakinese der E. M. Z. feststellen (Abb 18, 20, 21) und dann auch im Kerne der chalazalen Dyadenzelle wiederfinden (Abb. 22).

Auch in den Pollen-M. Z. traf ich auf dieselbe Zahl  $n = 14$ , und zwar in der Diakinese (Abb. 23 u. 24), wie auch in der Metaphase der I. Teilung (Abb. 25).

Über die Chromosomenzahlen der Begonienarten liegen die Angaben von Heitz (1927) vor. Der Verfasser betont jedoch selbst, daß diese nicht genau sind, da die Zählungen bei der Gattung *Begonia* wegen der geringen Größe ihrer Chromosomen erhebliche Schwierigkeiten bereiten. Für *Begonia incana* finden wir die Zahl ( $2n$ ) „ $> 30/40$ “ angeführt, nicht aber 28, wie man aus meinen Angaben folgern könnte. Ich muß hiezu bemerken, daß auch die Chromosomenzahl, die Pastrana für *Begonia Schmidtiana* ( $2n = 13$  und 12) angibt, mit den Angaben von Heitz ( $2n = 29-32$ ) nicht übereinstimmt. Dieser Gegensatz muß jedoch nicht unbedingt dafür sprechen, daß, wie Pastrana (S. 379) meint, Heitz mit einer anderen Art zu tun gehabt hat. Ausgeschlossen ist es ja nicht (vgl. die in der Einleitung angeführten Bemerkungen über das Material), aber es ist auch möglich, daß hier ganz andere Momente in Betracht kommen. Ich weise nur auf die Chromosomenrassen innerhalb derselben Art hin, die, wie

es scheint, auch aneuploid sein können (vgl. z. B. die Zahlen in der Zusammenstellung bei Tischler 1935, S. 26—27). Auch dürfte vielleicht nicht ohne Bedeutung sein, daß die Begonien in den Gärten häufig nur vegetativ vermehrt werden (vgl. die Verschiedenartigkeit der Chromosomenzahlen bei *Hyacinthus orientalis*, de Mol 1921).

Über die Zytologie der Begonien sind wir allerdings heute noch zu wenig informiert um uns ein bindendes Urteil erlauben zu können. Ich möchte nur hinzufügen, daß die von mir untersuchten Exemplare sich durch nichts besonderes bei geschlechtlicher Fortpflanzung auszeichnen.

#### V. Die Reifungsteilungen der E. M. Z. und die Makrosporenauslese.

Über den Verlauf der beiden meiotischen Mitosen in der E. M. Z. der Begonien liegen in der Literatur keine Erwähnungen vor, ausgenommen die überwiegend rein zytologischen Angaben von Pastrana. Es ist nur soviel bekannt, daß vier (Sandt, Irmscher, Pastrana), bzw. „mindestens drei“ (Jönsson) Makrosporen gebildet werden, von welchen die chalazale zum Embryosack wird (Sandt, Irmscher, vielleicht auch Jönsson) und die übrigen zugrundegehen.

Eine genauere Schilderung der Makrosporenbildung und -auslese bei *Begonia incana* wird bei anderer Gelegenheit gegeben werden. Ich beschränke mich deshalb an dieser Stelle hauptsächlich auf solche Einzelheiten, die unentbehrlich sind, um den weiteren Folgerungen nachgehen zu können.

Beobachtungen. Mit der Auflösung der Kernmembran tritt die Prometaphase ein. Es findet die Spindelbildung statt. Die zerstreuten Chromosomen (Abb. 26) können diesem Stadium den Anschein einer unregelmäßig verlaufenden Anaphase verleihen. Doch zeugen ihre Gestalt und Größe davon, daß wir Gemini vor uns haben, die sich zur Äquatorialebene begeben und sich in der typischen Weise anordnen.

Die dadurch eingetretene Metaphase (Abb. 27) sieht man auf den Schnitten verhältnismäßig häufig, während die Anaphase eher eine Seltenheit ist. Scheinbar gehen die Chromosomen schnell gegen die Pole zu auseinander.

Dieser ganze Vorgang spielt sich ausschließlich in der mikropylaren Hälfte der E. M. Z. ab. Die aus der Teilung hervorgegangenen zwei Dyadenzellen unterscheiden sich voneinander erheblich durch ihre Größe. Die chalazale ist von Anfang an wenigstens zweimal so groß wie ihre Schwesterzelle.

Die Interkinese (Abb. 28) ist, ähnlich wie bei *Begonia Schmidiana* (Pastrana), ein gut ausgebildetes Stadium. In jedem Kerne erscheint wieder ein Nukleolus (zwei Nukleolen in einem der interkinetischen Kerne bemerkte ich einmal in einer Pollen-M. Z.). Es ist gewöhnlich ziemlich schwierig zu dieser Zeit die einzelnen Chromosomen mit genügender Sicherheit zu unterscheiden. Sie unterliegen einer Längsspaltung in zwei Hälften, die in verschiedenem Grade voneinander entfernt sind. Oft ist es unmöglich, ihre gegenseitige Zugehörigkeit wahrzunehmen. Sie können auch teilweise durch chromatische „Brücken“ verbunden sein. Erst im Laufe der Vorbereitung zur II. Teilung treten beide Hälften jedes Chromosoms zusammen. Die Einzelchromosomen werden deutlich sichtbar. Sie sehen dann etwa wie Gemini in der Diakinese aus, sind aber bedeutend kleiner (Abb. 22 und 28).

Der Abb. 29 verdanken wir einen Begriff von der zweiten Teilung. Soweit von der großen chalazalen Dyadenzelle die Rede ist, ist es auch diesmal die äußere Hälfte der Zelle, in der der Teilungsprozeß verläuft. Die chalazale Makrospore ist deshalb schon im Momente ihrer Entstehung bedeutend größer als die übrigen. Die Tetrade (Abb. 30) ist weitaus am häufigsten dreizellig, aber vierkernig, da die mikropylare Zelle zwei Makrosporenkerne enthält (wie z. B. *Rosularia sempervivum*, Mauritzon 1933, S. 23—24).

Diskussion. Die Inäqualität der I. Teilung der E. M. Z. wird als häufige Erscheinung angesehen (vgl. Schürhoff 1926, S. 277). Aber so deutliche Größenunterschiede, wie sie von aller Anfang an bei den Dyadenzellen von *Begonia incana* wahrzunehmen sind, treten, wie es scheint, viel seltener auf. Wenn wir beispielsweise diejenigen Arten genauer betrachten, welche Schnarf (1927—29, S. 100) in seiner vortrefflichen Zusammenstellung zur Illustrierung einer ähnlichen Teilung der E. M. Z. in »zwei deutlich verschieden große Zellen« anführt, dann sehen wir folgendes Bild.

Von den neun Beispielen, die dieser Verfasser nennt (*Helianthemum Rhodax* kommt in dieser Verzeichnung augenscheinlich irrümlicher Weise vor; vgl. Fischer 1880, S. 27 und seine Taf. III, Fig. 30–34), ist nur bei *Astrantia major* (Håkansson 1923, S. 25) die chalazale Dyadenzelle »viel länger« als die mikropylare. Bei den übrigen dagegen sind die Größenunterschiede entweder unerheblich (»etwas größer« u. dgl.) wie bei *Platanthera bifolia* (Afzelius 1922, S. 371) und wahrscheinlich auch bei *Valeriana officinalis* (Asplund 1920, S. 32), oder wird der Grad dieser Größendifferenz von den Autoren nicht genauer präzisiert (»eine größere untere« u. dgl.), wie bei *Mercurialis annua* (Strasburger 1909 a, S. 521), *Gasteria* sp. (Stiffler 1925, S. 211) und *Hydrostachys* sp. (Palm 1915, S. 56). Dann liegen noch Fälle vor, in welchen keine Erwähnungen über Größenverhältnisse beim entsprechenden Verfasser zu finden sind, und nur Abbildungen einen Grund zu Schlußfolgerungen über Teilungsinäqualität bieten (so: *Cistus laurifolius*, Chiarugi 1925, Taf. VII, Abb. 33; *Canna indica*, Wiegand 1900, Abb. 30). Endlich haben wir bei *Adonis autumnalis* (Souèges 1912, S. 222) nicht die Gewißheit, ob die Größendifferenz nicht nachträglich entstanden ist.

Diese Verhältnisse sind keineswegs bloßer Zufall. In der Literatur treffen wir nicht allzu häufig solche Fälle, in welchen die Zellteilung der E. M. Z. und der chalazalen Dyadenzelle so ausgesprochen inäqual ist, wie eben bei *Begonia incana* oder z. B. bei *Antennaria dioica* (Juel 1900). Liegen aber solche Fälle vor, dann ist die chalazale Makrospore von Anfang an weitaus besser als die übrigen »ausgerüstet«. Der ganze Teilungsgang scheint dann darauf hinzuweisen, daß die äußeren Makrosporen schon von vornherein der Vernichtung ausgesetzt sind, und nur die chalazale zur Weiterentwicklung bestimmt ist. Auch die Unterdrückung der Wandbildung zwischen den beiden mikropylaren Makrosporenkernen, die auch bei *Hillebrandia sandwicensis* stattfindet (Mauritzon 1936), wird als Zeichen ihrer Prädestinierung zur Degeneration aufgefaßt (vgl. Brenner 1922, S. 19; Schnarf 1927–29, S. 101, 105).

Und tatsächlich werden, bevor noch die chalazale Makrospore von *Begonia incana* in die erste Teilung der Embryosackbildung eintritt, die übrigen gänzlich desorganisiert (Abb. 31, 32).

Wie sich in dieser Hinsicht andere Begonienarten verhalten, ist nicht genau bekannt. Jedenfalls finden wir in der Literatur keine Erwähnung, daß außer der chalazalen irgendeine andere Makrospore zum Embryosack werden könnte. Nur bei *Begonia Schmidiana* (Pastrana) ist diese Angelegenheit ganz im Unklaren. Sie erfordert jedoch eine genauere Besprechung, da die Frage der Weiterentwicklung der Makrosporen bei dieser Begonienart mit dem Problem des Geschlechtschromosoms aufs innigste verbunden ist.

Das Problem des Geschlechtschromosoms bei einer Begonie im Lichte der embryologischen Tatsachen.

Pastrana (1932) hat bei *Begonia Schmidiana* eine interessante Erscheinung beschrieben, und zwar soll bei dieser Art eine sonderbare Differenz in der Chromosomenzahl innerhalb jedes Individuums vorkommen. Aus den nahezu 1800 angestellten Zählungen geht dieser Forscherin zufolge hervor, daß die männlichen Blüten (Blütenstiel, -hülle u. s. w.) die Chromosomenzahl  $2n = 12$  besitzen, während alle übrigen Teile des Pflanzenorganismus (Wurzel, Blätter u. s. w. samt den weiblichen Blüten) die Zahl  $2n = 13$  haben. Die Sache verhält sich so, als ob in allen Fällen der Entstehung einer männlichen Blütenanlage eine »somatische Reduktion« der Chromosomenzahl von 13 auf 12, auf näher nicht bestimmte Weise, eintreten würde. Die männlichen Blüten entbehren also des unpaaren 13-ten Chromosoms, das, wie die Verfasserin vermutet, ein Geschlechtschromosom ist. Dagegen kommt es in allen diploiden Zellkernen der weiblichen Blüten vor und soll stets dem Chromosomensatz des Eikernes eigen sein. Die weibliche Gamete hätte also die Zahl  $n = 7$ . Da aber die männlichen Gameten alle 6-chromosomig sind, wird nun die Zygote die Zahl  $2n = 13$  besitzen. Die obigen Verhältnisse würden sich also stets von Generation zu Generation wiederholen.

Obwohl das Vorkommen der Geschlechtschromosomen bei den diözischen Blütenpflanzen eine nicht allzu häufige Erscheinung ist (vgl. Correns 1934, S. 1160), wurden diese doch seit dem Jahre 1923 mehrere Mal beobachtet. Dagegen dürfte unter den monözischen Blütenpflanzen, soweit mir bekannt, der Fall *Begonia*



*Schmidtiana* der erste, und vielleicht auch der einzige sein. Freilich kann man theoretisch gegen die obige Interpretation von Pastrana nichts Wesentliches einwenden. Die Möglichkeit einer recht frühzeitigen geschlechtlichen Trennung im Sporophyten der homophytischen Blütenpflanzen wird nicht bestritten (Sharp-Jaretsky 1931, S. 542). Es fehlen auch Gründe für die Behauptung, daß in gewissen Fällen eine solche Geschlechtssonderung mit dem Vorkommen eines Geschlechtschromosoms nicht zusammenhängen könnte. Doch als Prüfstein für die Richtigkeit der Erwägungen von Pastrana gelten eben gewisse embryologische Tatsachen, die aber von der Verfasserin übergangen worden sind.

Nach Pastrana (S. 375, 379 sowie 380) begibt sich das unpaare Chromosom während der I. Teilung stets zum mikropylaren Pol. Infolgedessen enthalten von den vier entstandenen Makrosporen beide mikropylare immer in ihrem Kerne je 7 Chromosomen, während in der chalazalen und ihrer Schwesterzelle sich nur je 6 befinden (Pastrana schreibt über die I. Teilung: »...the odd chromosome is found to pass to the pole nearest the micropyle«, S. 375; weiter über die Makrosporenkerne: »...the two nuclei nearest the micropyle having 7 chromosomes each, and the two inner nuclei 6 chromosomes«, S. 380). Es ist jedoch ganz unwahrscheinlich, daß eine der äußeren Makrosporen bei *Begonia Schmidtiana* zum Embryosack werden könnte. Dagegen spricht das Aussehen der Tetrade auf Abb. 65 von Pastrana, die übrigens unserer Abb. 30 ziemlich ähnlich ist.

Wäre aber auch die Keimung einer von den zwei äußersten, mikropylarwärts gelegenen Makrosporen möglich, so würden wir sofort auf einen anderen Widerspruch stoßen. In einem Embryosack, der aus einer 7-chromosomigen Makrospore entstand, müßte der Zentralkern (sekundäre Embryosackkern) 14 Chromosomen enthalten, da er aus der Verschmelzung zweier Polkerne mit je  $n = 7$  hervorging. Indessen finden wir bei Pastrana in ihrer Zusammenstellung der Zählungsergebnisse (Tab. I., S. 366) eine Rubrik, die die Aufschrift trägt: »Endosperm. 13 Chrom.«. Dies kann sich bloß auf den Zentralkern (»Endosperminitialkern«), aber nicht auf das Endosperm selbst beziehen. Dieses letztere, aus der Verschmelzung des Zentralkerns mit einem Spermakerne entstanden, sollte im Falle *B. Schmidtiana* 18, 19 oder gar 20,

jedenfalls nicht 13 Chromosomen besitzen. Es besteht nämlich kein Grund zur Annahme, daß diese Art einen andern als den normalen achtkernigen Embryosack besitzt, wie dies, soweit bekannt ist, bei anderen *Begonia*-Arten der Fall ist.

Die Entstehung eines solchen Embryosackes, dessen Eikern  $n = 7$ , der Zentralkern aber 13 Chromosomen besitzen würde, könnten wir uns nur dann erklären, wenn die Entwicklung bei *Begonia Schmidtiana* nach dem Typus *Smilacina* (McAllister 1909, 1914) oder nach dem ähnlichen, unlängst beschriebenen »*Leontodon*-Typus« (Bergman 1935) stattgefunden hätte. In diesem Falle müßten die Zellmembranen, welche die vier Makrosporen voneinander trennen, einer Auflösung unterliegen, und alle vier Makrosporenkerne würden dann (wie bei dem *Lilium*-Typus) an der Bildung des Embryosackes teilgenommen haben. Der Eiapparat und der mikropylare Polkern würden dann Abkömmlinge der zwei äußersten Makrosporen (mit je  $n = 7$ ) sein, die Antipoden und der chalazale Polkern dagegen würden aus den zwei inneren Makrosporen (mit je  $n = 6$ ) entstanden sein. Dann hätten wir keinen Widerspruch zwischen den verschiedenen Angaben von Pastrana.

Es ist zwar bekannt, daß innerhalb derselben Gattung Arten mit verschiedenem Entwicklungstypus des Embryosackes vorkommen. Als Beispiele solcher Dikotyledonen seien genannt: *Euphorbia* (Modilewski 1910), *Salix* (Chamberlain 1897, Håkansson 1929), *Erigeron* (Holmgren 1919, S. 21), *Impatiens* (Longo 1910, Ottley 1918). Auch kann man für die Gattung *Begonia* von vornherein eine ähnliche Eventualität nicht ausschließen. Es ist jedoch höchst zweifelhaft, ob gerade bei *Begonia Schmidtiana* die Embryosackentwicklung wirklich nach obigem Schema verläuft. Es ist eine bekannte Tatsache, daß beim Vorkommen vorübergehender Zellmembranen die Tetrade durch das Fehlen deutlicher Größenunterschiede und das einheitliche Aussehen ihrer Makrosporen gekennzeichnet wird (vgl. auch *Majanthemum bifolium* u. a. Stenar 1935; *Peperomia blanda*, Häuser 1916). Dagegen treten auf der erwähnten Abbildung 65 von Pastrana diese Unterschiede allzu deutlich hervor (sie sind sogar in der Dyade erkennbar, Abb. 62 von Pastrana).

Daraus sollte aber folgen, daß das unpaare Chromosom bei *Begonia Schmidtiana* nicht als Geschlechtschromosom gelten

kann, da es laut Pastrana ausschließlich in solchen Makrosporen lokalisiert ist, die keine Aussicht auf eine weitere Entwicklung zu haben scheinen. Würden alle Wahrnehmungen dieser Verfasserin zutreffen, so hätten wir es hier vielleicht mit einem sehr interessanten Eliminierungsmodus eines Chromosoms aus dem Satze zu tun. Leider informiert uns Pastrana weder darüber wie es sich mit der Chromosomenzahl in der Nachkommenschaft verhält noch wie der Entwicklungsgang der Embryosackbildung in Wirklichkeit verläuft.

Die Untersuchungen von Pastrana, welche sich auf die weiblichen Blüten beziehen, erfordern also eine Wiederholung und Ergänzung. Eine solche Nachprüfung würde uns jedoch nur dann vergleichbare Ergebnisse liefern, wenn sie an Hand desselben Materials angestellt werden könnte, das auch der Verfasserin zur Verfügung gestanden hat (vgl. die oben erwähnte abweichende Chromosomenzahl, Heitz 1927). Einstweilen sind wir aber kaum berechtigt zu behaupten, daß das unpaare Chromosom bei *Begonia Schmidtiana* ein Geschlechtschromosom ist, oder, daß innerhalb der Gattung *Begonia* ein anderer Entwicklungstypus des Embryosackes als der normale vorkommt.

## VI. Embryosackbildung.

Innerhalb eines und desselben Fruchtknotens können öfters bei *Begonia incana* alle Entwicklungsstadien der Embryosackbildung, jedoch nur ganz selten die Teilungsstadien, wahrgenommen werden. So konnte ich auf den Schnittserien durch einen Fruchtknoten, der einer geöffneten jungen Blüte angehörte, Stadien von, wenn auch nicht häufigen, Tetraden und zahlreicheren einkernigen Embryosäcken bis zu den Reifungsphasen des achtkernigen Embryosackes samt der Bildung des sekundären Embryosackkernes antreffen. Dies bedeutet eine erhebliche Differenz in den Entwicklungsstadien, die größer ist als beispielsweise bei *Colchicum autumnale*, bei dem Heimann-Winawer (1919, S. 26) betont, daß »die Entwicklung der verschiedenen Samenanlagen innerhalb eines Fruchtknotens sehr ungleichmäßig ist«.

Wie sich in dieser Hinsicht andere Begonienarten verhalten, ist unbekannt. Es liegen auch keine Beschreibungen derjenigen Stadien vor, die dem achtkernigen Embryosacke vorangehen. Ich werde mich deshalb nur beim Besprechen dieses letzteren auf

Angaben von Hofmeister, Sandt, bzw. Irmischer berufen können.

Der einkernige Embryosack (Abb. 31) scheint ein lang andauerndes Stadium zu sein. Auf Kosten der degenerierenden äußeren Makrosporen nimmt die chalazale an Größe bedeutend zu. Dieses Wachstum wird von Vakuolenbildung begleitet. Der primäre Embryosackkern vergrößert sich stark, wobei eine auffallende Veränderung seiner Lage eintritt. Während nämlich zur Zeit der Makrosporenbildung der Kern in der E. M. Z., bzw. in der chalazalen Dyadenzelle immer in dem mikropylarwärts gerichteten Teile der Zelle anzutreffen ist, nimmt er jetzt eine eher zentrale Lage ein. Wenn, nach gänzlicher Desorganisation der äußeren Makrosporen, der erste Teilungsschritt eintritt, kommt die Teilungsspindel, zum ersten Mal im Laufe der Embryosackentwicklung, in die Mitte zu liegen, ja, sie kann sich vielleicht auch manchmal ein wenig gegen die Chalaza zu verschieben (Abb. 32).

Beim so entstandenen zweikernigen Embryosack (E. S.) ist gewöhnlich das Plasma von Anfang an stark vakuolisiert (Abb. 34), obgleich man bisweilen beide Kerne im dichten, fast vakuolenfreien Plasma liegen sieht (Abb. 33). Ziemlich schnell tritt die typische Polarisation des E. S. ein. Ein großer Saftraum trennt die beiden Plasmaanhäufungen, die die Kerne enthalten. Häufig tritt auch im chalazalen Teil des E. S. eine kleine Vakuole hervor (Abb. 35).

Der zweite Teilungsschritt erfolgt an beiden Polen gleichzeitig (Abb. 36). Die chalazale Teilungsspindel läuft in der Längsrichtung des Embryosackes, die mikropylare ist dagegen quer gestellt. Demnach ähnelt die Stellung der Kerne im vierkernigen Embryosack derjenigen der Abb. 37. Die chalazalen Kerne liegen aber häufig schräger, und von den beiden mikropylaren kann sich einer mehr dem Scheitel nähern. Doch kommt es nur vereinzelt vor, daß die mikropylaren Kerne sich längs der Embryosackachse anordnen, wie dies bei den chalazalen üblich ist.

Nun vollzieht sich die Ausdehnung des E. S. auf Kosten des Nuzellus, und zwar findet vor und nach dem zweiten Teilungsschritt die Degeneration seiner einzigen, subepidermalen Schicht statt. Dieser Prozeß beginnt gewöhnlich im Stadium des zweikernigen Embryosackes im mikropylaren Teil und in den

nächsten Seitenzellen (Abb. 34 und 35). Nur selten sind schon alle Zellen vor der zweiten Teilung zerstört (wie bei *Hillebrandia sandwicensis*, Mauritzon 1936, Abb. 11G). Jedenfalls sehen wir während des dritten Teilungsschrittes kaum eine Spur von diesen Zellen (Abb. 38).

Der Embryosack hat sich unterdessen bedeutend vergrößert. Er liegt jetzt unmittelbar der Nuzellusepidermis an (Abb. 39), die, wie schon erwähnt wurde (S. 59), etwa einer Mantelschicht ähnelt (vgl. auch Hofmeister, S. 37, Sandt, S. 348). Diejenigen von ihren Zellen, welche an der Seite des Nuzellus liegen, weisen nur einen dünnen Beleg von Plasma an den Wänden auf. Dagegen sind die kleineren Zellen im mikropylaren Teil inhaltsreicher und haben auch ein anderes Aussehen (Abb. 8, 39 ff.). Sandt (S. 348) bezeichnet ihre Gestalt als „papillös“. Ich kann aber nicht ohne weiteres seiner Meinung, sie hätten „zweifelloso eine ernährungsphysiologische Aufgabe“ zu erfüllen, beistimmen. Die Größe und das Aussehen ihrer Kerne, ihr dichtes, körniges Plasma, vielleicht auch selbst ihre Gestalt dürften, wie es scheint, auf eine Sekretionsfunktion hindeuten, doch muß es nicht gerade eine Ernährungsfunktion sein. (Hier sei der Versuch von Modilewski, 1929, erwähnt, den Gang der Embryosackentwicklung durch kombinierte Einwirkung von zwei „spezifischen Stoffen hormonaler und morphogener Natur“ zu beschreiben). In dieser Hinsicht kann man jedoch nur Vermutungen aussprechen. Ich möchte nur hinzufügen, daß man den verhältnismäßig reichen Inhalt dieser Zellen nicht selten schon in früheren Stadien, etwa von der späten meiotischen Prophase an, bemerken kann.

Der dritte Teilungsschritt tritt, ähnlich wie der zweite, auf beiden Polen synchron ein. Auf Abb. 38 sehen wir ein Vorseilen der Teilungsphasen im mikropylaren Teil. Ob es Regel oder Zufall ist, kann ich nicht entscheiden, da ich, wie gesagt, nur selten auf Teilungsstadien traf. Die beiden mikropylaren Teilungsspindeln stehen, wie häufig dargestellt wird, im rechten Winkel zueinander, während die chalazalen entweder beide fast parallel zur Achse des Embryosackes (Abb. 38) oder, soweit man aus der noch zu besprechenden Abb. 39 schließen darf, auch rechtwinkelig zueinander gelegen sind.

Das Ergebnis dieser Teilung ist ein achtkerniger Embryosack. Anfangs liegen die Kerne frei im Plasma, je vier an jedem

Pol (Abb. 40). Dieses Stadium habe ich mehrmals beobachtet. Die nun folgende Differenzierung tritt gewöhnlich in beiden Plasma-  
partien gleichzeitig ein. Bisweilen habe ich jedoch in Embryo-  
säcken, deren mikropylare Plasmaanhäufung noch undifferenziert  
erscheint, Antipodenzellen wahrgenommen. Ein andermal waren  
es nur zwei Antipodenzellen, die in der chalazalen Erweiterung  
des E. S. hervortraten, während der dritte Antipodenkern noch  
mit dem Polkern im gemeinsamen Plasma zu liegen schien. Auch  
konnte ich ein deutliches Abgrenzen des Plasmas samt dem cha-  
lazalen Polkern von der übrigen noch undifferenzierten Plasma-  
anhäufung beobachten. Möglich, daß diese Verhältnisse etwas  
labil sind.

Wie diese Zellbildung im achtkernigen E. S. vor sich geht,  
läßt sich schwer beobachten, da das Plasma, besonders im mikro-  
pylaren Teil, sehr dicht ist und sich intensiv färbt. Zellplat-  
ten habe ich nur einmal wahrgenommen (Abb. 39). Besonders  
deutlich waren sie in der chalazalen Plasmapartie, wo die Fasern  
mit der Zellplatte auch zwischen den beiden nicht schwesterlichen  
Kernen sichtbar waren. (Ein Teil des 4-ten, auf Abb. 39 b dar-  
gestellten Kernes war auf dem Schnitte zusammen mit den drei  
anderen sichtbar, und zwar über dem innersten, chalazalwärts  
gelegenen Kern). Die Interpretation dieses Stadiums trifft jedoch  
auf gewisse Schwierigkeiten. Das Aussehen der chalazalen Partie  
dürfte eher dafür sprechen, daß die Zellplatten im Anschluß an  
die Telophase des letzten Teilungsschrittes entstanden sind. Es  
sind zwar Fälle bekannt, wo sogar alle vier Kerne eines Poles  
untereinander durch kinoplasmatische Fäden verbunden sind  
(z. B. *Erythronium albidum*, Schaffner 1901, Abb. 72). Ja, für  
manche Kompositen wird wiederum angenommen (Palm 1915,  
S. 89; Holmgren 1919, S. 55), daß eben die Zellplatten des  
III. Teilungsschrittes zu den ersten zwei Wänden der Antipoden  
werden. Aber in diesen beiden Fällen fehlt eben die Zellplatte  
zwischen den Nicht-Schwesterzellen (im zweiten Falle selbst die  
Fasern). Da außerdem bei *Begonia incana*, wie erwähnt, ein Sta-  
dium mit acht freien Kernen folgt, müßten solche Zellplatten nur  
vorübergehende Gebilde sein. Es ist aber zweifelhaft, ob diese  
Annahme in bezug auf die Zellplatten des mikropylaren Teils  
genügend wahrscheinlich ist, da diese, wie es scheint, schon bis  
zur Hautschicht reichen. Leider erlaubt das dunkel gefärbte Plasma

nicht, feinere Strukturen zu unterscheiden, obgleich gewisse Strahlenstrukturen im Zytoplasma sichtbar sind. So ist auch nicht die Möglichkeit auszuschließen, daß hier eine simultane, dem Stadium der acht freien Kerne nachfolgende Wandbildung mittels neugebildeter Zellplatten vorliegen könnte, also vielleicht etwas dem ähnliches, was Fig. 87 bei Frisendahl (1912, *Myricaria germanica*) oder Abb. 21, 22 bei Mottier (1897, *Lilium Martagon*) darstellt. Eine Entscheidung ist jedoch unmöglich, da, wie bemerkt, Vergleichsstadien nicht beobachtet wurden.

Das Reifen des achtkernigen E. S. verläuft ziemlich rasch. In den an den Polen entstandenen Zellen, die anfangs mit körnigem Plasma angefüllt sind, erscheinen die charakteristischen Vakuolen.

Im Eiapparat zeigen die ausgebildeten Synergiden stets die typische Lage der Vakuole (Abb. 41–45). Diese nimmt den größeren Teil der Zelle ein, mit Ausnahme der mikropylaren Partie, wo im dichten Plasma der Kern liegt. Der Eikern kann dagegen nicht nur in der typischen Lage (Abb. 42, 43), sondern auch verhältnismäßig nicht selten in dem mikropylaren Teil der Zelle angetroffen werden (Abb. 41, 45). Die Vakuole ist dann, ähnlich wie in den Synergiden, chalazalwärts gelegen. Die Kerne der Synergiden sind aber häufig größer als der Eikern und auch öfters anders gefärbt. Man kann sie deshalb ziemlich leicht unterscheiden.

Die drei Antipoden sieht man im chalazalen, trichterartigen Ende des Embryosackes (vgl. auch Sandt, S. 347–8). Sie sind ziemlich klein und nur selten so gut ausgebildet, wie auf Abb. 46. Manchmal ist es schwierig, sie unter den anliegenden Nuzelluszellen wahrzunehmen. Häufig sind jedoch ihre Kerne dunkler gefärbt und haben einen etwas größeren Nukleolus. Die Anordnung der Antipodenzellen kann verschieden sein: Entweder liegt eine im chalazalen Ende des E. S. und die zwei anderen liegen über ihr (Abb. 41, 43 b), oder sehen wir umgekehrt zwei Antipoden chalazalwärts nebeneinander, die dritte aber über beiden oder nur über einer von ihnen. Sie können auch in einer Linie übereinander oder, was ganz selten vorkommt, alle drei fast nebeneinander angeordnet sein.

Verschmelzung der Polkerne. Die Frage der Entstehung des sekundären Embryosackkernes verdient eine nähere

Besprechung. Nach Sandt (S. 349) soll die Vereinigung der beiden Polkerne „wahrscheinlich erst auf den Reiz des eingedrungenen Pollenschlauches hin“ eintreten. In reifen, unbefruchteten Embryosäcken traf dieser Autor immer beide Kerne getrennt an. Er hatte auch Gelegenheit, Stadien zu beobachten, in welchen „die generative Zelle<sup>1)</sup> des Pollenschlauches den Embryosackkern erreicht hatte, dieser aber die beiden Nuklei (zweifellos sind „Nukleoli“ gemeint) der Polkerne noch unverschmolzen in sich barg“. Doch ist nicht bekannt, auf wie viele Arten diese Beobachtungen Sandts sich beziehen. Sicher ist nur, daß bei *Begonia manicata* solche Verhältnisse vorliegen können (Abb. 6 bei Sandt).

Wie sich in dieser Hinsicht *Begonia incana* verhält, geht aus den Abbildungen 41—45 deutlich hervor. Es muß dabei betont werden, daß die junge, geöffnete Blüte, in deren Fruchtknoten diese Entwicklungsstadien beobachtet wurden, ganz sicher nicht bestäubt war, da entwickelte männliche Blüten zu jener Zeit gänzlich im Gewächshause fehlten.

Von den beiden Polkernen ist es der chalazale, der sich bei *Begonia incana* in Bewegung setzt. Auf Abb. 41 sehen wir ihn schon in der Mitte des E. S., während der mikropylare noch dem Eiapparat anliegt. Einige Mal konnte ich den chalazalen Polkern in ähnlicher Lage beobachten, niemals aber sah ich den mikropylaren ihm entgegengehen, wie dies auf Abb. 6 von Sandt bei *Begonia manicata* zu sehen ist. Nun treffen sich die Polkerne erst am Eiapparate und bleiben dann eine gewisse Zeit beieinander liegen (Abb. 43).

Es wurden jedoch, obzwar seltener, auch solche E. S. angetroffen, in denen die Polkerne weit vom Eiapparate im plasmatischen Wandbelege nebeneinander lagen (Abb. 42). Es ist daher anzunehmen, daß ihr Zusammentreffen auch außerhalb des Bereiches des Eiapparates erfolgen kann. Der chalazale Polkern dürfte sich augenscheinlich immer als erster in Bewegung setzen, der mikropylare müßte wiederum im zweiten Falle ihm äußerst rasch entgegenkommen.

Die Verschmelzung selbst verläuft in beiden Fällen in der Nähe des Eiapparates. Sie geht schnell vor sich, da ich, trotz

<sup>1)</sup> Offenbar meint er die Spermazelle (nach der Terminologie Schnarfs 1927—29, S. 40).



des häufigen Vorkommens von Zentralkernen, nur 2—3 Mal die zwei Nukleolen im Kerne noch getrennt (Abb. 44) beobachten konnte. Der sekundäre Embryosackkern liegt am Eiapparat und ist durch seine Größe und seinen großen Nukleolus charakteristisch (Abb. 45) Hierzu muß ich hinzufügen, daß ich nie auf den Schnitten eine Spur von einem Pollenschlauch bemerkte.

Es unterliegt also keinem Zweifel, daß die von mir wahrgenommene Vereinigung der Polkerne vor der Bestäubung eingetreten ist. Die Abbildungen Hofmeisters (Taf. V, Abb. 9 u. 10), die unbefruchtete E. S. von *Begonia Drègei* und *Begonia semperflorens* darstellen, dürften, glaube ich, ähnliche Verhältnisse wiedergeben. Freilich hat dieser Forscher die kleinen Antipoden übersehen, was an Betracht der Beobachtungsschwierigkeiten ganz verständlich ist. Doch ist es wenig wahrscheinlich, daß er auch den chalazalen Polkern nicht bemerkte, da dieser ebenso groß wie der mikropylare ist und auch nicht im chalazalen „Trichter“ verbleibt. Näher liegt die Vermutung, daß der „freie Zellenkern“, der dem Eiapparat auf beiden Abbildungen anliegt, der Zentralkern ist. Ähnlich scheint dies auch bei *Hillebrandia sandwicensis* zu sein, nach Mauritzons (1936) Abb. 11 H urteilend.

Sandts Verallgemeinerung ist also nicht begründet. Es liegen hier offenbar ziemlich erhebliche Unterschiede zwischen den einzelnen Begonienarten vor. Ähnliches sehen wir auch z. B. bei *Melampyrum pratense*, wo es früh zur Bildung des Zentralkernes kommt, während dagegen *Melampyrum silvaticum* dieses noch zur Zeit der Befruchtung entbehrt (Schmid 1906, S. 260).

Über ein chalazales Plasmagebilde. Sowohl im Laufe der Makrosporenbildung, als auch in den früheren Stadien der Embryosackbildung hatte ich oft Gelegenheit in dem Zytoplasma ein eigenartiges, gewöhnlich ovales Gebilde wahrzunehmen. Eine Plasmapartie im chalazalen Teile der Zelle zeichnete sich nämlich durch etwas dunklere Färbung und schaum-netzartige Struktur aus. Man sieht sie entweder frei in dem Zytoplasma oder, was seltener vorkommt, in der Nähe des Kernes liegen. Dieses Gebilde sticht in sehr verschiedenem Grade von dem übrigen Zytoplasma ab und ist auch nicht immer sichtbar (vgl. Abb. 7, 13, 30, 31, 35). Am häufigsten beobachtete ich es in der chalazalen Makrospore, am deutlichsten im einkernigen E. S. Auf sehr charakteristische Weise tritt es in dem zweikernigen Em-

bryosack auf Abb. 33 hervor. Nach den Umrissen des plasmolisierten Protoplasts schließend, dürfte es eine etwas andere Konsistenz wie das übrige Plasma haben, da diese an der Stelle, wo dieses Gebilde der Hautschicht anliegt, gewölbt ist.

„Auffallende Differenzierungen“ im Zytoplasma wurden mehrmals beschrieben, es sind dies jedoch gewöhnlich Gebilde, die gegen Ende der Prophase verschwinden (z. B. bei *Lilium candidum*, Mottier 1897, Abb. 3). Es liegen auch Erwähnungen über „unreguläre Körper“ vor, die nach der I. Teilung erscheinen und als Reste der Teilungsspindel angesehen werden (Schaffner 1901, S. 380, *Erythronium albidum*). Den von mir besprochenen Körper beobachtete ich aber sowohl während der Teilungen (Abb. 27, 29) wie auch vor und nach ihnen, obzwar er häufig nur kaum sichtbar war. Wahrscheinlich ist es ein ähnliches Gebilde wie bei *Impatiens balsamina* (Longo 1910, S. 68) oder auch wie die zwei runden Körper, die Juel (1903, S. 291) in den E. M. Z. von *Casuarina quadrivalvis* genauer beschrieben hat. Bei diesen Autoren finden wir auch Vermutungen über seine Beschaffenheit. Ich füge nur hinzu, daß die Abbildung 5 b von Samuelsson (1913, S. 121) darauf hinzuweisen scheint, daß ein ähnlicher Körper vielleicht auch bei *Epacris impressa* vorliegt.

#### Einige Anomalien.

1) Den auf Abb. 9 dargestellten Nuzellus bemerkte ich in der Nachbarschaft von Samenanlagen, die die Stadien von der Tetrade bis zum vierkernigen E. S. durchmachten. Man kann aber kaum seine große, mit dichtem Plasma ausgefüllte Zelle als einkernigen E. S. ansehen, da hier die Kernlage wie auch das Plasma denjenigen in einer E. M. Z. ähneln. Man sieht auch keine Spur von desorganisierten Zellen in diesem Nuzellus, trotzdem diese Zelle unmittelbar der Nuzellusepidermis anliegt. Vermutlich liegt hier ein Fall von verzögerter Entwicklung einer E. M. Z. vor, die ausnahmsweise syndermal ist. Diese Anomalie ist um so auffallender, da in der Nuzellusepidermis ein Zeichen von weit fortgeschrittener Entwicklung in der erheblichen Differenz zwischen den Seiten- und Gipfelzellen vorzuliegen scheint. Auch war schon die Mikropyle bei diesem Ovulum gänzlich ausgebildet (wie etwa auf Abb. 8).

2) Einmal sah ich zwei Nuzelli mit je einem inneren Integument, von einem gemeinsamen äußeren Integument umhüllt. Sie waren räumlich verschieden orientiert. Die inneren Integumente wuchsen längs der Kontaktfläche zusammen.

Ähnliche Fälle werden oft als Ausnahmen angeführt. Als Beispiele seien genannt: *Cuphea petiolata* (Mauritzon 1934, S. 14), *Moringa oleifera* (Puri 1934, S. 280), *Celastrus scandens* (Andersson 1931, S. 15), *Sedum populifolium* (Mauritzon 1933, S. 12), *Impatiens balsamina* (Longo 1910, S. 69), *Lysimachia thyrsiflora* (Dahlgren 1916, S. 14), *Hibiscus trionum* (Stenar 1925, S. 12), *Platanthera chlorantha* (Afzelius 1922, S. 377 — „mehrmals“ —), *Ribes Gordonianum* (Tischler 1903, S. 413).

3) Zweimal sah ich gänzlich degenerierte E. S. In welchem Stadium diese Degeneration eingetreten war, konnte ich nicht feststellen. Jedenfalls war die subepidermale Nuzellusschicht nicht zerstört.

Ähnliche Fälle gibt z. B. Stenar (1925, S. 28) bei den Malvaceen an.

## VII. Zusammenfassung.

Die Embryosackentwicklung ist bei den Begonien lediglich in allgemeinen Umrissen bekannt. Ihre genaue Kenntnis ist auch insofern wichtig, als sie gleichfalls allgemeinere Probleme streift, wie z. B. die Frage des Geschlechtschromosoms bei monözischen Blütenpflanzen. Die Literaturangaben sind nur spärlich, nicht ohne Ungenauigkeiten und Widersprüche. Eine kritische Zusammenstellung der einschlägigen Literatur wird für die Gattung *Begonia*, mit Berücksichtigung der Angaben über andere Begoniaceen, an Hand eigener Ergebnisse, die bei den Untersuchungen der Art *Begonia incana* gewonnen wurden, im Texte angeführt.

### Ergebnisse:

1) Die anatrophe Samenanlage von *Begonia incana* ist bitegmisch; die Integumente sind zweischichtig; das äußere entwickelt sich schneller und bildet zuerst die mikropylare Öffnung; seine äußere Schicht charakterisieren sehr große Zellen. Die Samenanlage ist die dünnste unter den krassinuzellaten; die einzige Zellschicht, welche die Embryosackmutterzelle (E. M. Z.) von der

Nuzellusepidermis trennt, degeneriert allmählich vor Eintritt des III. Teilungsschrittes bei der Embryosackbildung; die Nuzellusepidermis bleibt und nimmt ein eigentümliches Aussehen an.

2) Die subepidermale Archesporzelle ist schwer wahrnehmbar; sie unterscheidet sich nur durch ein etwas helleres Plasma und einen blasseren Kern, wie auch durch den etwas größeren Nukleolus; sie gibt eine Deckzelle nach außen ab und wird zur E. M. Z.

3) a) Die Synizesis scheint das am längsten andauernde Stadium der Meiose zu sein; der Nukleolus liegt häufig außerhalb des Chromatinknäuels. Während der postsynizetischen Stadien tritt im Kerne ein zweites, kleineres Gebilde auf, mit welchem die Fäden inniger als mit dem Nukleolus verbunden sind; es verschwindet vor der Diakinese.

b) Die Diakinese hat das typische Aussehen (auch in den Pollenmutterzellen); die Gemini zeigen die bekannte Doppelstruktur. Die Längsspalten in den Einzelchromosomen, die ersten Anzeichen der II. Teilung, wurden schon in der Diakinese beobachtet. Während der Interkinese sind die Chromosomenhälften in verschiedenem Grade voneinander entfernt; es erscheint wieder der Nukleolus.

c) Die haploide Chromosomenzahl ist 14 (dies bezieht sich auch auf die Pollen-M. Z.).

4) Während der Makrosporenbildung liegen die Teilungsspindeln, sowohl in der E. M. Z. wie auch in der chalazalen Dyadenzelle, in dem äußeren, mikropylarwärts gerichteten Teile der Zelle; die innere Dyadenzelle und chalazale Makrospore sind von Anfang an die weitaus größeren. Die Tetrade ist gewöhnlich dreizellig; es fehlt die Wand zwischen den zwei mikropylaren Makrosporenkernen.

5) Die chalazale Makrospore wird nach dem Normaltypus zum Embryosack; der erste Teilungsschritt erfolgt nach der Zerstörung der anderen Makrosporen. Im achtkernigen E. S. wurden Zellplatten beobachtet; die Verschmelzung der Polkerne trat vor der Bestäubung ein.

Aus einem Vergleich der vorliegenden Ergebnisse mit den Darstellungen anderer Verfasser folgt:

6) a) Die unter 1) und 2) verzeichneten Ergebnisse scheinen für die ganze Gattung charakteristisch zu sein. Die abweichenden

den Angaben Jönssons (1879—80) sind sehr zweifelhaft und wurden bis jetzt von niemandem bestätigt.

b) Was einige von den Angaben unter 3) sowie den Augenblick der Verschmelzung der Polkerne betrifft, so müssen hier erhebliche Unterschiede zwischen den einzelnen Begonienarten vorliegen.

Über viele unter 4) und 5) angeführte Einzelheiten fehlen entsprechende Angaben zum Vergleich.

7) Ob das unpaare Chromosom im Satze von *Begonia Schmidiana* ein Geschlechtschromosom ist, wurde von Fr. Pastrana (1932) nicht hinreichend bewiesen; ihre Untersuchungen erfordern eine Ergänzung und eine teilweise Überprüfung.

Vorliegende Untersuchungen wurden im Institut für Anatomie und Zytologie der Pflanzen der Jagellonischen Universität in Kraków unter der Leitung des Herrn Prof. Dr K. Piech ausgeführt. Es sei mir gestattet, an dieser Stelle Herrn Prof. Dr K. Piech für seine wertvollen Ratschläge und seinen liebenswürdigen Beistand meinen innigsten Dank auszusprechen. Ebenso danke ich herzlichst Herrn Prof. Dr W. Szafer, dem Leiter des hiesigen Botanischen Gartens, für sein gütiges Entgegenkommen und reges Interesse, das er meiner Arbeit entgegenbrachte.

Für das sprachlich-kritische Durchsehen des Manuskripts sage ich Herrn Koll. Mgr. E. Rosenberg besten Dank.

Institut für Anatomie und Zytologie der Pflanzen der Jagellonischen Universität in Kraków.

---

### Literatur.

1. Afzelius K. 1922. Embryosackentwicklung und Chromosomenzahl bei einigen *Plantanthera*-Arten. Svensk Bot. Tidskr. 16, S. 371—382. —
2. Agar W. E. 1911. The spermatogenesis of *Lepidosiren paradoxa*. Quarterly Journ. Microsc. Sc. 57, S. 1—44. —
3. Andersson A. 1931. Studien über die Embryologie der Familien *Celastraceae*, *Oleaceae* und *Apocynaceae*. Lunds Univ. Årsskr. N. F. Avd. 2. Bd. 27, Nr 7. —
4. Asplund E. 1920. Studien über die Entwicklungsgeschichte der Blüten einiger Valerianaceen. K. Svensk. Vet. Akad. Handl. 61, Nr 3. —
5. Baranov P. i Poddubnaja V. 1925. K embriologiji turkiestanskich amarillisowych *Ungernia Severzovii* B. Fedtsch. i *Ixiolirion tataricum* (Pall.) Roem. et Schult. Bull. Univ. Asie Centr. Nr 11. —
6. Bělař K. 1928. Die cytologischen

- Grundlagen der Vererbung. Berlin. — 7. Bergman B. 1935. Zytologische Studien über die Fortpflanzung bei den Gattungen *Leontodon* und *Picris*. Svensk Bot. Tidskr. 29, S. 155—301. — 8. Brenner W. 1922. Zur Kenntnis der Blütenentwicklung einiger Juncaceen. Acta Soc. Sc. Fennicae. 50, Nr 4. — 9. De Candolle A. 1859. Mémoire sur la famille des Bégoniacées. Ann. Sc. Nat. IV. Sér. T. 11, S. 93—149. — 10. Chamberlain Ch. J. 1897. Contribution to the life-history of *Salix*. Bot. Gaz. 23, S. 147—180. — 11. Chiarugi A. 1925. Embriologia delle *Cistaceae*. N. Gior. Bot. Ital. N. S. 32, S. 223—316. — 12. Correns C. 1934. Geschlechtsbestimmung und -verteilung bei Pflanzen. Hndwörtl. d. Naturwiss. II. Aufl. Bd. IV, S. 1150—1169. — 13. Coulter J. M. and Chamberlain Ch. J. 1903. Morphology of Angiosperms. New-York. — 14. Dahlgren K. V. O. 1916. Zytologische und embryologische Studien über die Reihen *Primulales* und *Plumbaginales*. K. Svensk. Vet. Akad. Handl. Bd. 56, Nr 4. — 15. Dahlgren K. V. O. 1927. Die Morphologie des Nuzellus mit besonderer Berücksichtigung der deckzellosen Typen. Jhrb. wiss. Bot. 67, S. 347—426. — 16. Fischer A. 1880. Zur Kenntnis der Embryosackentwicklung einiger Angiospermen. Jen. Zft. f. Naturwiss. 14. — 17. Fotsch K. A. 1933. Die Begonien, ihre Beschreibung, Kultur, Züchtung und Geschichte. Stuttgart. — 18. Frisendahl A. 1912. Cytologische und entwicklungsgeschichtliche Studien an *Myricaria germanica* Desv. K. Svensk. Vet. Akad. Handl. Bd. 48, Nr 7. — 19. Guignard L. 1886. Sur la stérilité comparée des organes reproducteurs des hybrides végétaux. Bull. Soc. Bot. Lyon. 4, S. 65—75. — 20. Håkansson A. 1923. Studien über die Entwicklungsgeschichte der Umbelliferen. Lunds Univ. Årsskr. N. F. Avd. 2. Bd. 18, Nr 7. — 21. Håkansson A. 1929. Die Chromosomen in der Kreuzung *Salix viminalis* × *caprea* von Heribert Nilsson. Hereditas 13, S. 1—52. — 22. Häuser R. 1916. Untersuchungen an Makrogametophyten von Piperaceen. Beitr. Allg. Bot. 1, S. 115—149. — 23. Heatley M. 1916. A study of the life history of *Trillium cernuum* L. Bot. Gaz. 61, S. 425—429. — 24. Heimann-Winawer P. 1919. Beiträge zur Embryologie von *Colchicum autumnale* L. Dissert. Zürich, Freiburg. — 25. Heitz E. 1927. Über multiple und aberrante Chromosomenzahlen. Abh. Nat. Ver. Hamburg 21, S. 48—57. — 26. Himmelbauer W. 1909. Eine blütenmorphologische und embryologische Studie über *Datisca cannabina* L. Sitz. Akad. Wien. Math.-Nat. Kl. Abt. I. Bd. 118, S. 91—113. — 27. Hofmeister W. 1849. Die Entstehung des Embryo der Phanerogamen. Leipzig. — 28. Hogben L. T. 1920. Studies on synapsis. I. Oogenesis in the *Hymenoptera*. Proceed. R. Soc. London, Ser. B. Vol. 91, S. 268—293. — 29. Holferty G. M. 1901. Ovule and embryo of *Potamogeton natans*. Bot. Gaz. 31, S. 339—346. — 30. Holmgren I. 1919. Zytologische Studien über die Fortpflanzung bei den Gattungen *Erigeron* und *Eupatorium*. K. Svensk. Vet. Akad. Handl. Bd. 59, Nr 7. — 31. Irmscher E. 1925. *Begoniaceae*. Engler-Prantl: Nat. Pflanzenfamilien. II. Aufl. Bd. 21. — 32. Jönsson B. 1879—80. Om embryosäckens utveckling hos Angiospermena. Lunds Univ. Årsskr. Bd. 16. — 33. Juel H. O. 1900. Vergleichende Untersuchungen über typische und parthenogenetische Fortpflanzung bei der Gattung *Antennaria*. K. Svensk. Vet. Akad. Handl. Bd. 33, Nr 5. —

34. Juel H. O. 1903. Ein Beitrag zur Entwicklungsgeschichte der Samenanlage von *Casuarina*. Flora 92, S. 284—293. — 35. Klotzsch J. F. 1855. Begoniaceen. Gattungen und Arten. Berlin. — 36. Kratzer J. 1918. Die verwandtschaftlichen Beziehungen der Cucurbitaceen auf Grund ihrer Samenentwicklung. Flora 110, S. 275—343. — 37. Longo B. 1910. Ricerche su le *Impatiens*. Annali di Bot. 8, S. 65—76. — 38. McAllister F. 1909. The development of the embryo sac of *Smilacina stellata*. Bot. Gaz. 48, S. 200—215. — 39. McAllister F. 1914. The development of the embryo sac in the *Convallariaceae*. Bot. Gaz. 58, S. 137—153. — 40. Maheshwari P. and Singh B. 1930. The development of the female gametophyte of *Asphodelus tenuifolius*. Journ. Ind. Bot. Soc. 9, S. 31—39. — 41. Mauritzon J. 1933. Studien über die Embryologie der Familien *Crassulaceae* und *Saxifragaceae*. Akad. Abh. Lund. — 42. Mauritzon J. 1934. Zur Embryologie einiger Lythraceen. Medd. Göteborgs Bot. Trädgård. 9. — 43. Mauritzon J. 1936. Zur Embryologie einiger *Parietales*-Familien. Svensk Bot. Tidskr. 30, S. 79—113. — 44. Meremiński-Kossowski H. 1935. Z zagadnień embriologii begonij. Streszczenia refer. Zjazd. Pol. Tow. Botan. 1935. Kraków. — 45. Modilewski J. 1910. Weitere Beiträge zur Embryobildung einiger Euphorbiaceen. Ber. Deutsch. Bot. Ges. 28, S. 413—418. — 46. Modilewski J. 1929. Żinoczyj gametofit u *Angiospermae*. Ukrainsk. Botan. Žurn. 5, S. 5—40. — 47. De Mol W. E. 1921. De l'existence de variétés hétéroplôides de *l'Hyacinthus orientalis* L. dans les cultures hollandaises. Diss. Zürich. — 48. Mottier D. M. 1897. Über das Verhalten der Kerne bei der Entwicklung des Embryosacks und die Vorgänge bei der Befruchtung. Diss. Berlin. — 49. Müller K. 1847. Beiträge zur Entwicklungsgeschichte des Pflanzenembryo. Bot. Ztg. 5. — 50. Müntzing A. 1932. Apomictic and sexual seed formation in *Poa*. Hereditas 17, S. 131—154. — 51. Oksijuk P. 1929. Anomalji w rozwytku zarodkovo-ho miszka w *Reseda alba* L. Mém. Cl. phys.-math. Acad. Sc. Ukraine, 15, S. 37—46. — 52. Ottley A. M. 1918. A contribution to the life history of *Impatiens Sultani*. Bot. Gaz. 68, S. 289—317. — 53. Palm B. 1915. Studien über Konstruktionstypen und Entwicklungswege des Embryosacks der Angiospermen. Diss. Stockholm. — 54. Pastrana M. D. 1932. Sporogenesis and sex determination in *Begonia Schmidtiana*. Am. Journ. Bot. 19, S. 365—384. — 55. Puri V. 1934. A note on the embryo sac and embryo of *Moringa oleifera* Lamk. Proc. Ind. Acad. Sc. B. Vol. I, S. 279—282. — 56. Rocén Th. 1927. Zur Embryologie der Centrospermen. Diss. Uppsala. — 57. Samuelsson G. 1913. Studien über die Entwicklungsgeschichte der Blüten einiger *Bicornes*-Typen. Svensk Bot. Tidskr. 7, S. 97—188. — 58. Sandt W. 1921. Beiträge zur Kenntnis der Begoniaceen. Flora 114, S. 329—384. — 59. Schaffner J. H. 1901. A contribution to the life history and cytology of *Erythronium*. Bot. Gaz. 31, S. 369—387. — 60. Schmid E. 1906. Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der *Scrophulariaceae*. Beih. Bot. Centralbl. 20, S. 175—299. — 61. Schnarf K. 1927—29. Embryologie der Angiospermen. Berlin. — 62. Schnarf K. 1931. Vergleichende Embryologie der Angiospermen. Berlin. — 63. Schürhoff P. N. 1925. Zur Zytologie von *Saxifraga*. Jhrb. wiss. Bot. 64, S. 443—449. — 64. Schürhoff P. N.

1926. Die Zytologie der Blütenpflanzen. Stuttgart. — 65. Shadowsky A. E. 1925. Über die Entwicklung des Embryosacks bei *Pancremium maritimum*. Ber. Deutsch. Bot. Ges. 43, S. 361—365. — 66. Sharp L. W. 1934. Introduction to cytology. III. ed. New York. — 67. Sharp L. W.-Jaretsky R. 1931. Einführung in die Zytologie. Berlin. — 68. Singh B. and Shivapuri T. N. 1935. The gametophytes of *Neptunia oleracea* Lour. Proceed. Ind. Acad. Sc. Vol. I, Nr 8, S. 423—434. — 69. Soltwedel F. 1882. Freie Zellbildung im Embryosack der Angiospermen. Jen. Zft. 15, S. 341—380. — 70. Souèges R. 1912. Développement de l'ovule et du sac embryonnaire chez les *Adonis*. Anat. Anzeig. 41, S. 209—240. — 71. Stenar A. H. 1925. Embryologische Studien. Diss. Uppsala. — 72. Stenar A. H. 1935. Embryologische und zytologische Beobachtungen über *Majanthemum bifolium* und *Smilacina stellata*. Ark. f. Bot. 26 A, H. 4, Nr 8. — 73. Stiffler E. G. 1925. Development of embryo sac in *Gasteria*, *Cyrtanthus* and *Veltheimia*. Bot. Gaz. 79, S. 207—216. — 74. Strasburger E. 1909a. Das weitere Schicksal meiner isolierten weiblichen *Mercurialis annua*-Pflanzen. Zft. Bot. 1, S. 507—525. — 75. Strasburger E. 1909b. Zeitpunkt der Bestimmung des Geschlechts, Apogamie, Parthenogenese und Reduktionsteilung. Histol. Beitr. VII. — 76. Strasburger E. 1910. Sexuelle und apogame Fortpflanzung bei Urticaceen. Jhrb. wiss. Bot. 47, S. 245—288. — 77. Svensson H. G. 1925. Zur Embryologie der Hydrophyllaceen, Borriginaceen und Heliotropiaceen mit besonderer Rücksicht auf die Endosperm bildung. Uppsala Univ. Årsskr. Mat.-Nat. 2. — 78. Täckholm G. 1914. Zur Kenntnis der Embryosackentwicklung von *Lopezia coronata* Andr. Svensk Bot. Tidskr. 8, S. 223—234. — 79. Tischler G. 1903. Über Embryosack-Obliteration bei Bastardpflanzen. Beih. Bot. Centralbl. 15, S. 408—420. — 80. Tischler G. 1927. Chromosomenstudien bei *Ribes Gordonianum* und seinen Eltern. Planta 4, S. 617—650. — 81. Tischler G. 1935. Die Bedeutung der Polyploidie für die Verbreitung der Angiospermen, erläutert an den Arten Schleswig-Holsteins, mit Ausblicken auf andere Florengebiete. Bot. Jahrb. 67, S. 1—36. — 82. Warming E. 1878. De l'ovule. Ann. Sc. Nat. Bot. Sér. VI. T. 5, S. 177—266. — 83. Warming E. 1913. Observations sur la valeur systématique de l'ovule. Mindeskr. J. Steenstrup. Kjöbenhavn. — 84. Wiegand K. M. 1900. The development of the embryo-sac in some monocotyledonous plants. Bot. Gaz. 30, S. 25—47. — 85. Wirz H. 1910. Beiträge zur Entwicklungsgeschichte von *Sciaphila* sp. und von *Epirrhizanthes elongata* Bl. Flora 101. (Diss).

### Erklärung der Tafeln 3—7.

*Embryosackentwicklung bei Begonia incana* Lindl.

(Abb. 23—25 betreffen Pollenmutterzellen).

Die Abbildungen 11—46 sind mit Zeiß hom. Imm. Apochr. 120 $\times$ , n. Ap. 1.30 und Komp. Ok. K, 20 $\times$ , bzw. K, 10 $\times$  mit Hilfe des Abbe'schen Zeichenapparates gezeichnet worden. Die Vergrößerung ist für die Reproduktion berechnet. Die Mikropyle liegt auf Tafel 3 unten, auf den übrigen oben.



TAFEL 3.

Fig. 1. Querschnitt durch einen jungen Fruchtknoten, dessen Samenanlagen die auf Abb. 2—4 dargestellten Stadien durchmachen. Die Flügel sind nicht eingezeichnet. 26 X.

Fig. 2. Junges Ovulum mit Integumentanlagen und Archesporzelle. 675 X.

Fig. 3. Ovulum mit junger Embryosackmutterzelle (E. M. Z., sekundäre Archesporzelle) und Deckzelle. 675 X.

Fig. 4. E. M. Z. im Nuzellus deutlich ausdifferenziert. 675 X.

Fig. 5. E. M. Z. an der konkaven Seite unmittelbar der Nuzellusepidermis anliegend (Ausnahmefall). 675 X.

Fig. 6. Samenanlage im Stadium der Synzesis der E. M. Z. (dessen Kern auf Abb. 11 dargestellt ist). 195 X.

Fig. 7. Samenanlage zur Zeit der Diakinese. 340 X.

Fig. 8. Samenanlage mit zweikernigem Embryosack. 280 X.

Fig. 9. Mikropylarer Teil eines abnorm entwickelten Nuzellus (näheres s. Text, S. 84). 675 X.

Fig. 10. Teil eines Nuzellus mit einer Tetrade, deren degenerierende mikropylare Zelle von der Nuzellusepidermis durch zwei Zellschichten getrennt ist (Ausnahmefall). 340 X.

TAFEL 4.

Vergrößerung: 2300 X; nur Abb. 27: 1100 X.

a, b — bezeichnen zwei aufeinander folgende Schnitte;

a<sub>1</sub>, a<sub>2</sub> — zwei optische Ebenen desselben Kerns.

Fig. 11 u. 12. Synzesis. Der Nukleolus liegt auf Abb. 11 unter, auf Abb. 12 oberhalb des Chromatinknäuels.

Fig. 13. Mikropylarer Teil eines Nuzellus mit E. M. Z. in einem post-synzesischen Stadium.

Fig. 14—17. Postsynzesische Stadien.

Fig. 18—21. Diakinese; 14 Gemini (auf Abb. 19 ist nicht der ganze Kern dargestellt).

Fig. 22. Chalazaler interkinetischer Kern; 14 Chromosomen.

Fig. 23 u. 24. Diakinese in Pollenmutterzellen; 14 Gemini.

Fig. 25. Metaphase der I. Teilung in einer Pollen-M. Z. Polansicht; 14 Gemini.

Fig. 26. Prometaphase. Die Gemini ordnen sich in der Äquatorialebene an.

Fig. 27. Mikropylarer Teil einer Samenanlage mit E. M. Z. in Metaphase der I. Teilung. Von dem äußeren Integument sind nur die Zellen der inneren Schicht eingezeichnet. Der Funikulus liegt rechts. 1100 X.

Fig. 28. Interkinese (nur ein Teil des chalazalen Kerns war auf diesem Schnitte sichtbar).

## TAFEL 5.

Vergrößerung: 1950  $\times$ .

a, b — zwei aufeinander folgende Schnitte derselben Zelle.

Fig. 29 a, b. Frühe Telophase der II. Teilung.

Fig. 30. Die Makrosporen und die Zellschicht, die sie von der Nuzellusepidermis trennt.

Fig. 31. Einkerniger Embryosack (E. S.). Die vorchalazale Makrospore desorganisiert, die zwei mikropylaren Makrosporenkerne in Degeneration begriffen.

Fig. 32. a, b. Der erste Teilungsschritt in der keimenden chalazalen Makrospore. Die subepidermale Zellschicht des Nuzellus ist eingezeichnet.

Fig. 33. Zweikerniger E. S. mit auf charakteristische Weise hervortretendem chalazalem Plasmagebilde (s. Text, S. 83).

Fig. 34. Zweikerniger E. S. mit schon z. T. degenerierenden Nuzelluszellen.

## TAFEL 6 und 7.

Vergrößerung: Fig. 35—40 — 1100  $\times$ ; Fig. 41—46 — 1200  $\times$ .

ne = Nuzellusepidermis; a, b — wie oben.

Fig. 35. Zweikerniger E. S. mit den in Auflösung begriffenen subepidermalen Nuzelluszellen.

Fig. 36. II. Teilungsschritt im E. S.

Fig. 37. Vierkerniger E. S.

Fig. 38 a, b. III. Teilungsschritt. Die subepidermale Zellschicht ist zerstört.

Fig. 39—46. Achtkerniger Embryosack.

Fig. 39 a, b. Zellplatten zwischen den Kernen. Der E. S. liegt unmittelbar der Nuzellusepidermis an.

Fig. 40. Freie Kerne im mikropylaren (a) und chalazalen (b) Teile des E. S.

Fig. 41 a. Der chalazale Polkern hat sich in Bewegung gesetzt; der mikropylare (*p*) liegt unter der Eizelle, zwischen dieser und der Wand des E. S.; 41 b. Die Synergiden desselben E. S.

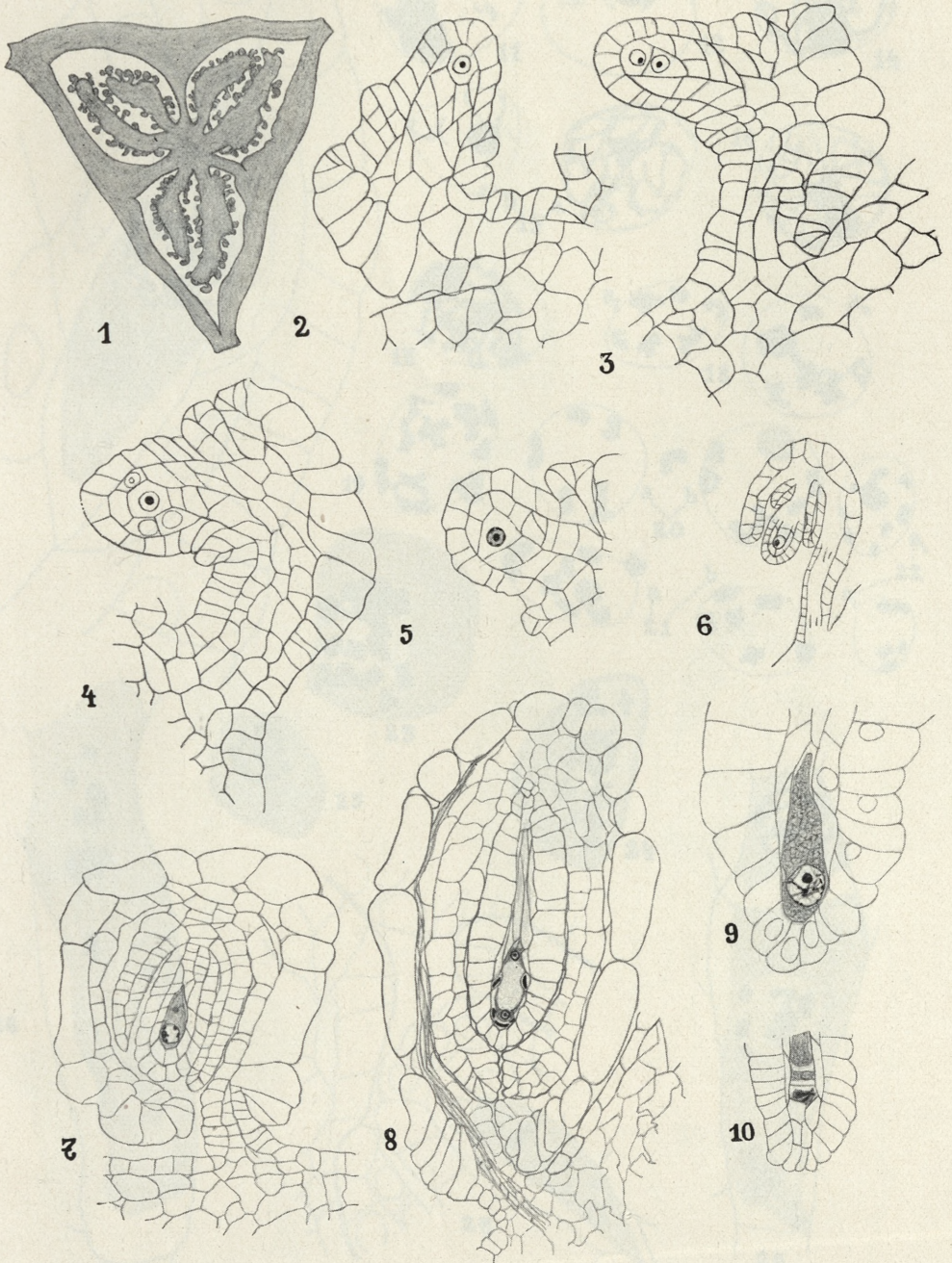
Fig. 42. Der Eiapparat und die nebeneinander liegenden Polkerne.

Fig. 43 a. Die beiden Polkerne aneinander liegend und dem Eiapparat anliegend (die zweite Synergide nicht eingezeichnet); 43 b. Die Antipoden desselben E. S.

Fig. 44. Die Synergiden und der sekundäre Embryosackkern mit noch zwei Nukleolen.

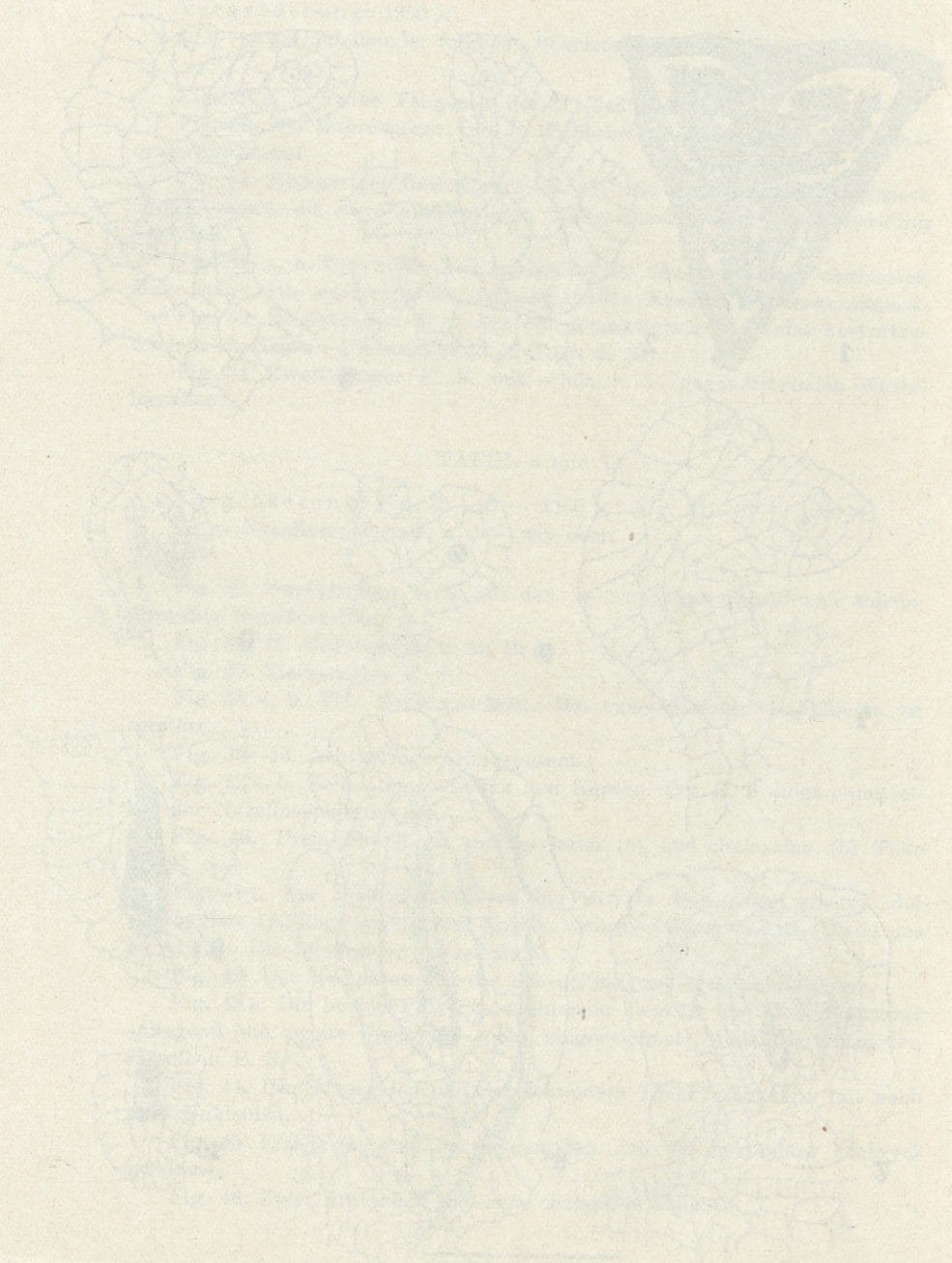
Fig. 45. Eizelle (*e*), eine der Synergiden und der sekundäre Embryosackkern.

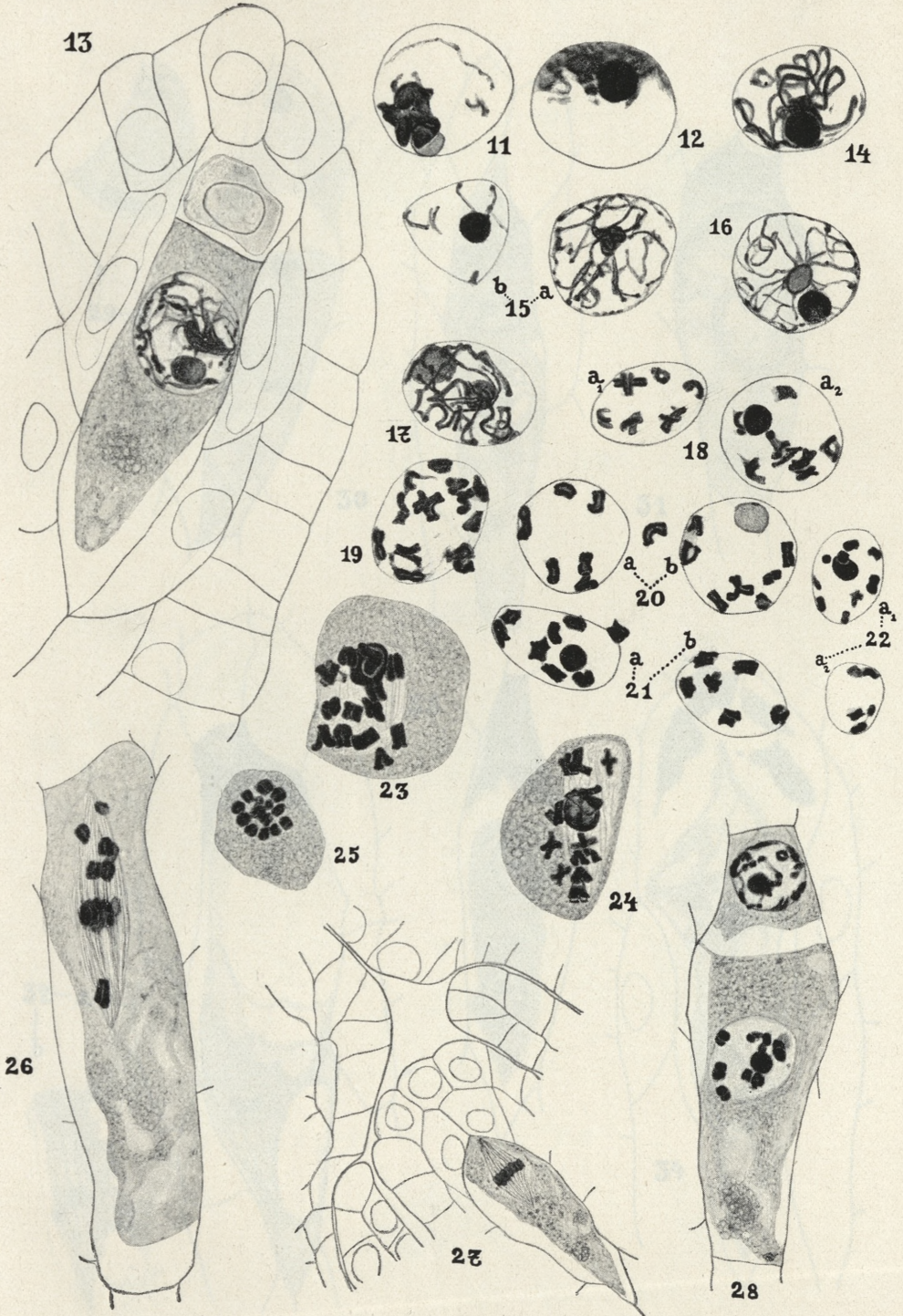
Fig. 46. Zwei Antipoden mit dem chalazalen Polkern.



H. Meremiński del.

PLATE I

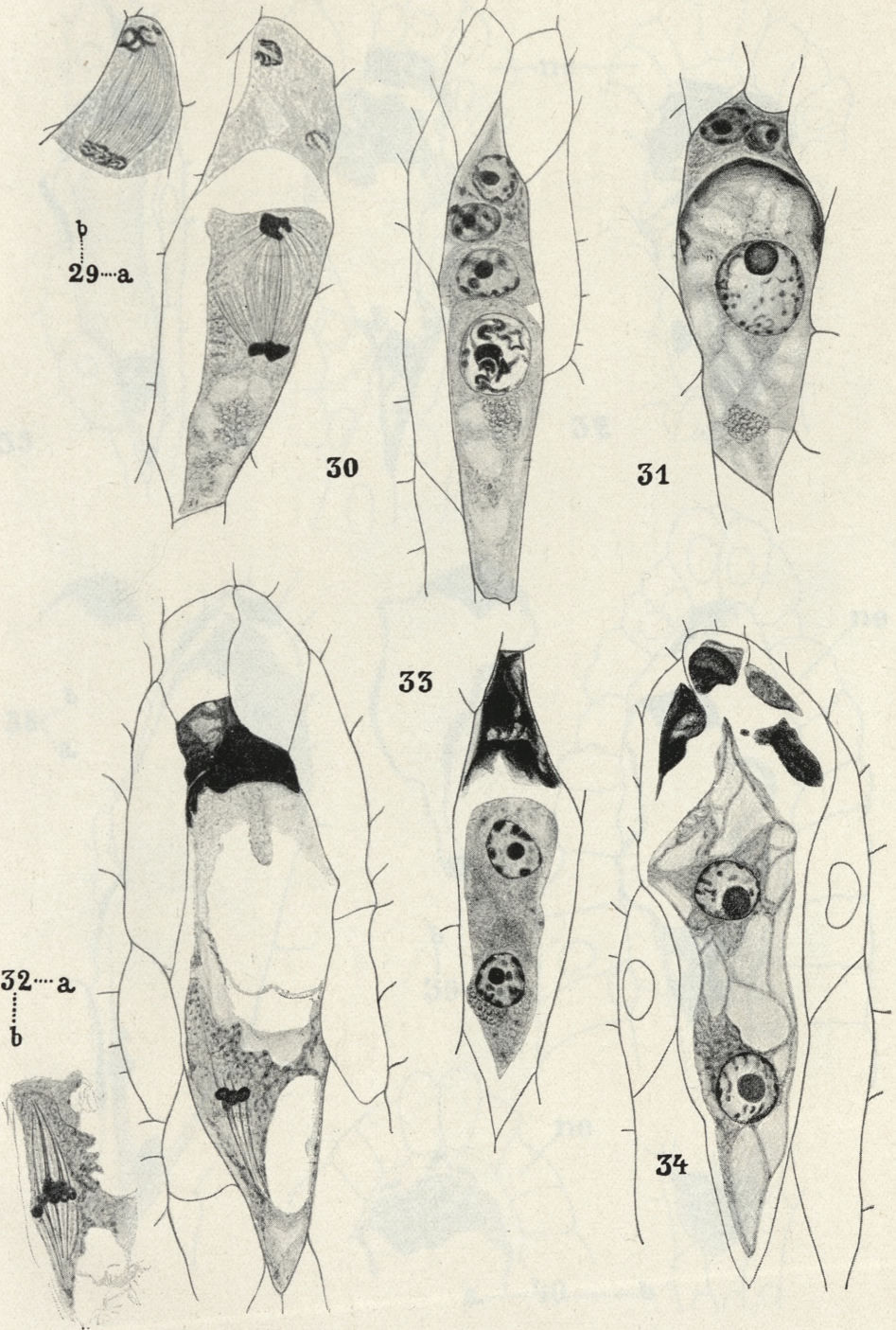




H. Meremiński del.



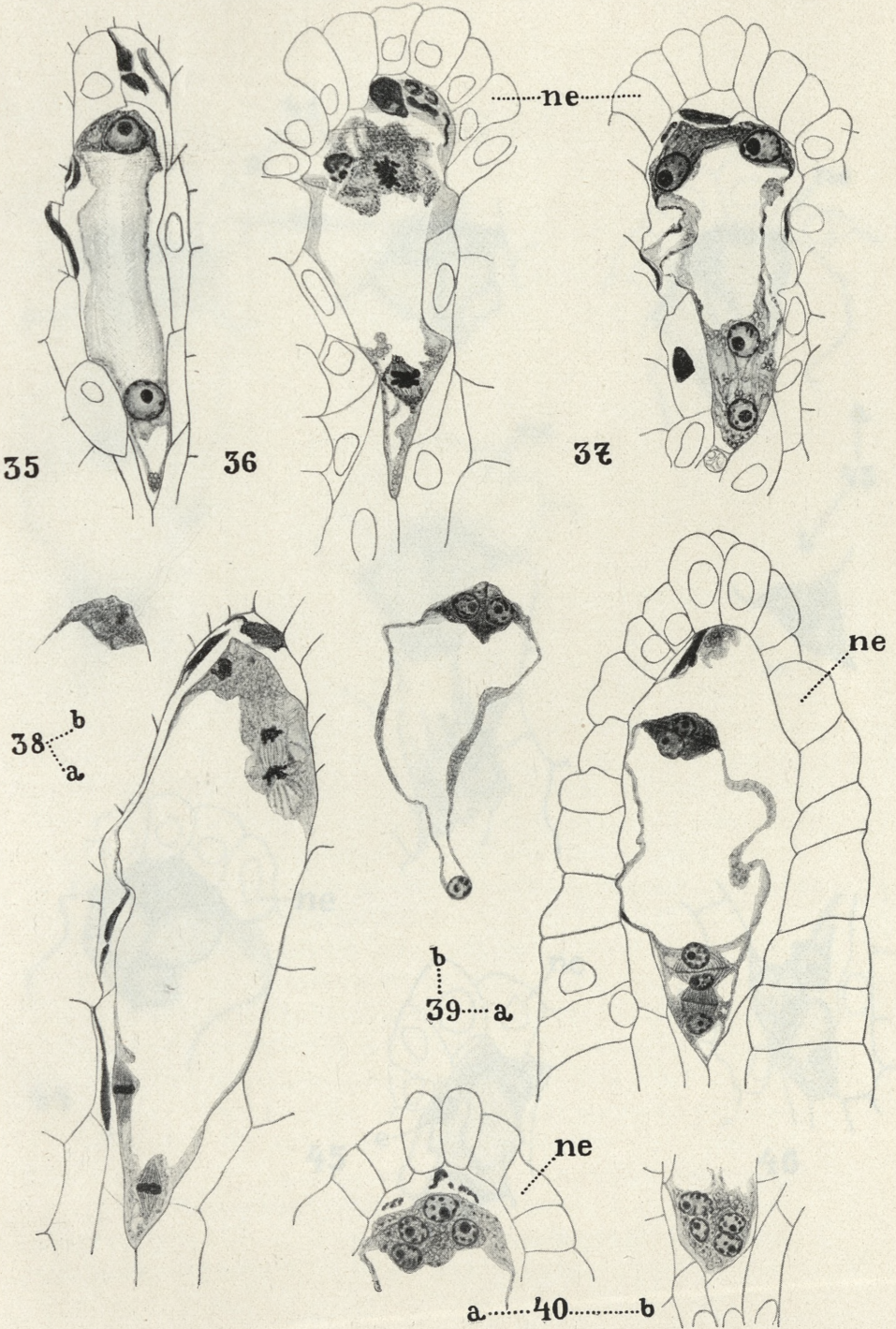
H. W. Hensley del.



H. Meremiński del.



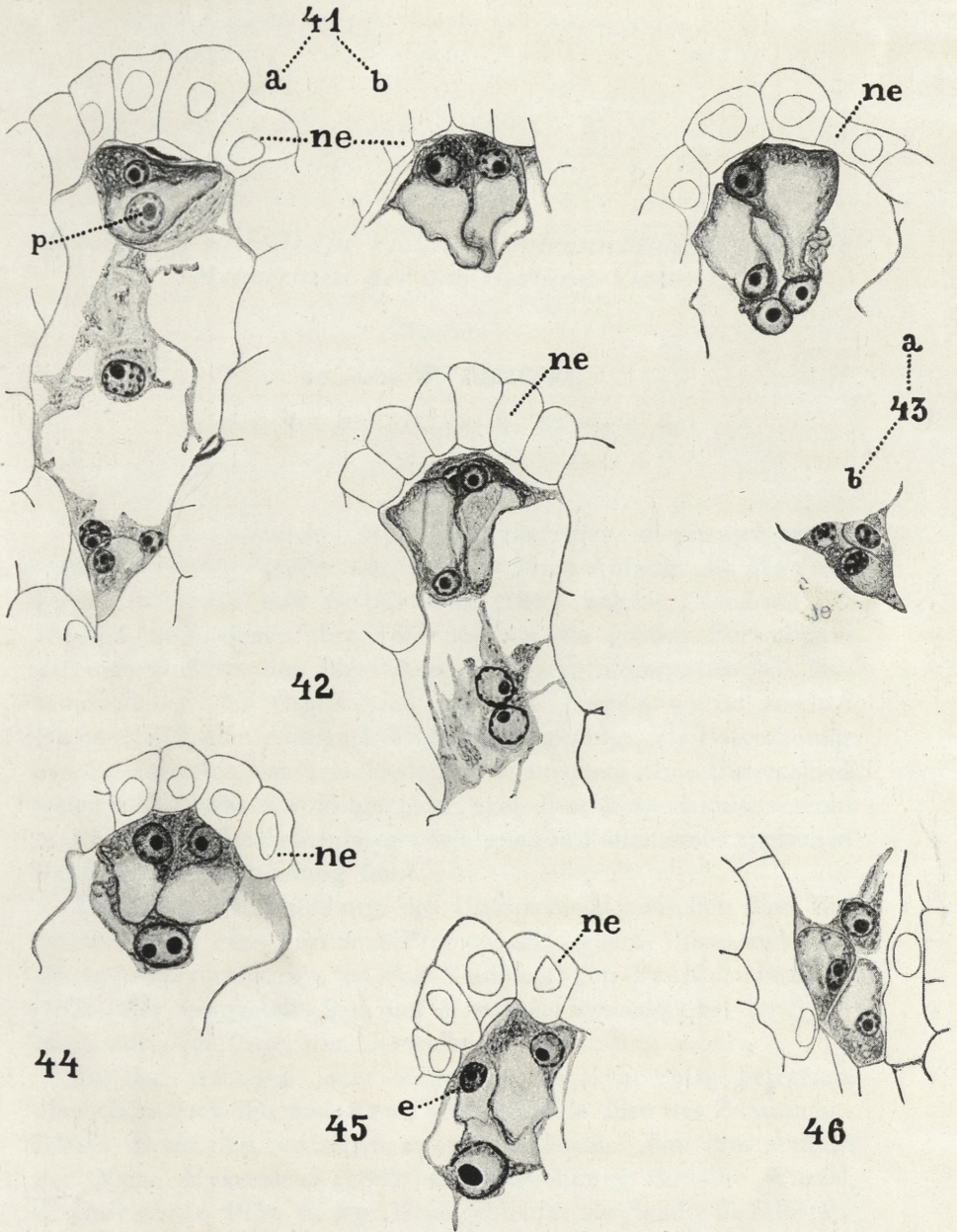




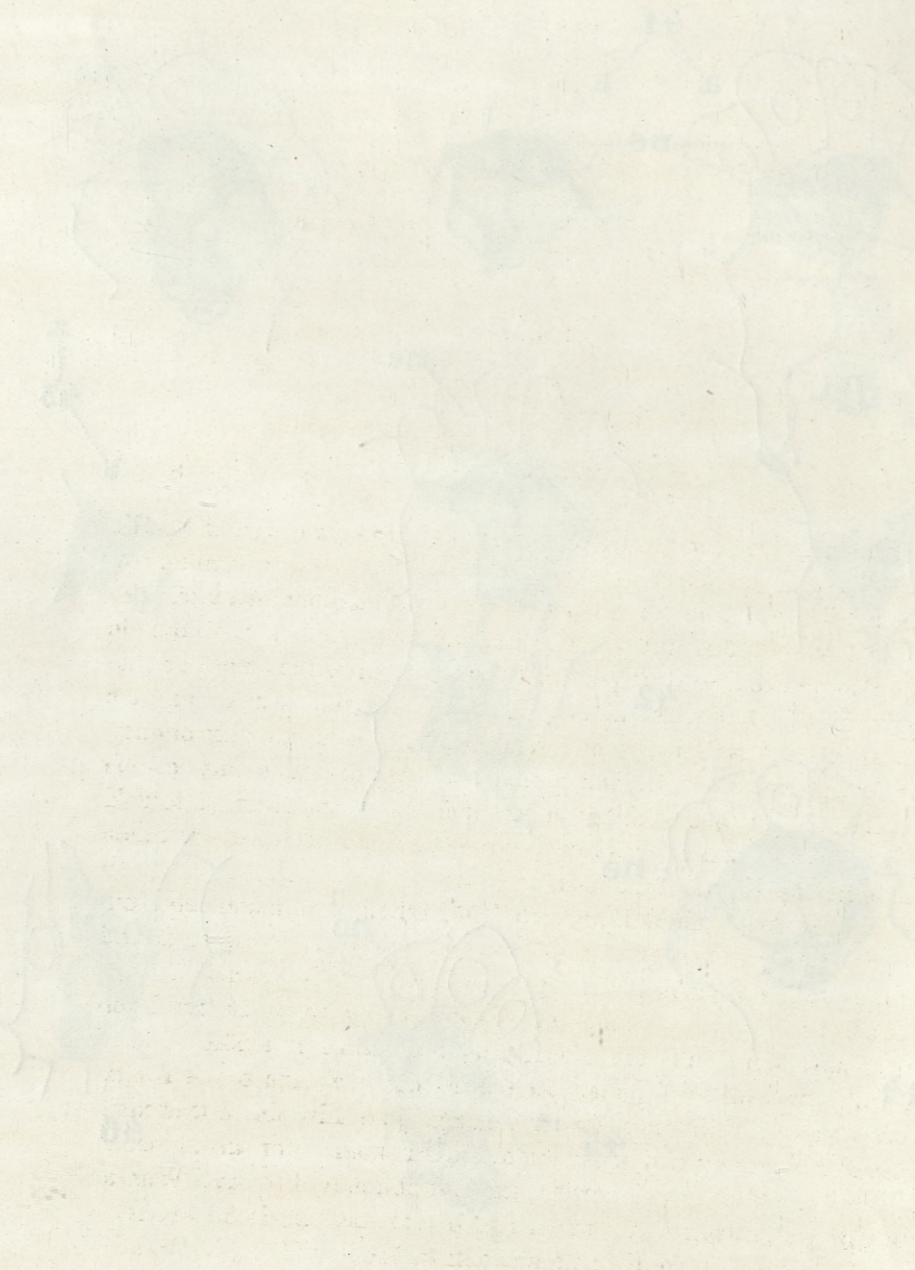
H. Meremiński del.



Fig. 32-41. Mandibles and Maxillae of various insects.



H. Meremiński del.



*Mykorrhiza w rodzaju Viola. — Untersuchungen über die  
Mykorrhiza bei der Gattung Viola.*

Mémoire

de Mme **W. ZABŁOCKA,**

présenté le 8 juin 1936, par M. Wl. Szafer m. t.

(Planches 8—9).

Die Untersuchungen über die Mykorrhiza, die in der ersten Hälfte des vergangenen Jahrhunderts ihren Anfang mit Meyen, Link, Nägeli und Schleiden (1842) nahmen, wuchsen besonders nach dem Jahre 1860 an, als die großen Fortschritte auf dem Gebiete der Physiologie größeres Interesse für das Zusammenleben der Organismen weckten. Damals wurde von de Bary (1879) der Ausdruck »Symbiose« geprägt, als Bezeichnung des Zusammenlebens verschiedener Organismen, ohne Unterschied welcher Art, was zur Folge hatte, daß diese Bezeichnung sowohl in Fällen des Zusammenlebens wie auch in Fällen eines typischen Parasitismus Anwendung fand.

Die genaue Feststellung des Unterschieds zwischen dem Zusammenleben einer grünen Pflanze mit einem Pilze und dem Schmarotzerverhältnisse ist das Verdienst von Fr. Kamiński (1876), der festgestellt hat, daß *Monotropa hypopitys* bei der Symbiose mit dem Pilze, von demselben die Nahrung erhält.

In den Arbeiten jener Zeit, die die Mykorrhiza betreffen, überwiegt auch die von Frank begründete Idee des Zusammenlebens dieser Art zwischen zwei Organismen. Von ihm stammt der Name Mykorrhiza (1885) als Bezeichnung für eine Wurzel, die mit einem Pilze in Symbiose lebt, um sie damit als selbständige morphologische Einheit zu kennzeichnen.

Auf Grund von Untersuchungen über die Mykorrhiza der verschiedensten Pflanzen unterscheidet Frank (1887) zwei Arten: eine äußere (ectotrophe) und eine innere (endotrophe) Mykorrhiza. Diese strenge Einteilung der Mykorrhiza in zwei Gruppen erwies sich als nichtausreichend, weshalb Melin eine Mittelgruppe annahm und dieselbe ectendotrophe Mykorrhiza nannte.

Die in den älteren Untersuchungen stark betonte Abhängigkeit der Mykorrhiza vom Klima und den Bodenverhältnissen erwies sich als nicht richtig. Nach den Untersuchungen von Schlicht (1888, 1889) und Stahl (1900) wurde die Mykorrhiza in mineralischen Böden gefunden. Höveler (1892) fand sie in sandiger und kalkhaltiger Erde und von Hesselman und Schröter (1908) wurde sie bei alpinen und arktischen Pflanzen festgestellt.

Asai (1934) weist darauf hin, daß diese Erscheinung nur bei den Wasserpflanzen nicht auftritt, während von Faber (1925) die Solfataren-Pflanzen als typische Mykorrhizapflanzen bezeichnet.

Forschungen über die Ausbreitung der Mykorrhiza in der Pflanzenwelt erwiesen, daß sie nur bei sehr wenigen Arten nicht vorkommt.

Trotzdem vielfach festgestellt wurde, daß die Mykorrhiza unabhängig von den natürlichen Standorts- und Bodenverhältnissen einer Pflanze auftritt, erwies wieder eine ganze Reihe anderer Beobachtungen (z. B. über ihr regelmäßiges Auftreten bei einer Pflanzengruppe und ihr sporadisches Vorkommen bei einer anderen), daß sie in einem bestimmten Verhältnis zur Gesamtheit der äußeren Faktoren und der von ihnen bedingten Physiologie der Pflanze steht, und daß sie außerdem von der Virulenz des Pilzes und von der Bodenbeschaffenheit abhängt. Die Hauptrolle spielen dabei die Bodenazidität und die im Boden enthaltenen organischen Verbindungen.

Auf Grund der Forschungsergebnisse über die Ausbreitung der Mykorrhiza und den Einfluß des Pilzsymbionten auf das Leben der höheren Pflanzen stellte Noël Bernard (1902, 1909) eine Theorie auf, wonach er die Perennierungsfähigkeit und die Tuberation der Pflanze mit der Ansteckung durch den Mykorrhizapilz in ursächlichen Zusammenhang bringt und die Gefäßpflanzen von den Thallophyten herleitet.

Die Tuberationstheorie Noël Bernards übernahm Magrou (1921, 1924). Obwohl sich seine eigenen Untersuchungen über die

Ansteckung von *Solanum tuberosum* mit dem Endophyten des *Solanum dulcamara* und *S. Maglia* nicht bestätigten, und obwohl man das Vorkommen von Exemplaren ohne Knollen bei *Solanum tuberosum* heute nicht mehr als den Verlust der Tuberisationsfähigkeit durch das Fehlen der Mykorrhiza, sondern durch die Gegenwart hemmender Faktoren (Salaman 1924) erklärt, läßt sich diese Theorie nicht ganz von der Hand weisen. Sogar das Auftreten der Mykorrhiza bei einjährigen Pflanzen, auf welche Tatsache sich Peyronel (1924, nach Rayner 1927) stützt, genügt nicht, um diese Theorie zu widerlegen, da der Schöpfer dieser Theorie nicht nur eine stufenartige Entwicklung dieses symbiontischen Verhältnisses der Mykorrhiza annahm, sondern auch die Möglichkeit ihres Verlustes, und in diesem Zusammenhang auch eine Veränderung der Biologie der Pflanze, endlich sogar ihr wiederholtes Auftreten mit allen verloren gegangenen Eigenschaften.

Das Auftreten der Mykorrhiza bei einjährigen Pflanzen wird dadurch erschwert, daß sie nur unter solchen Bedingungen auftritt, die für ihre Entwicklung besonders günstig sind. (Müssen sich doch jedes Jahr die höheren Pflanzen mit einem entsprechenden Pilze zusammenfinden). Sie kann deshalb zeitweise (sporadisch) auftreten, was zur Folge hat, daß eine Pflanze einmal als mykotroph, das andere Mal als nicht mykotroph vorkommt. Falls die Bedingungen die Entwicklung der Mykorrhiza begünstigen, entwickelt sich diese sehr kräftig und wiederholt sich von Jahr zu Jahr. Dadurch ändert sich die Biologie der Pflanzen derart, daß sich einjährige Pflanzen in Dauerpflanzen verwandeln können.

In vielen Pflanzenfamilien kann man eine gesteigerte Entwicklung der Mykorrhiza beobachten, z. B. in der Familie der *Pirolaceae*.

Im Zusammenhange mit dem Auftreten der Mykorrhiza bei einjährigen und Dauerpflanzen und der eventuellen ursächlichen Abhängigkeit dieser Tatsache, untersuchte ich die Gattung *Viola*. Die untersuchten 45 Arten, Unterarten, Varietäten und Formen waren einjährige, zweijährige und ausdauernde Arten.

Wir besitzen sehr spärliche Literaturangaben über Violen-Mykorrhiza. Bei Stahl (1900) finden wir eine Notiz über das Auftreten der Mykorrhiza bei *Viola biflora*, *tricolor* und *pinnata*. *Viola palustris*

wurde von Frank (1887), Höveler (1892) und Stahl (1900) als frei von Verpilzung gefunden, dagegen finden wir bei Schlicht (1888) und bei H. Andres (1913) folgende Bemerkung: »*Viola palustris* besitzt eine Mykorrhiza«. Mc Dougall und Ch. Liebtog (1928) haben eine endotrophe Mykorrhiza bei *V. afinis* und *scabriuscula* festgestellt.

### Der anatomische Bau der Wurzeln der Gattung *Viola*.

Die jungen Wurzeln der von mir untersuchten *Viola*-Arten sind diarchisch. Endodermis und eine mehrschichtige primäre Rinde umgibt den Zentralzylinder und das einschichtige Pericambium (Fig. 1, Taf. 8). Wenn sich die Wurzel verdickt, teilen sich die Zellen der Endodermis, so daß endlich an Stelle einer mehrere Zellen entstehen (Fig. 2). Die Wände der Tochterzellen baut nur die innerste Zelluloseschicht. Phellogen entsteht im Pericambium schon nach der Verkorkung der Endodermis. Die sekundäre Rinde besteht aus Zellen, die dicke primäre Wände und dünnere sekundäre radiale Wände besitzen (Fig. 4).

Bei ausdauernden Arten überwiegen »fleischige« Wurzeln mit einer mehrschichtigen primären Rinde, während die Wurzeln der einjährigen Arten nur eine ein- bis zweischichtige Rinde besitzen. Fleischige Wurzeln sind bei diesen Arten sehr selten. Die primäre Rinde löst sich bei den einjährigen Arten früher als bei den ausdauernden Arten.

Bei allen untersuchten ausdauernden Arten der Gattung *Viola* habe ich eine innere Mykorrhiza festgestellt. Die Ansteckung durch den Symbionten erfolgt durch die Zellen der Epidermis (Fig. 6) oder durch die Wurzelhaare, was Prat ebenfalls für *Taxus baccata* und Asai (1934) für *Shibataea kumasasa* und *Briza minor* angeben. Das Pilzmycel durchwächst die Zellen der Epidermis und eine oder zwei äußere Rindenschichten, und bildet in den innersten Schichten der Rinde die für die Endomykorrhiza charakteristischen Organe. Es bilden sich also die »vésicules« und »arbuscules« mit den Sporangiolen (Gallaud 1905). Die sogenannten Organe befinden sich oft gleichzeitig in einer Zelle. Vielfach habe ich festgestellt, daß das Protoplasma der Wirtszelle das Myzel oder die Vesikeln mit einer Zellulosewand umgibt.

Die Mykorrhiza tritt in diesen jungen Teilen der Wurzeln auf, wo sich die primäre Rinde noch nicht gelöst hat, und in



diesen Wurzeln, die eine mehrschichtige Rinde und wenig Gefäße besitzen.

Die Ansteckung der Wurzeln und die weitere Entwicklung der Mykorrhiza kann in jeder Jahreszeit stattfinden.

*Viola odorata hort.*, die Anfang Januar im Agronomisch-Bot. Garten ausgegraben wurde und um diese Zeit nur Reste von Myzel in den Wurzeln besaß, entwickelte, in ein kaltes Gewächshaus verpflanzt, binnen zwei Wochen die Mykorrhiza. Die Herbstsaat der mehrjährigen *Viola arvensis* Murr. entwickelte die Mykorrhiza in derselben Vegetationsperiode.

Meine Untersuchungen über die Mykorrhiza bei der Gattung *Viola* erwiesen, daß die Ansteckung der Wurzeln von dem Entwicklungsstadium der Pflanze nicht abhängt, daß aber eine Abhängigkeit zwischen den Entwicklungsstadien der Mykorrhiza einerseits und den Entwicklungsstadien der Gefäßpflanze anderseits besteht.

Eine sehr kräftig ausgebildete Mykorrhiza stellte ich bei allen untersuchten ausdauernden Arten der Gattung *Viola* fest, dagegen gar keine bei der einjährigen. Das untersuchte Material stammt aus den Herbarien von: J. Zabłocki, Kraków, der Poln. Ak. d. Wiss. Kraków, des Bot. Inst. der Univ. Kraków und Lwów.

Die untersuchten Pflanzen wurden während der Blütezeit eingesammelt. Der Entwicklungsverlauf der Mykorrhiza während der Vegetationsperiode der Pflanze wurde bei der ausdauernden *Viola odorata hort.* und bei der zwei- bis dreijährigen *Viola arvensis* Murr. untersucht. Das Material der Herbarien wurde im Wasser eingeweicht, und im Alkohol mit Glycerin fixiert. Um das Vorkommen von Stärke festzustellen, wurden die Schnitte mit Kalijodlösung, und um den Bau der Zellwände sichtbar zu machen mit Chlorzink-Jodlösung gefärbt.

Von den untersuchten Arten wurde in den Wurzeln der folgenden Arten eine endotrophe Mykorrhiza festgestellt:

- Viola ambigua* W. et K.
- « *hirta* L.
- « *ambigua* × *hirta* Wiesb.
- « *alba* Bess.
- « « Bess. v. *virescens* Jord.
- « « × *hirta* Gr. et Godr. (*V. badensis* Wiesb.)

- Viola cyanea* Cel.  
 « « Cel. v. *perfimbrata* Borb.  
 « *collina* Bess.  
 « *cyanea* × *alba*  
 « *alba* × *odorata* (*multicaulis* Jord.)  
 « *mirabilis* L.  
 « *uliginosa* L.  
 « *epipsila* Led.  
 « *palustris* L.  
 « *Riviniana* Rchb.  
 « *silvestris* Rchb.  
 « *Jooi Janka*  
 « *pinnata* L.  
 « *Košanini* (Deg) Hayek  
 « *biflora* L.  
 « *fragrans* Sieb.  
 « *alpina* Jacq.  
 « *Grisebachiana* Wiesb.  
 « *heterophylla* Bert. sbsp. *epirotica* Beck.  
 « *Zoisii* Wulf.  
 « *gracilis* S. et Sm.  
 « *Clementiana* Boiss.  
 « *arsenica* Beck.  
 « *elegantula* Schott. sbsp. *latisepala* (Wettst.) Bckr.  
 « *declinata* W. et K.  
 « « W. et K. v. *occidentalis* Zapal.  
 « *lutea* Huds. sbsp. *sudetica* Bckr.  
 « « « » « « v. *stenosepala* Zapal.  
 « *alpestris* (D. C.) Bckr.

Bei folgenden Arten wurde die Mykorrhiza nicht vorgefunden:

- Viola Heldreichiana* Boiss.  
 « *Kitaibeliana* Roehm. et Schult.  
 « « « « v. *nana* D. C.  
 « *parvula* Tin.  
 « *tricolor* (L) Wittr. sbsp. *genuina* Wittr.  
 « « » « « « v. *maritima*  
 Schweigg. (von 4 Fundstellen)  
 « *arvensis* Murr.

- Viola arvensis* Murr. v. *agrestis* (Jord) Grénier.  
 «        «        «        v. *pallescens* Jord.  
 «        «        «        v. *communis* f. *gothlandica* Wittr.

Es ist daraus ersichtlich, daß bei allen untersuchten ausdauernden Arten die Mykorrhiza stets vorkam, daß sie dagegen bei den ausgeprägt einjährigen Arten in keiner erkennbaren Form festzustellen war. Eigenartig sind die diesbezüglichen Verhältnisse bei den Arten, die nach der betreffenden Literatur (Becker u. a.) sowohl einjährige wie auch mehrjährige und ausdauernde Formen enthalten.

Bei den ausdauernden Exemplaren der *Viola tricolor* L. sbsp. *genuina* Wittr. v. *maritima* Schweigg. aus Karwia (Pomorze) habe ich nämlich das Auftreten der Mykorrhiza festgestellt. Dagegen kam bei Exemplaren angeblich derselben Varietät von 4 anderen Standorten die Mykorrhiza nicht vor, und die betreffenden Pflanzen konnten nicht als ausdauernde Arten bestimmt werden. Es waren dies vielleicht großblütige *Viola tricolor*-Exemplare, oder Hybride-Formen zwischen *Viola tricolor* und der Varietät *maritima* Schweigg. Auch wurde die Mykorrhiza bei *Viola tricolor* L. f. *versicolor* Wittr. festgestellt, die bei Becker (1902) *Viola alpestris* (DC) Wittr. f. *versicolor* W. Becker heißt und als ausdauernde Art angesprochen wird (ibid.)

Eine *Viola Kitabeliana* R. et Sch. f. *hymettia* (Boiss. et Heldr.) Bckr. aus Lucania Potenza (Flora Ital. *exsiccata* Ser. III. 12—III, 1922) wies ebenfalls eine Mykorrhiza auf. Leider konnte man aber an den Pflanzen nicht erkennen, ob sie 1—2-jährige oder ausdauernde Arten sind, und ob die Pflanze wirklich der 1—2-jährigen *Viola Kitabeliana* sicher angehört.

Eine weitere Pflanze, vom Habitus der *Viola arvensis*, die in den Saaten in der Umgebung von Kraków gesammelt wurde, und bei der Untersuchung die Mykorrhiza aufwies, wurde in den Kulturen als mindestens mehrjährige Art gefunden.

Bei meinen Untersuchungen habe ich noch sehr oft das reichliche Auftreten der Stärkekörner unabhängig vom Vorkommen der Mykorrhiza festgestellt. Bei *Viola pinnata* L. trat eine merkwürdige Form der Stärkekörner auf (Fig. 11). Die Parenchymzellen des Zentralzylinders waren mit polyadelphischer Stärke prall gefüllt. Dieser Stärkeform begegnet man im allgemeinen in den Wurzeln sehr selten (Mayer 1895, p. 203).

Als Ergebnis meiner Untersuchungen stellte ich die Mykorrhiza bei allen untersuchten ausdauernden Arten dieser Gattung fest, ohne Rücksicht auf ihre Herkunft und ihren Biotyp.

Bei systematisch nicht einheitlichen Arten (Becker 1923), d. h. bei Arten, die einmal als einjährige, ein anderes Mal als zweijährige oder ausdauernde Pflanzen angegeben werden, habe ich die Mykorrhiza bei solchen Exemplaren festgestellt, die aus ausdauernden Formen hervorgegangen waren. Dagegen habe ich bei einjährigen Formen derselben Art die Mykorrhiza nie festgestellt.

In solchen Fällen, wo unter einjährigen Arten (*species*) Varietäten mit ausdauernden Exemplaren auftreten, z. B. bei *Viola tricolor* (L.) Wittr. sbsp. *genuina* Wittr. v. *maritima* Schweigg., weist diese ausdauernde Varietät die Mykorrhiza auf, dagegen fehlt sie gänzlich bei dem einjährigen Typus.

Nachdem ich ein sehr umfangreiches Versuchsmaterial von verschiedenen Standorten untersucht hatte, stellte ich fest, daß das Auftreten der Mykorrhiza bei der Gattung *Viola* von äußeren Faktoren gänzlich unabhängig ist. Als ich den Entwicklungsverlauf der Mykorrhiza untersuchte, bemerkte ich, daß ihr Auftreten von dem Entwicklungsstadium dieser Pflanzen vollkommen unabhängig ist, daß dagegen in gewissem Grade die Entwicklungsstadien der Mykorrhiza und der Pflanze im Zusammenhang stehen.

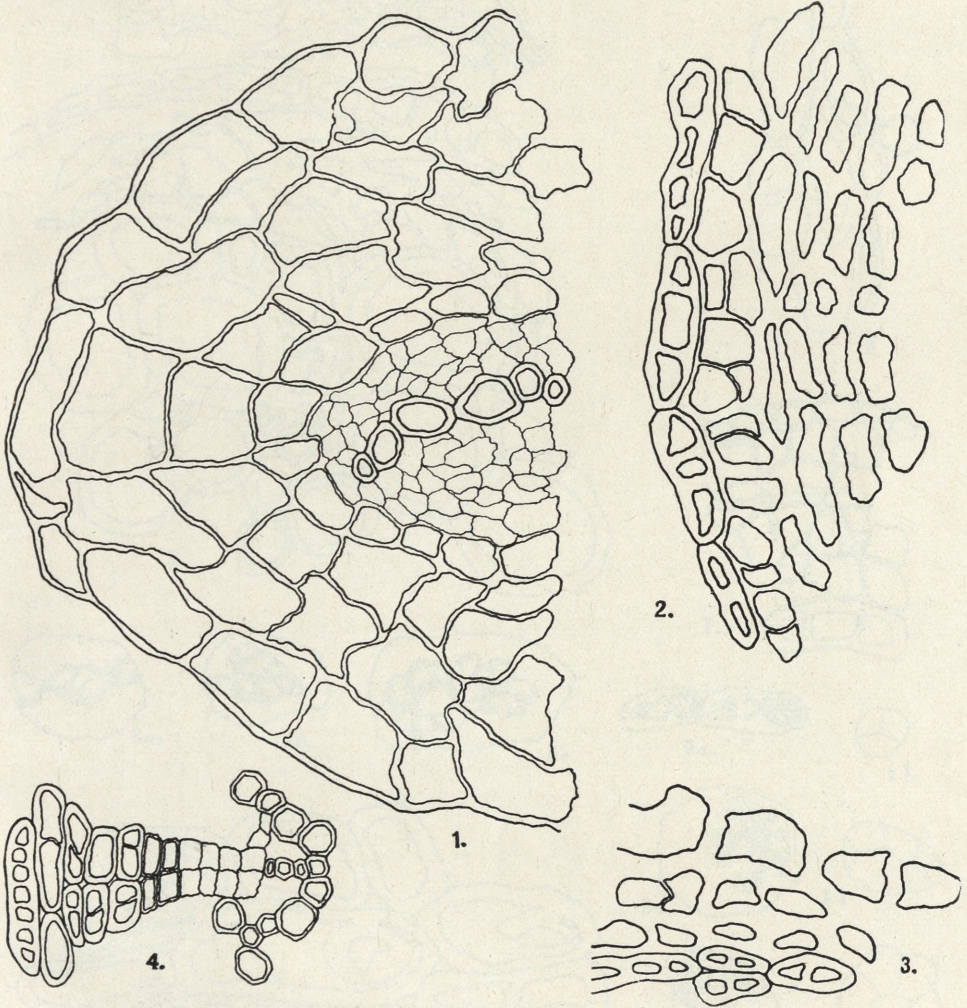
Die mit der Mykorrhiza behafteten Wurzeln der Veilchen unterscheiden sich in ihrem anatomischen Bau von jenen Wurzeln, die frei von der Mykorrhiza sind dadurch, daß sie verhältnismäßig weniger Gefäße und eine dickere primäre Rinde haben. Die Ablösung der primären Rinde verzögert sich bei den mit der Mykorrhiza behafteten Wurzeln.

Laboratorium Botanicum Janczewskianum U. J. Kraków.

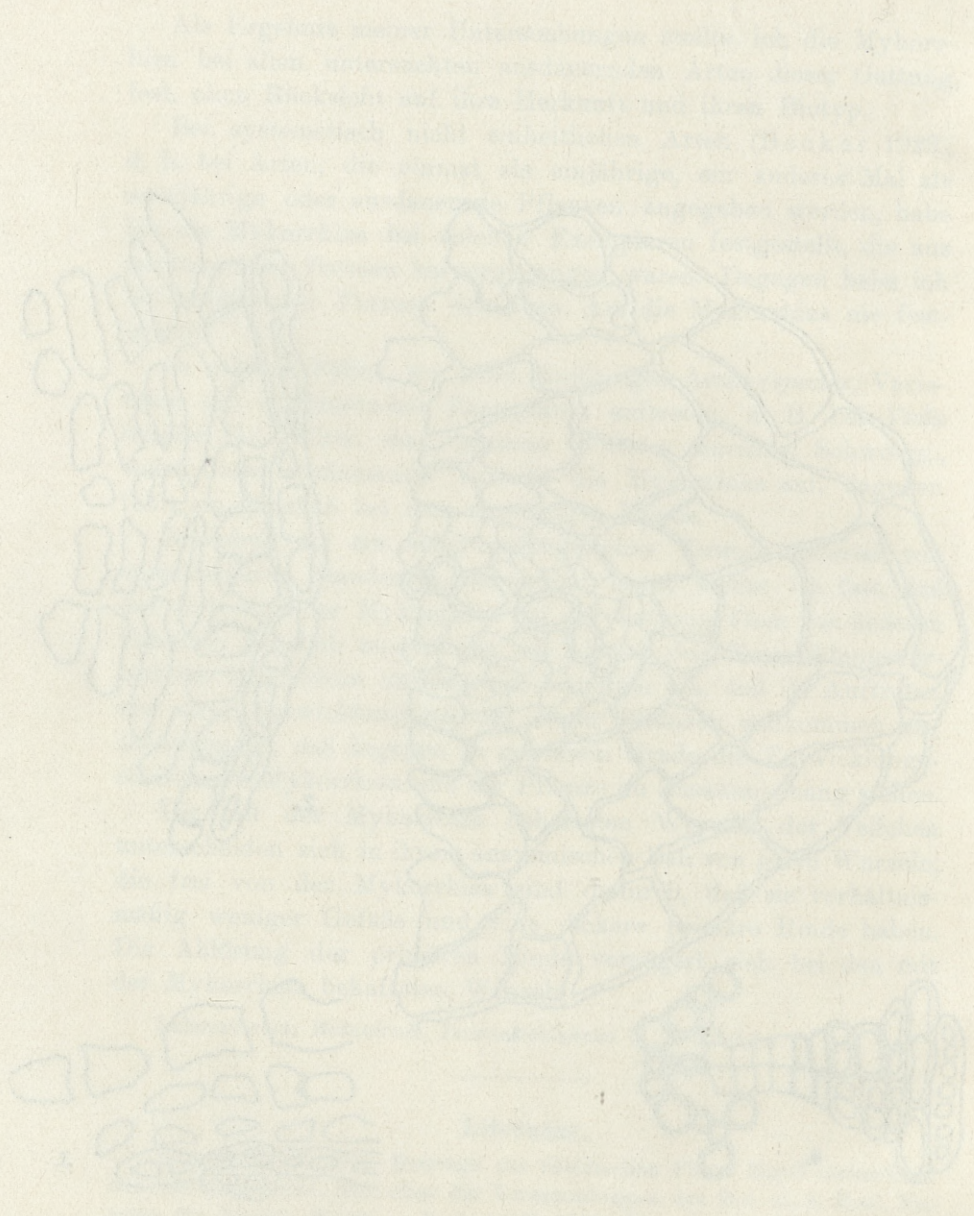
---

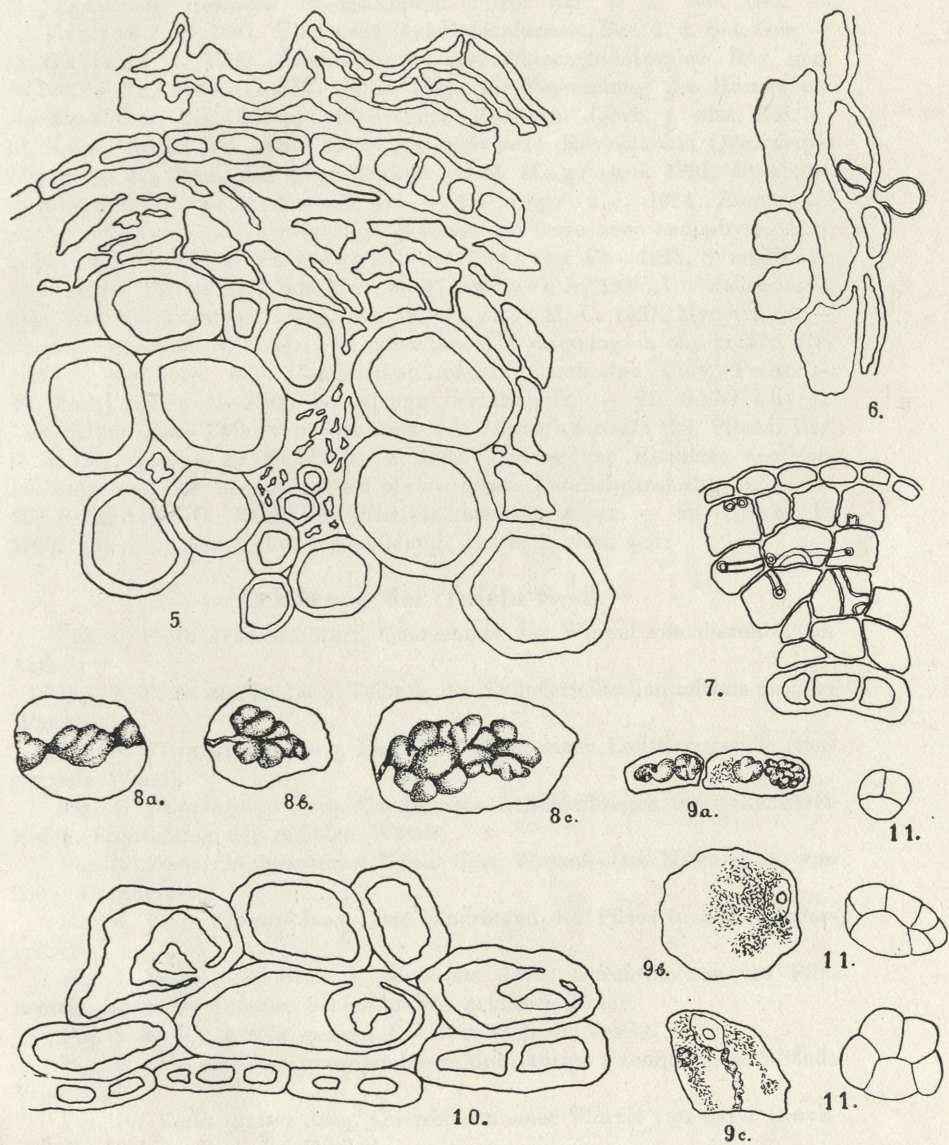
### Literatur.

1. Andres H. 1913. Beiträge zur rheinischen Flora. Zur Veilchenflora des Vereinsgebietes. Ber. über die Versammlungen des Bot. u. d. Zool. Vereins für Rheinl. Westf. — 2. Asai T. 1934. Über das Vorkommen u. die Bedeutung der Wurzelpilze in den Landpflanzen. Japanese Journal of Botany. II. — 3. De Bary A. 1879. Die Erscheinung der Symbiose. Strasbourg. — 4. Becker W. 1902. Die Veilchen der Bayerischen Flora. München. — 5. Becker W. 1916—23. *Violae Asiaticae et Australenses*. —

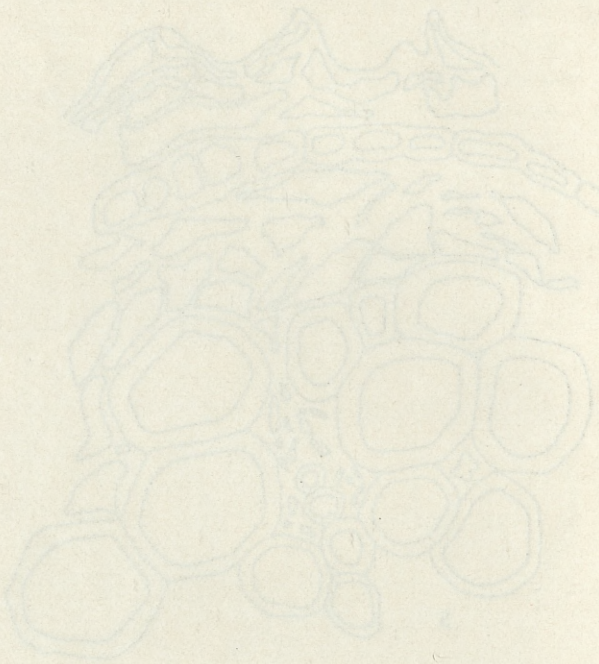


W. Zabłocka del.





W. Zabłocka del.





6. Bernard M. N. 1902. Études sur la tuberisation. Révue Général d. Botanique. — 7. Bernard M. N. 1909. L'évolution dans la symbiose. Ann. d. sc. nat. — 8. Faber v. Fr. 1925. Untersuchungen über die Physiologie der javanischen Solfataren-Pflanzen. Flora. — 9. Franck A. B. 1885. Über die Ernährung gewisser Bäume durch Pilze. Ber. d. d. Bot. Ges. — 10. Franck A. B. 1887. Über neue Mykorrhizaformen. Ber. d. d. Bot. Ges. — 11. Gallaud J. 1905. Études sur les mycorrhizes endotrophes. Rév. gén. de bot. — 12. Höveler W. 1892. Über die Verwertung des Humus bei der Ernährung der Chlorophyllführenden Pflanzen. Jahrb. f. wiss. Bot. — 13. Kamiński Fr. 1876. Narzędzia odżywcze Korzeniówki (*Monotropa Hypopitys* L.). Pam. Ak. Um., Kraków. — 14. Magrou J. 1921. Symbiose et tuberisation. Ann. d. Sc. nat. bot. — 15. Magrou J. 1924. Remarques sur les cultures expérimentales de Pommes de terre avec endophyte. Ann. d. Sc. nat. bot. — 16. Mc. Dougall and Liebtog Ch., 1928. Symbiosis in a deciduous Forest III. Bot. Gaz. — 17. Meyer A. 1895. Untersuchungen über die Stärkekörner. Jena. — 18. Rayner M. C. 1927. Mycorrhiza. — 19. Salaman R. N. 1924. The inheritance of cropping in the potato. Report of the Imp. Bot. Conference London. Cambridge Univ. Press. — 20. Schleiden M. 1842. Grundzüge der Botanik. — 21. Schlicht A. 1888. Über neue Fälle von Symbiose der Pflanzenwurzeln mit Pilzen. Ber. d. d. Bot. Ges. — 22. Schlicht A. 1889. Beitrag zur Kenntnis der Verbreitung und der Bedeutung der Mykorrhizen. Landwirtschaftl. Jahrb. — 23. Schröter C. 1908. Das Pflanzenleben der Alpen. — 24. Stahl E. 1900. Der Sinn der Mykorrhizenbildung. Jahrb. f. wiss. Bot.

### Erklärung der Tafeln 8—9.

- Fig. 1. *Viola arvensis* Murr. Querschnitt der Wurzel von diarchischem Aufbau.
- Fig. 2. *Viola alpina* Jacq. Teilung der Endodermiszellen mittels radialer Wände.
- Fig. 3. *Viola alpina* Jacq. Radiale Teilung einer Endodermiszelle (tangentielle Wand).
- Fig. 4. *Viola alpina* Jacq. Tangentielle Zellteilungen der sekundären Rinde. Entstehung der radialen Wände.
- Fig. 5. *Viola Heldreichiana* Boiss. Eine Wurzel ohne Mykorrhiza, von 250  $\mu$  Durchmesser.
- Fig. 6. *Viola alpina* Jacq. Das Eindringen des Pilzes in eine Exodermiszelle.
- Fig. 7. *Viola alba* Bess. v. *virescens* Jord. Durchwachsen des Pilzmyzels durch die äußeren Schichten der primären Rinde.
- Fig. 8. a. b. c. *Viola cyanea* Cel.  $\times$  *alba* Bess. Vesikel.
- Fig. 9. a. b. c. *Viola arvensis* Murr. Mehrjährige Exemplare, zerfallende Vesikeln.
- Fig. 10. *Viola alpina* Jacq. Querschnitt einer Wurzel von 400  $\mu$  Durchmesser. Einkapselung der Vesikel.
- Fig. 11. *Viola pinnata* L. Polyadelphische Stärkekörner.



*Studia nad oznaczaniem fosforu nukleinowego w nasionach bobiku (Vicia faba minor). — Recherches sur le dosage du phosphore nucléique dans les graines de féverole (Vicia faba minor).*

Mémoire

de M. **TH. LITYŃSKI**,

présenté le 8 juin 1936, par M. F. Rogoziński m. t.

Les substances protéiques contenant du phosphore entrent régulièrement dans la composition du protoplasme. Connues sous le nom de nucléoprotéides, elles sont surtout abondantes dans les noyaux des cellules végétales. On les rangeait autrefois parmi les protéides, c'est-à-dire dans le groupe des substances protéiques composées qui, à côté du composant protéique proprement dit, renferment un composant non protéique, autrement le groupe prostétique, lié chimiquement au complexe albumineux. L'acide nucléique était censé représenter ce groupe prostétique. Les nucléoprotéides étant considérés aujourd'hui comme sels des substances protéiques avec les acides nucléiques, on ne les range généralement plus parmi les protéides, comme c'est p. ex. le cas des phosphoprotéides dont l'acide phosphorique est lié aux protéines, non sous la forme de sel, mais sous celle d'un éther (15, 8). On ne trouve cependant pas de phosphoprotéides dans le règne végétal, aussi les nucléoprotéides sont-ils les seules substances protéiques qui renferment du phosphore. Autrefois, soit à l'époque où l'on ne savait pas obtenir des préparations protéiques à l'état parfaitement pur, la littérature scientifique mentionnait parfois des phosphoprotéides contenus dans différentes graines. Ce n'est que T. Osborne (13) qui a fourni la preuve que ces préparations qu'on prenait pour des phosphoprotéides d'origine végétale, n'étaient

autre chose que des substances protéiques souillées par des phosphates inorganiques ou des acides nucléiques.

On a vainement cherché jusqu'ici à trouver un rapport quantitatif fixe entre l'acide nucléique et les composants protéiques des nucléoprotéides. Une série de travaux plus anciens ou récents semble parler en faveur de la supposition que nous sommes en présence d'un rapport quantitatif instable et variable entre ces deux composants. On considère généralement aujourd'hui les nucléoprotéides comme des corps formés de deux composants à l'instar des sels. Comme leurs molécules renferment de nombreux groupes acides et basiques, ces composants peuvent former des substances dont le degré de saturation est différent (5). Il est douteux que les nucléoprotéides soient répandus comme tels dans les plantes; en effet, bien des raisons militent pour l'hypothèse qu'il s'agit plutôt de produits artificiels, obtenus dans les laboratoires, dont la composition dépend d'une série de facteurs externes, en premier lieu de la concentration des ions d'hydrogène du milieu.

Les nucléoprotéides ne sont nullement les seuls composés phosphorés qu'on trouve dans les substances d'origine végétale; au contraire, ces composés sont très variés dans les plantes. Une partie du phosphore se présente sous forme de phosphates inorganiques, tandis que le reste apparaît sous l'aspect de composés phosphorés organiques, tels que les composés phytiques, hexososphorés, lipidiques et nucléiques.

Toutes les méthodes appliquées jusqu'à présent au dosage du phosphore nucléique, méritent d'être appelées »méthodes par reste«.

Elles consistent en effet à doser le phosphore dans le reste de la substance étudiée, après en avoir préalablement écarté le phosphore lipidique et le phosphore soluble dans les acides. Les résultats des dosages du phosphore nucléique, qu'on obtient en appliquant ce procédé, peuvent être exacts, à condition d'extraire des matières végétales examinées, toutes les autres espèces de composés phosphorés, en particulier les composés phytiques.

Si l'on néglige d'extraire tout le contenu de composés lipidiques, il arrive d'obtenir des quantités de phosphore nucléique un peu trop élevées, quoique cette erreur ne puisse être bien grande, vu que ces composés ne constituent qu'une faible partie du phosphore global. L'extraction incomplète des composés phy-

tiques peut avoir une bien plus grande influence sur l'exactitude des valeurs relatives au phosphore nucléique. Pour écarter le phosphore phytique et le phosphore minéral, les auteurs plus anciens se servaient surtout d'acide acétique à 1%. Comme, d'après Z. Koehler (6), ce dissolvant est incapable de lessiver tout le contenu de composés phytiques que renferment les substances végétales, on obtient des valeurs trop élevées pour le phosphore nucléique lorsqu'on emploie de l'acide acétique. L'erreur est alors assez forte, parce que, surtout dans les graines, les composés phytiques constituent une partie considérable du phosphore global.

Le rapport quantitatif entre l'échantillon de la substance analysée et le dissolvant est un autre facteur qui peut avoir une répercussion sur la quantité de phosphore extrait des graines à l'aide d'acide chlorhydrique à 1%. Z. Koehler a fourni la preuve que le fait d'employer moins de substance par rapport au dissolvant, entraînait généralement une augmentation de la quantité de phosphore dans les extraits. Même en employant de très faibles quantités de substance par rapport au dissolvant, les valeurs qu'il a obtenues pour les composés phosphorés solubles dans de l'acide chlorhydrique à 1%, ne dépassaient qu'insensiblement celles qu'il avait enregistrées lorsque le rapport substance: dissolvant équivalait à 1:100, aussi l'a-t-il le plus souvent appliqué dans ses expériences ultérieures.

Le premières expériences devaient nous renseigner sur l'influence qu'une quantité de substance plus forte, respectivement plus faible, par rapport au dissolvant, exerçait sur le contenu de phosphore nucléique, dosé en appliquant la méthode »par reste«. On se sert dans les épreuves, de farine de féverole qui contenait 1.395% de  $P_2O_5$  global, 4.804% de N global et 0.0658% de phosphore lipidique. Dans les dosages des composés phosphorés solubles dans de l'acide chlorhydrique à 1%, le rapport de la farine au dissolvant équivalait à 1:25, 1:50 et 1:100. On procédait comme suit pour éviter les lavages de la farine restée après l'extraction à l'aide d'acide chlorhydrique: 1) dans une portion d'extrait de 50 cm<sup>3</sup>, on dosait le phosphore total dissous en évaporant à sec et en brûlant le reste à l'aide d'un mélange d'acides sulfurique et azotique, ainsi qu'en précipitant les phosphates avec une mixture magnésique d'abord, puis avec le réactif molybdique d'après Lorenz; 2) le reste de l'extrait et le filtre avec la

substance qui le recouvrait, étaient brûlés, ensuite on dosait le phosphore total comme ci-dessus. Après avoir défalqué de la valeur trouvée sous 2), la quantité de composés phosphorés que contenait le reste de l'extrait, on obtenait le total de phosphore nucléique et de phosphore lipidique. En soustrayant de cette quantité la valeur trouvée pour le phosphore lipidique on avait enfin la valeur correspondant au phosphore nucléique (tabl. I).

TABLEAU I.

Proportion de la préparation et de l'acide employé	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> soluble dans du HCl à 1 p. c., exprimé en p. c. de la préparation	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> nucléique et lipidiques en p. c. de la préparation	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> nucléique exprimé	
			en p. c. de la préparation	en p. c. du P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> global
1	2	3	4	5
1:25	1.140	0.250	0.184	13.19
1:50	1.174	0.212	0.146	10.47
1:100	1.183	0.198	0.132	9.46

La comparaison de chiffres de la seconde colonne du tableau, nous apprend que le rapport entre la quantité de la farine et celle du dissolvant employé, exerce de l'influence sur la quantité des composés phosphorés passant dans l'extrait, lorsqu'on se sert d'acide chlorhydrique à 1% pour procéder au lessivage, comme il en appert que ce rapport retentit, quoique indirectement, sur la quantité de phosphore nucléique (colonne 4). Lorsque la valeur du rapport substance:dissolvant augmente progressivement, on obtient successivement de moindres quantités de phosphore nucléique, à l'encontre de ce qui a lieu pour les composés phosphorés, solubles dans de l'acide chlorhydrique à 1%. Si nous nous appuyons sur les données de Z. Koehler, nous pouvons supposer que cette influence est insignifiante lorsque la valeur du rapport substance:dissolvant est supérieure à 1:100 et que par conséquent les quantités de phosphore nucléique obtenues par la méthode indirecte, en appliquant des rapports dont la valeur serait encore plus élevée, seront à peu près les mêmes.

En abordant les épreuves en vue d'élaborer une méthode qui permettrait d'isoler les composés nucléiques des substances phosphorées et rendrait possible le dosage du phosphore nucléique par la méthode directe, nous avons tiré parti de deux propriétés

particulières aux composés nucléiques, savoir: 1) de leur grande solubilité dans les alcalis, conséquence de leur nature acide; 2) de leur faculté de se séparer des acides sous forme de nucléoprotéides, dans des solutions qui renferment des substances protéiques. Les premiers essais de s'appuyer sur ces données pour établir une méthode, grâce à laquelle on pourrait isoler quantitativement les composés nucléiques des autres fractions de composés phosphorés, ne furent inaugurés que par Z. Koehler (7). A l'occasion de ses recherches sur la solubilité des composés phosphorés des embryons de seigle, dans des liquides dont la concentration des ions d'hydrogène était différente, cet auteur fit une série d'expériences fort intéressantes qui l'amènèrent à conclure que «une acidification appropriée des extraits renfermant des substances protéiques et des composés nucléiques, permet de précipiter ces derniers, de façon que toute la quantité des composés constituant la fraction phytique et tous les phosphates minéraux restent dans la solution».

M. Javillier et Y. Colin (4) décrivent une méthode permettant de doser le phosphore nucléique. Elle consiste à lessiver les substances végétales étudiées (embryons de froment, farine de lentille), préalablement débarrassées des composés lipidiques, en les traitant pendant 30 minutes par une solution de chlorure de sodium à 12.5%, portée à la température d'ébullition. Les composés nucléiques que contient l'extrait, sont ensuite précipités à l'aide d'acide chlorhydrique. Il est cependant douteux que cette méthode donne des valeurs exactes pour le phosphore nucléique, et cela pour les raisons suivantes: 1) les auteurs reconnaissent eux-mêmes qu'une solution de chlorure de sodium à 12.5% est incapable d'extraire tout le contenu de phosphore que renferment les matériaux qu'ils ont étudiés, de sorte qu'il y reste 5 à 6% de phosphore insoluble; 2) on ne saurait exclure la possibilité qu'en acidifiant l'extrait avec de l'acide chlorhydrique, les composés phytiques ne fussent précipités en même temps que les composés nucléiques.

Désirant nous renseigner sur la manière dont se comportent les composés phosphorés de la farine de féverole lorsqu'on les traite par des solutions d'hydrate de sodium dont les concentrations sont différentes, nous avons prélevé environ 8 gr de farine pour les soumettre pendant 3 heures à l'action de 200 cm<sup>3</sup> de NaOH d'une concentration appropriée. Nous agitions ensuite et filtrions le mélange, puis nous prélevions 50 cm<sup>3</sup> du filtrat,

afin d'y doser la quantité globale de composés phosphorés, dosage auquel nous procédions d'une manière analogue à celle dont nous nous étions servis pour doser le phosphore total, soluble dans de l'acide chlorhydrique à 1%. Les résultats ainsi obtenus qu'on trouve dans le tableau II, permettent d'établir en premier lieu que les composés phosphorés que contiennent les graines de féverole, sont très facilement solubles dans l'hydrate de sodium (12). Une solution de NaOH à 0.6% lessive à peu près tout le contenu de composés phosphorés, tandis que des solutions dont la concentration varie de 0.5 à 0.02%, font passer plus de 90% de phosphore global dans l'extrait. Quoique ces résultats ne constituent pas une preuve absolue que ces concentrations de NaOH lessivent tout le contenu de phosphore nucléique, ils nous font supposer que l'extraction des composés nucléiques est complète dans ces conditions.

TABLEAU II

Concentration de NaOH en p. c.	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> soluble exprimé	
	en p. c. de la préparation	en p. c. du P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> global
0.02	1.290	92.47
0.04	1.281	91.83
0.08	1.285	92.11
0.1	1.316	94.34
0.2	1.320	94.62
0.4	1.335	95.70
0.5	1.334	95.63
0.6	1.378	98.78

Comme le phosphore nucléique de la farine de féverole correspondait à peine à 10% du phosphore total et comme l'extrait obtenu à l'aide d'une solution d'hydrate de sodium à 0.1% en contenait plus de 90%, il s'ensuivait que l'extrait alcalin était un mélange de différents composés phosphorés et qu'il devait forcément renfermer non seulement des composés nucléiques, mais encore de grandes quantités de composés phytiques et de phosphates minéraux. Il ne fallait donc pas perdre de vue qu'en précipitant les composés phosphorés dans un mélange pareil, on pouvait s'attendre que l'acidification de l'extrait entraînerait peut-être non seulement la précipitation du phosphore nucléique, mais aussi



celle d'une partie du phosphore phytique. Les recherches de Z. Koehler (6), de Z. Lindenbaum (9), de Z. Minkowska (11), puis les investigations de E. Mnich (12), de E. Pischinger (14) et de H. Wiązownicka (17) nous apprennent en effet qu'en se combinant avec les substances protéiques de l'extrait, en présence de certaines concentrations des ions d'hydrogène, le phosphore phytique peut former des composés insolubles dans les acides. Une solution d'acide chlorhydrique à 1% étant capable d'extraire tout le contenu de composés phytiques que renferment des substances végétales, nous étions en droit de nous attendre cependant, que la combinaison de ces composés insolubles de phytine avec les substances protéiques n'aurait lieu sur une plus grande échelle que dans des solutions dont le degré d'acidité était inférieur à celui de l'acide chlorhydrique à 1% et que, l'acidification de l'extrait alcalin étant plus forte, nous réussissions à en isoler uniquement les composés nucléiques. D'autre part, il fallait prendre garde de ne pas trop acidifier l'extrait, pour ne pas créer de conditions dans lesquelles les composés nucléiques auraient été susceptibles de se dissoudre. La difficulté d'opérer une séparation quantitative des composés nucléiques en les isolant des autres espèces de composés phosphorés, consistait donc à trouver des concentrations appropriées de l'acide chlorhydrique, dans lesquelles les premiers n'auraient pas été dissous, tandis que les composés phytiques auraient résisté à la précipitation.

Pour trouver le taux approprié de la concentration de l'acide chlorhydrique, on prélevait des portions égales de l'extrait obtenu à l'aide d'une solution d'hydrate de sodium à 1%, le rapport farine : dissolvant correspondant à 1:25. Ces portions étaient acidifiées ensuite avec de l'acide chlorhydrique dont la concentration passait successivement de 0.09 à 13.36%. On déterminait par la méthode électrométrique la concentration des ions d'hydrogène, en se servant à cet effet de l'électrode à calomel et de l'électrode quinhydrique. Les précipités étaient centrifugés, lavés avec une solution acidifiée de NaCl, puis on y dosait le phosphore et l'azote.

Dans les dépôts obtenus en appliquant un dissolvant relativement peu acide dont le pH variait de 2.08 à 1.41, on décela de très fortes quantités de P et de N, qui s'expliquaient non seulement par la précipitation des composés nucléiques, mais aussi par celle des composés phytiques qui forment, à ces degrés d'acidité, des

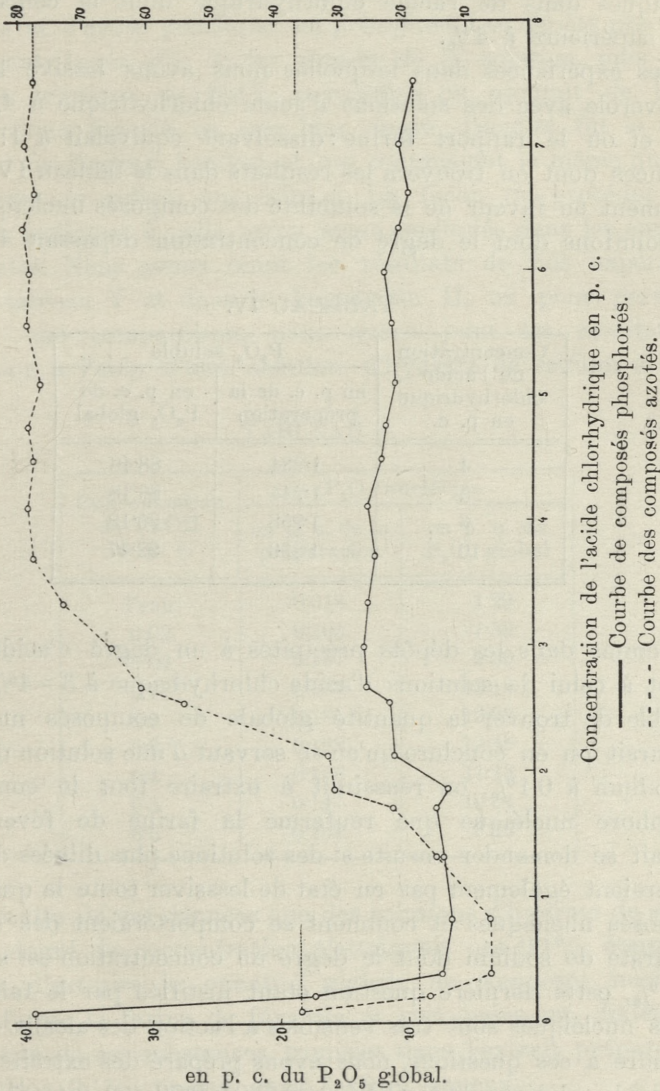
substances insolubles en se combinant avec les corps protéiques. A mesure que l'acidité de la solution augmentait, les quantités de phosphore précipité diminuaient progressivement, pour atteindre enfin des valeurs relativement fixes, lorsque la concentration de l'acide chlorhydrique équivalait environ à 1—2% (le pH variant de 1.08 à 0.79). En se servant de ces concentrations de HCl, les composés phytiques restaient dans la solution et ce n'étaient que les composés nucléiques qui étaient précipités. Une plus forte concentration de l'acide chlorhydrique entraînait la précipitation du restant des composés nucléiques et des substances protéiques, ce dont témoignaient aussi bien la quantité augmentée de phosphore que l'accroissement du contenu d'azote dans les précipités. Les augmentations n'avaient plus lieu lorsque la concentration du HCl s'élevait à environ 3% (pH = 0.51) et demeuraient sans changement

TABLEAU III.

Nr	pH	Concentration de l'acide chlorhydrique en p.c.	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>		N	
			en p. c. de la préparation	en p. c. du P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> global	en p. c. de la préparation	en p. c. du N global
1	2.08	0.09	0.548	39.28	1.765	36.74
2	1.64	0.21	0.242	17.35	0.799	16.63
3	1.41	0.39	0.101	7.24	0.348	7.24
4	1.08	0.82	0.090	6.45	0.348	7.24
5	0.94	1.32	0.099	7.10	0.744	15.49
6	0.81	1.71	0.107	7.67	1.066	22.19
7	0.79	1.86	0.094	6.74	1.516	31.56
8	0.74	2.12	0.152	10.90	1.585	32.24
9	0.68	2.55	0.157	11.25	2.630	54.75
10	0.63	2.67	0.182	13.05	2.957	61.55
11	0.51	2.99	0.185	13.26	3.168	65.95
12	0.45	3.34	0.181	12.98	3.532	73.52
13	0.43	3.71	0.173	12.40	3.743	77.91
14	0.42	4.11	0.181	12.98	3.808	79.27
15	0.39	4.46	0.166	11.90	3.764	78.35
16	0.38	4.76	0.162	11.61	3.814	79.39
17	0.35	5.10	0.152	10.90	3.706	77.15
18	0.34	5.58	0.155	11.11	3.807	79.25
19	0.32	5.99	0.162	11.61	3.766	78.39
20	0.31	6.34	0.145	10.40	3.828	79.68
21	0.30	6.62	0.134	9.61	3.722	77.48
22	0.30	7.01	0.144	10.32	3.803	79.16
23	0.29	7.52	0.128	9.18	3.732	77.69

jusqu'à une concentration de 4.46 environ (pH = 0.39). Les quantités

Diagramme I.  
en p. c. du N global.



de phosphore précipitées par ces concentrations de HCl correspon-  
daient à celles du phosphore nucléique décelées par la méthode

indirecte, le rapport farine : dissolvant étant le même. En continuant à acidifier la solution, on voyait baisser, quoique insensiblement, le contenu de phosphore, baisse qu'il était cependant possible de déceler et qui s'expliquait par la dissolution lente des composés nucléiques dans de l'acide chlorhydrique dont la concentration était supérieure à 4%.

Les expériences dans lesquelles nous avons lessivé la farine de féverole avec des solutions d'acide chlorhydrique à 4, 5, 6 et 10% et où le rapport farine : dissolvant équivalait à 1:100, expériences dont on trouvera les résultats dans le tableau IV, parlent également en faveur de la solubilité des composés nucléiques dans des solutions dont le degré de concentration dépassait 4%.

TABLEAU IV.

Concentration de l'acide chlorhydrique en p. c.	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> soluble	
	en p. c. de la préparation	en p. c. du P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> global
4	1·234	88·46
5	1·244	89·18
6	1·258	90·18
10	1·290	92·47

Comme dans les dépôts précipités à un degré d'acidité équivalant à celui de solutions d'acide chlorhydrique à 3–4%, il était possible de trouver la quantité globale de composés nucléiques, on aurait pu en conclure qu'en se servant d'une solution d'hydrate de sodium à 0·1%, on réussirait à extraire tout le contenu de phosphore nucléique que renferme la farine de féverole. On pouvait se demander ensuite si des solutions plus diluées de NaOH ne seraient également pas en état de lessiver toute la quantité de composés nucléiques et comment se comporteraient des solutions d'hydrate de sodium dont le degré de concentration est supérieur à 0·1%, cette dernière question étant justifiée par le fait que les acides nucléiques sont très sensibles à l'action des alcalis. Désirant répondre à ces questions, nous avons préparé des extraits obtenus à l'aide de solutions de NaOH à 0·02, 0·04, 0·08, 0·2, 0·4, 0·5 et 0·6%, en ayant soin que le rapport farine : dissolvant soit le même que celui dont nous nous sommes servis en lessivant la farine avec

une solution d'hydrate de sodium à 0.1%, où il équivalait à 1:25. Nous avons additionné ensuite les extraits d'autant d'acide chlorhydrique qu'il fallait pour que le taux de HCl dans la solution s'élevât régulièrement à 4.11%, concentration à laquelle, comme nous l'avons montré ci-dessus, toute la quantité de phosphore nucléique et d'azote protéique est précipitée. Les dépôts précipités étaient centrifugés afin de les séparer de la solution, puis lavés avec des solutions de NaCl, auxquelles on ajoutait de l'acide chlorhydrique jusqu'à ce que leur degré d'acidité fût le même que celui de l'extrait analysé et qui contenaient la même quantité de chlorure de sodium que celui-ci. La façon de procéder était d'ailleurs analogue à celle qu'on avait appliquée dans les épreuves précédentes. Nous avons réuni les résultats de nos expériences dans le tableau V et dans le diagramme II, où pour permettre d'établir une comparaison, nous avons joint les résultats de l'extraction à l'aide d'une solution d'hydrate de sodium à 0.1%.

TABLEAU V.

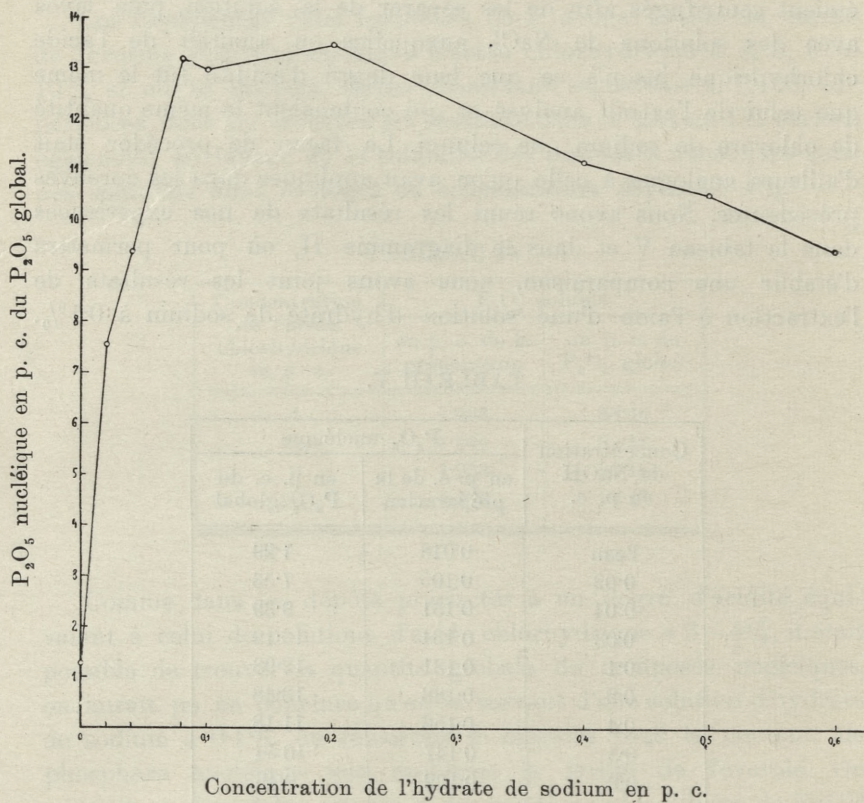
Concentration de NaOH en p. c.	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> nucléique	
	en p. c. de la préparation	en p. c. du P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> global
l'eau	0.018	1.29
0.02	0.105	7.53
0.04	0.131	9.39
0.08	0.184	13.19
0.1	0.181	12.98
0.2	0.188	13.48
0.4	0.156	11.18
0.5	0.147	10.54
0.6	0.132	9.46

Il résulte de ces données que des solutions d'hydrate de sodium dont le degré de concentration n'atteignait pas 0.1%, étaient incapables d'extraire la quantité globale de composés nucléiques que renferme la farine de féverole et qu'à peine un dixième de la quantité de ces substances, trouvées dans l'extrait préparé avec du NaOH à 0.1%, passait dans l'extrait aqueux.

L'abaissement du tracé de la courbe correspondant au phosphore nucléique dans des extraits à base d'hydrate de sodium dont le

degré de concentration est supérieure à 0.2<sup>0</sup>/<sub>0</sub>, semble indiquer que les composés nucléiques sont probablement voués à la désagrégation sous l'action de ces dissolvants. Voulant nous rendre compte de quel genre de désagrégation il s'agit, nous avons

Diagramme II.



dosé le phosphore minéral dans des extraits à base d'hydrate de sodium à 0.1<sup>0</sup>/<sub>0</sub> ainsi que dans d'autres, plus concentrés que ceux-ci. On a appliqué une méthode élaborée par l'auteur (10) en procédant aux dosages. Le rapport de la farine au dissolvant équivalait régulièrement à 1:25 et la durée du lessivage s'étendait 3 heures. On trouvera dans le tableau VI les résultats de ces dosages.

TABLEAU VI.

Concentration de NaOH en p. c.	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> minéral	
	en p. c. de la préparation	en p. c. du P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> global
0.1	0.170	12.19
0.2	0.170	12.19
0.4	0.174	12.47
0.5	0.183	13.12
0.6	0.188	13.48

Nous sommes frappés, en considérant les données réunies dans ce tableau, par une certaine constance que présentent les quantités de phosphore minéral dans les solutions où la concentration d'hydrate de sodium varie de 0.1 à 0.4%. Un accroissement du contenu de phosphates minéraux ne s'observe que dans les solutions plus concentrées d'hydrate de sodium où le taux de celui-ci correspond à 0.5 et 0.6%. L'acide phosphorique minéral ne se détache donc pas de la molécule d'acide nucléique dans des solutions de NaOH dont la concentration oscille entre 0.1 et 0.4%. Nous savons d'autre part (v. tabl. V) qu'on constate une baisse manifeste du contenu de phosphore nucléique dans une solution à 0.4%, baisse qui témoigne à n'en pas douter de la décomposition de l'acide nucléique. On pourrait en conclure que dans une solution d'hydrate de sodium de cette concentration, la molécule polynucléotide se désagrège en mononucléotides.

Les quantités de plus en plus fortes de phosphore minéral dans les extraits obtenus à l'aide de solutions de NaOH à 0.5 et 0.6%, pourraient nous faire supposer qu'au cours de la décomposition de l'acide nucléique dans ces solutions plus concentrées, le phosphore minéral se détache des nucléotides préalablement formés. Il n'est cependant guère possible de répondre en toute certitude à la question de savoir, si une désagrégation du complexe mononucléotide en nucléosides a réellement lieu dans ces conditions. On ne doit pas perdre de vue en effet qu'en dehors des composés nucléiques, les extraits alcalins renferment encore d'autres substances phosphorées. Ainsi qu'il résulte du contenu de phosphore total qu'on trouve p. ex. dans un extrait préparé à l'aide d'une solution d'hydrate de sodium à 0.6%, contenu déjà très proche de la quantité globale de phosphore dans la farine de féverole, il

s'agit en premier lieu de la grande quantité de composés phytiques puis des composés lipidiques. On ne saurait donc exclure la possibilité qui paraît même très probable, que les quantités plus fortes de phosphore minéral, trouvées dans ces solutions relativement concentrées d'hydrate de sodium, sont précisément un produit de la décomposition de ces substances phosphorées organiques. C'est surtout la décomposition des substances lipidiques qui peut entrer en jeu, car nous savons que les composés phytiques résistent en général à l'action des alcalis [E. Winterstein (18), W. Vorbrodt (16)].

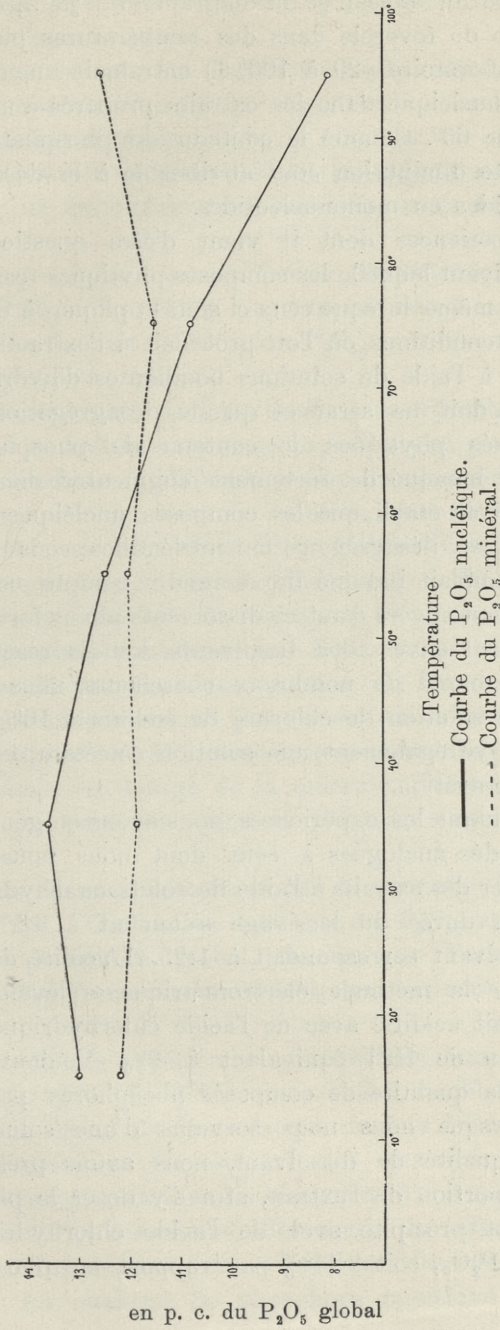
Voulant nous rendre compte comment les composés nucléiques se comporteraient dans une solution d'hydrate de sodium à 0.1% dans des températures plus élevées que celle du laboratoire, nous avons procédé comme suit: des portions de farine de féverole de 8 gr étaient traitées par 200 cm<sup>3</sup> de solution de NaOH à 0.1%. Elles étaient pesées et agitées ensuite jusqu'au moment où elles constituaient un mélange complètement homogène, ce qui d'habitude durait 30 minutes; après quoi on les chauffait au bain-marie pendant 2 heures et demie, en les portant à différentes températures et en les mélangeant de temps en temps avec un thermomètre. Le lessivage une fois terminé, l'extrait était refroidi jusqu'à ce que sa température correspondît à celle du laboratoire, puis il était pesé de nouveau et filtré. Nous prélevions 50 cm<sup>3</sup> de filtrat pour y doser le phosphore nucléique, ainsi qu'un volume déterminé en vue du dosage des phosphates minéraux. La portion devant servir à doser le phosphore nucléique, était acidifiée avec de l'acide chlorhydrique jusqu'à ce que la concentration de celui-ci atteignit 4.11%, puis le dépôt précipité était centrifugé et brûlé. Le tableau VII et le diagramme III nous renseignent sur les résultats des dosages.

TABLEAU VII.

Température	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> nucléique		P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> minéral	
	en p. c. de la préparation	en p. c. du P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> global	en p. c. de la préparation	en p. c. du P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> global
10—20°	0.181	12.98	0.170	12.19
30—40°	0.189	13.55	0.165	11.83
50—60°	0.174	12.47	0.168	12.04
70—80°	0.150	10.75	0.160	11.47
90—100°	0.114	8.17	0.175	12.55



Diagramme III.



Il résulte du tableau et du diagramme ci-joint, que le lessivage de la farine de féverole dans des températures plus élevées que celle du laboratoire (20 à 100° C) entraînait une diminution du phosphore nucléique dans les extraits préparés à une température au-dessus de 60°. Comme le contenu de phosphates n'avait pas changé, cette diminution était attribuable à la décomposition des polynucléotides en mononucléotides.

Les expériences dont il vient d'être question, corroborent l'opinion suivant laquelle les composés phytiques résistent à l'action des alcalis, même lorsque ceux-ci sont appliqués à chaud. En effet, si dans les conditions où l'on procédait à l'extraction de la farine de féverole à l'aide de solutions bouillantes d'hydrate de sodium, il s'était produit ne serait-ce qu'une désagrégation insignifiante des composés phytiques, le contenu de phosphates minéraux n'aurait pas manqué de fortement augmenter dans les extraits.

Après avoir établi que les composés nucléiques de la farine de féverole se désagrègent en nucléotides sous l'influence des alcalis, il semblait indiqué de se rendre compte comment ils se comporteraient envers d'autres dissolvants moins fortement alcalins, respectivement envers des dissolvants dont la réaction est neutre. Suivant l'exemple de nombreux chercheurs, nous nous sommes servis d'une solution de chlorure de sodium à 10%, comme nous avons employé également une solution d'acétate de sodium de la même concentration.

En exécutant les expériences, nous avons en général eu recours à des procédés analogues à ceux dont nous étions servis pour préparer des extraits à l'aide de solutions d'hydrate de sodium à 0.1%. La durée du lessivage s'étendait à 3 h et le rapport farine : dissolvant correspondait à 1:25. L'acidité de l'extrait déterminée par la méthode électrométrique, s'élevait à  $\text{pH} = 5.40$ . L'extrait était acidifié avec de l'acide chlorhydrique, jusqu'à une concentration de HCl équivalant à 4%. Voulant nous rendre compte de la quantité de composés phosphorés passant dans la solution, lorsque nous nous servions d'une solution de NaCl à 10% en qualité de dissolvant, nous avons prélevé en même temps une portion de l'extrait, afin d'y doser le phosphore total.

Le dépôt précipité avec de l'acide chlorhydrique contenait 0.034% de  $\text{P}_2\text{O}_5$ , soit 2.44% par rapport au phosphore global;

on décéla dans l'extrait 1.241<sup>o</sup>/<sub>o</sub> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, c'est-à-dire 88.96<sup>o</sup>/<sub>o</sub> par rapport au phosphore global.

Nous fîmes encore une expérience, afin d'établir si le fait d'élever la température avait une répercussion sur la quantité de phosphore nucléaire passant dans la solution. A cet effet nous lessivions de la farine de féverole à une température de 60 à 80° C sans changer les conditions dans lesquelles avait eu lieu l'épreuve précédente.

Le dépôt précipité avec de l'acide chlorhydrique renfermait 0.011<sup>o</sup>/<sub>o</sub> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, soit 0.789<sup>o</sup>/<sub>o</sub> par rapport au phosphore global; on décéla dans l'extrait 1.284<sup>o</sup>/<sub>o</sub> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, autrement 92.05<sup>o</sup>/<sub>o</sub> par rapport au phosphore global.

Comme l'acétate de sodium donne une réaction faiblement alcaline dans une solution aqueuse, vu qu'il est en partie hydrolysé, nous nous attendions qu'il ferait passer de plus fortes quantités de phosphore nucléaire dans la solution, que ne le faisait une solution de chlorure de sodium. Pour établir s'il en était vraiment ainsi, nous avons lessivé durant 3 heures de la farine de féverole avec une solution d'acétate de sodium à 10<sup>o</sup>/<sub>o</sub>, en la faisant agir dans la température du laboratoire. Nous avons dosé ensuite le phosphore nucléaire dans une portion du filtrat en l'acidifiant avec de l'acide chlorhydrique jusqu'à ce que la concentration de celui-ci correspondît à 4<sup>o</sup>/<sub>o</sub>, tandis que dans une autre portion nous procédâmes au dosage de la quantité globale des composés phosphorés qui passaient dans la solution sous l'action de ce dissolvant.

Le pH de l'extrait, déterminé par la méthode colorimétrique, s'élevait à 7.5<sup>o</sup>/<sub>o</sub>. On trouva 0.061<sup>o</sup>/<sub>o</sub> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, soit 4.37<sup>o</sup>/<sub>o</sub> par rapport au phosphore global, tandis que l'extrait contenait 1.264<sup>o</sup>/<sub>o</sub>, de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, autrement 90.61<sup>o</sup>/<sub>o</sub> par rapport au phosphore global.

Il résulte de ces expériences qu'aussi bien dans la température du laboratoire, qu'à 60—80° C, une solution de chlorure de sodium n'extrait de la farine de féverole que de très faibles quantités de composés nucléiques. On obtient des quantités de phosphore nucléaire un peu plus élevées, en se servant d'une solution d'acétate de sodium à 10<sup>o</sup>/<sub>o</sub>, néanmoins elles sont bien inférieures à celles qu'on trouve en appliquant comme dissolvant des solutions d'hydrate de sodium. La quantité de phosphore nucléaire extrait de la

farine de féverole, dépendait par conséquent dans une large mesure de la concentration des ions d'hydrogène dans les dissolvants employés (tabl. VIII).

TABLEAU VIII.

Dissolvant	pH de l'extrait	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> nucléique en p. c. du P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> global
l'eau	5.29	1.29
10% NaCl	5.40	2.44
10% CH <sub>3</sub> COONa	7.5	4.37
0.02% NaOH	8.0	7.53
0.04% „	8.8	9.39
0.08% „	9.3	13.19
0.1% „	plus que 9.6	12.98

Dans toutes les expériences dont nous avons parlé jusqu'ici, le rapport de la farine au dissolvant correspondait à 1:25. Il fallait donc en faire d'autres pour apprendre si l'emploi d'une moindre quantité de farine par rapport au dissolvant ne retentirait pas sur la quantité de phosphore décelé. Ces expériences s'imposaient d'autant plus, que les valeurs trouvées pour le phosphore nucléique en appliquant la méthode indirecte, dépendaient dans une assez large mesure de la quantité plus grande ou plus petite de substance par rapport à la quantité du dissolvant dont on s'était servi. Le tableau IX nous renseigne sur les résultats obtenus pour le phosphore nucléique, lorsque le rapport de la farine au dissolvant varie. Afin de permettre d'établir des comparaisons, nous avons également indiqué les valeurs pour le phosphore nucléique, obtenues en appliquant la méthode indirecte, lorsque ces rapports ne variaient pas.

TABLEAU IX:

Proportion de la prépa- ration et du dissolvant employé	% du P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> soluble total	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> nucléique (dosage direct)		P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> nucléique (dosage indirect)	
		en p. c. de la prépa- ration	en p. c. du P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> global	en p. c. de la prépa- ration	en p. c. du P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> global
1:25	1.316	0.184	13.19	0.184	13.19
1:50	1.340	0.173	12.40	0.146	10.47
1:100	1.350	0.153	10.96	0.132	9.46

Il suffit de jeter un coup d'œil sur le tableau ci-joint, pour s'apercevoir que l'augmentation de la quantité de solution d'hydrate de sodium à 0.1% par rapport à celle de la farine, fait diminuer la quantité de phosphore nucléique, diminution qui correspond à peu près aux valeurs obtenues pour celui-ci en appliquant la méthode indirecte. Il se peut qu'il faille chercher la cause de cette diminution dans l'adsorption d'autres catégories de composés phosphorés par des substances protéiques en voie d'être précipitées, cette adsorption pouvant surtout avoir lieu dans des extraits concentrés, par conséquent dans ceux où l'on se servait d'une petite quantité de dissolvant par rapport à la farine pour les préparer.

Voulant vérifier la justesse de notre supposition, nous avons eu recours au procédé suivant: le dépôt des nucléoprotéides et d'albumines, obtenu le rapport farine:dissolvant correspondant à 1:25, était centrifugé et soigneusement lavé, après quoi nous le dissolvions dans une solution d'hydrate de sodium à 0.1%. Nous procédions à une nouvelle précipitation à l'aide d'acide chlorhydrique jusqu'à ce que sa concentration fût à peu près égale à celle obtenue précédemment (environ 4%), puis nous centrifugions le dépôt, en ayant soin de garder le liquide séparé par centrifugation pour y doser le phosphore qu'il aurait pu contenir, enfin nous le lavions avec une solution acide de chlorure de sodium et nous le brûlions. Dans une portion de l'extrait nous avons dosé le phosphore nucléique après ne l'avoir précipité qu'une seule fois, comme dans les expériences précédentes.

Le dépôt précipité une seule fois contenait 0.184% de  $P_2O_5$ , soit 13.19% par rapport au phosphore global; quant au dépôt précipité à deux reprises, il renfermait 0.124% de  $P_2O_5$ , c'est-à-dire 8.89% par rapport au phosphore global.

Nous avons trouvé de faibles quantités de phosphore dans la solution restée après la seconde centrifugation. Elles correspondaient à la différence du contenu de phosphore dans le dépôt précipité une seule fois et dans celui soumis à une double précipitation. Ces quantités s'élevaient à 0.051% de  $P_2O_5$ .

Les expériences ayant fourni la preuve qu'il se produisait une adsorption des autres composés phosphorés par le dépôt en voie de précipitation, il fallait chercher des conditions où la précipitation des composés nucléiques aurait lieu sans adsorption ou du

moins où celle-ci serait incapable d'exercer une influence plus sensible sur l'exactitude de la méthode. Les valeurs plus basses obtenues pour le phosphore nucléique, lorsque nous prenions moins de farine par rapport à la quantité de dissolvant (1:50, 1:100), indiquaient que l'adsorption était relativement insignifiante dans ces cas-là. S'il en était ainsi, c'est probablement parce que les composés phosphorés étaient moins concentrés dans l'extrait. Si notre supposition était juste, nous aurions dû obtenir les mêmes résultats, peu importe quel était le rapport de la farine au dissolvant, du moment que nous nous servions d'une solution d'hydrate de sodium à 0.1%, pourvu qu'en opérant la précipitation à l'aide d'acide chlorhydrique ce rapport fût le même et qu'on employât relativement peu de farine et beaucoup de dissolvant p. ex. une unité de poids de farine pour 100 unités de dissolvant. En vue de corroborer la justesse de cette conjecture, nous avons lessivé la farine à l'aide d'une solution d'hydrate de sodium à 0.1%, le rapport de la farine au dissolvant étant variable, de sorte qu'il s'élevait à 1:25, 1:50 et 1:100. Ensuite on prélevait des portions de l'extrait alcalin, dont la quantité correspondait à la même quantité de farine employée dans l'expérience, puis on les étendait d'autant d'eau qu'il fallait pour que la concentration des substances que renfermaient les extraits fût égale, enfin on précipitait avec de l'acide chlorhydrique, afin que la concentration de celui-ci équivalât à environ 4% dans toutes les portions. Voici les résultats obtenus:

rapport 1:25 . . . . .	0.163% de $P_2O_5$
„ 1:50 . . . . .	0.159 „
„ 1:100 . . . . .	0.153 „

La constance des valeurs obtenue pour le phosphore nucléique en appliquant ce procédé, nous apprend que lorsqu'il s'agit de doser le phosphore nucléique par la méthode directe, il est indispensable d'employer autant de dissolvant que possible par rapport à la farine, respectivement, qu'il faut étendre l'extrait d'une quantité d'eau appropriée avant de l'additionner d'acide, si la quantité de farine est relativement élevée par rapport au dissolvant.

La durée du lessivage de la farine de féverole à l'aide de solutions d'hydrate de sodium ou à l'aide d'autres dissolvants, s'étendait à 3 heures dans les expériences décrites jusqu'ici. Nous

savons pourtant que les composés nucléiques se décomposent en nucléotides sous l'action des alcalis. Nous l'avons montré en appliquant des solutions d'hydrate de sodium dont la concentration était supérieure à 0.1% et en lessivant la farine à l'aide d'une solution de NaOH à 0.1% dans des températures plus élevées que celle du laboratoire. Pour établir qu'en lessivant la farine de féverole avec une solution d'hydrate de sodium à 0.1% durant 3 heures dans la température de laboratoire, la molécule d'acide nucléique ne se désagrège pas en fractions dont la précipitation à l'aide d'acide chlorhydrique ne serait plus possible, nous avons fait une série d'expériences où la durée du lessivage était limitée à 1 heure. Nous avons enregistré le résultat suivant, le rapport farine : dissolvant étant de 1:100:

Agitation de 1 heure:

Contenu de phosphore total dans l'extrait . . . 1.355% de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>,  
 Contenu de phosphore nucléique dans l'extrait 0.155 " " .

Agitation de 3 heures:

Contenu de phosphore total dans l'extrait . . . 1.350% de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>,  
 Contenu de phosphore nucléique dans l'extrait 0.153 " " .

Nous pouvons donc conclure de ces chiffres qu'en soumettant la farine de féverole à l'action d'une solution d'hydrate de sodium, dont la durée s'étend à 3 heures et qui se produit dans la température du laboratoire, nous n'assistons à aucune désagrégation des composés nucléiques. Les expériences que nous venons de mentionner nous permettent d'établir en outre qu'en dosant le phosphore nucléique dans les graines de féverole, nous pouvons nous borner à agiter la farine avec une solution de NaOH à 0.1% pendant 1 heure.

Il s'agissait d'étudier ensuite la manière dont se comportent les composés nucléiques après avoir été en contact pendant plus de 3 heures avec une solution d'hydrate de sodium à 0.1%. A cet effet on prélevait des portions de l'extrait préparé avec une solution de NaOH à 0.1%, on séparait les restes de farine par filtration, puis on les traitait à certains intervalles de temps par de l'acide chlorhydrique, jusqu'à ce qu'il atteignît une concentration de 4% environ, enfin on dosait le phosphore nucléique dans les

dépôts précipités. Le phosphore minéral était dosé en même temps dans d'autres portions de l'extrait. Le tableau X et le diagramme IV nous renseignent sur les résultats des dosages.

TABLEAU X.

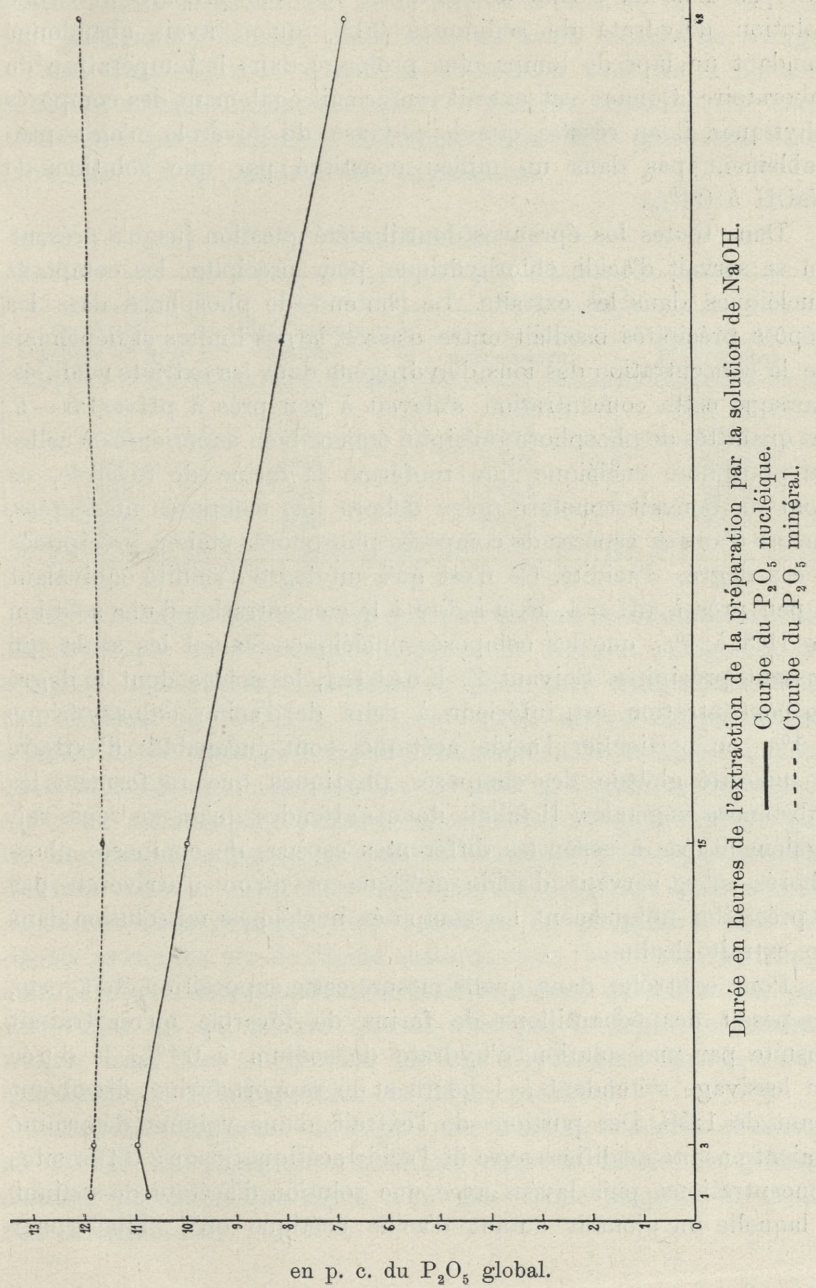
Durée de l'extraction de la préparation par la solution de NaOH à 0.1 p. c.	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> nucléique	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> minéral	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> nucléique	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> minéral
	en p. c. de la préparation		en p. c. du P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> global	
1 heure	0.150	0.166	10.75	11.90
3 heures	0.153	0.165	10.97	11.83
15 "	0.139	0.162	9.96	11.61
48 "	0.095	0.168	6.81	12.04

Il résulte des chiffres réunis dans le tableau, que les quantités de phosphore nucléique précipité diminuaient progressivement, à mesure que les extraits étaient acidifiés après des espaces de temps de plus en plus longs. Il est hors de doute par conséquent que les composés nucléiques, plus longtemps en contact avec une solution d'hydrate de sodium, se désagrègent en nucléotides, ainsi que le prouve la constance des valeurs trouvées pour le phosphore minéral. Cette décomposition est peut-être catalysée par les enzymes appelés polynucléotidases, que renferme la solution.

La constance des valeurs trouvées pour le phosphore minéral nous permet également de tirer certaines conclusions concernant l'influence de la réaction sur le comportement de l'enzyme appelé phytase, qui décompose les substances inosito-phosphorées. Plusieurs auteurs [W. Vorbrodt (16), L. Adler (1), R. J. Anderson (2), P. W. Boutwell (3), Z. Koehler (6)] ont fait des recherches en vue de se rendre compte dans quelle mesure la décomposition des substances inosito-phosphorées dépend de la réaction des solutions. Il résulte de leurs travaux, que l'action de la phytase est plus énergique dans les extraits dont le degré d'acidité est plus élevé et que des acides plus concentrés l'arrêtent. Parmi les auteurs mentionnés, seul R. J. Anderson a étudié l'influence de la réaction alcaline sur la décomposition par l'enzyme en question. Il a observé en effet qu'une solution d'ammoniaque à 2.5% fait cesser l'action de la phytase tirée de son de froment.



Diagramme IV.



Or on s'aperçut que la quantité de phosphore minéral n'augmentait pas dans un extrait de farine de féverole préparé avec une solution d'hydrate de sodium à 0.1% qu'on avait abandonné pendant un laps de temps plus prolongé dans la température du laboratoire. Comme cet extrait renfermait également des composés phytiques, il en résulte que la phytase de féverole n'agit probablement pas dans un milieu constitué par une solution de NaOH à 0.1%.

Dans toutes les épreuves dont il a été question jusqu'à présent on se servait d'acide chlorhydrique pour précipiter les composés nucléiques dans les extraits. Le contenu de phosphore dans les dépôts précipités oscillait entre d'assez larges limites et dépendait de la concentration des ions d'hydrogène dans les extraits acidifiés. Lorsque cette concentration s'élevait à peu près à  $\text{pH} = 1.5 - 2$ , les quantités de phosphore précipité étaient bien supérieures à celles du phosphore nucléique que renferme la farine de féverole, ce dont on pouvait conclure qu'en dehors des composés nucléiques, encore d'autres espèces de composés phosphorés étaient précipitées à ces degrés d'acidité. Ce n'est qu'à un degré d'acidité équivalant à peu près à  $\text{pH} = 1$ , c'est-à-dire à la concentration d'une solution de HCl à 1%, que les composés nucléiques étaient les seuls qui fussent précipités. Suivant Z. Koehler, les acides dont le degré de concentration est inférieur à celui de l'acide chlorhydrique à 1%, en particulier l'acide acétique, sont incapables d'extraire la quantité globale des composés phytiques que renferment les substances végétales. Il fallait donc s'attendre qu'on ne réussirait également pas à isoler les différentes espèces de composés phosphorés en se servant d'acide acétique et qu'on n'arriverait pas à précipiter uniquement les composés nucléiques en solution dans un extrait alcalin.

Pour contrôler dans quelle mesure cette supposition était juste, on pesait des échantillons de farine de féverole qu'on traitait ensuite par une solution d'hydrate de sodium à 0.1%, la durée du lessivage s'étendant à 1 heure et le rapport farine : dissolvant étant de 1:50. Des portions de l'extrait d'une volume déterminé étaient ensuite acidifiées avec de l'acide acétique jusqu'à différentes concentrations, puis lavées avec une solution d'acétate de sodium, à laquelle on ajoutait autant d'acide acétique qu'il fallait pour

que le degré d'acidité fût égale à celui de la portion d'extrait étudiée; enfin le dépôt était brûlé d'après la méthode de Neumann. Pour déterminer l'acidité potentielle, on avait recours au titrage à l'aide d'une solution d'hydrate de sodium avec de la phénolphtaléine comme indicateur; quant à l'acidité actuelle, elle était déterminée par la méthode électrométrique. Nous présentons dans le tableau XI les résultats des expériences.

TABLEAU XI.

Concentration de l'acide acétique en p. c.	pH de l'extrait acidifié	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	
		en p. c. de la préparation	en p. c. du P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> global
1.88	3.64	1.080	77.42
3.66	3.31	1.070	76.70
8.97	2.98	1.065	76.34
13.36	2.68	1.042	74.70
16.50	2.00	0.521	37.35

On s'aperçoit que ce n'est qu'en se servant de solutions d'acide chlorhydrique qu'on réussit à séparer les diverses catégories de composés phosphorés, constituant le phosphore total, soluble dans une solution de NaOH à 0.1% et qu'on arrive en particulier à isoler de ce mélange complexe, uniquement les composés nucléiques. Même à une concentration de 16.5%, l'acide acétique précipite un mélange de composés phosphorés, ce qui s'explique par la circonstance qu'en se servant de ce réactif, il n'est pas possible d'obtenir une concentration des ions d'hydrogène, égale à celle de l'acide chlorhydrique. Les quantités de phosphore dans les dépôts précipités par de l'acide acétique et de l'acide chlorhydrique dont le degré de concentration était le même, ne différaient pas entre elles, ce qui prouve que ce n'est pas le degré de concentration, mais bien la quantité des ions d'hydrogène dans le milieu qui décide de la composition du dépôt précipité.

Les essais tentés en vue d'appliquer la méthode décrite ci-dessus au dosage du phosphore nucléaire dans la farine de graines d'autres plantes (avoine, soya), n'ont pas donné jusqu'ici de résultats satisfaisants.

### Conclusions.

1. Les composés phosphorés que renferment les graines de féverole, sont très facilement solubles dans les alcalis.

2. On réussit à séparer les composés nucléiques des autres espèces de composés phosphorés que contient un extrait alcalin, en l'acidifiant avec de l'acide chlorhydrique jusqu'à une concentration de 3 à 4<sup>o</sup>/<sub>o</sub> de celui-ci.

3. Il faut autant que possible se servir de petites quantités de farine par rapport au dissolvant (1:100). Si la valeur du rapport farine : dissolvant est plus élevée, il se produit une adsorption des autres espèces de composés phosphorés par les nucléoprotéides et les albumines en voie d'être précipités, lorsqu'on acidifie l'extrait alcalin jusqu'à ce que la concentration de l'acide chlorhydrique correspond à 3—4<sup>o</sup>/<sub>o</sub>.

4. Dans un milieu dont la concentration est supérieure à celle d'une solution d'acide chlorhydrique à 4<sup>o</sup>/<sub>o</sub>, les composés nucléiques sont peu à peu dissous.

5. Des solutions d'hydrate de sodium au-dessous de 0.08<sup>o</sup>/<sub>o</sub>, une solution d'acétate de sodium à 10<sup>o</sup>/<sub>o</sub>, comme une solution de chlorure de sodium de la même concentration, sont incapables de lessiver la quantité globale des composés nucléiques contenus dans la farine de féverole.

6. Quoique des solutions d'hydrate de sodium dont la concentration est supérieure à 0.2<sup>o</sup>/<sub>o</sub>, lessivent tout le contenu de phosphore nucléique elles ne peuvent pas être employées comme dissolvant, lorsqu'il s'agit d'extraire les composés nucléiques, vu qu'elles entraînent une décomposition partielle des acides nucléiques en mononucléotidés.

7. Le lessivage de la farine de féverole à l'aide d'une solution d'hydrate de sodium à 1<sup>o</sup>/<sub>o</sub> dans des températures supérieures à 60°, s'accompagne d'une désagrégation des polynucléotides en mononucléotides.

8. Le contact de la farine de féverole avec une solution d'hydrate de sodium à 0.1<sup>o</sup>/<sub>o</sub>, pendant un espace de temps s'étendant à plus de 3 heures, est favorable à l'action des polynucléotidases.

9. Une solution d'hydrate de sodium à 0.1<sup>o</sup>/<sub>o</sub> arrête l'action de la phytase.

10. L'acide acétique ne permet pas de séparer les composés nucléiques des autres espèces de composés phosphorés.

Les recherches que nous venons de décrire, ont été effectuées à l'Institut de Chimie Agricole de l'Université des Jagellons à Cracovie. Je profite de l'occasion pour exprimer ma profonde reconnaissance à M. le Professeur Władysław Vorbrodt, directeur de cet Institut, qui a bien voulu me suggérer l'idée du présent travail et n'a cessé de s'intéresser à son exécution ainsi qu'aux résultats de mes investigations.

---

### Bibliographie.

- 1) Adler L., *Biochem. Ztschr.* 70, 1, 1915. — 2) Anderson R. J., *Journ. of Biol. Chem.* 20, 463, 1915; Résumé dans le *Chem. Ztrbl.* II, 665 1915. — 3) Boutwell P. W. *Journ. Amer. Chem. Soc.* 39, 491, 1917; Résumé *Chem. Ztrbl.* I, 208, 1918. — 4) Javillier M. et Colin Y., *Bull. de la Société de Chimie Biol.*, 15, 1552, 1933. — 5) Kiesel A. R., *Problema belka*, *Biometgiz*, 1934 (en russe). — 6) Koehler Z. *Bull. de l'Acad. Polon. des Sc. et des Lettres, Cl. des Sc. Mathém. et Nat. Série B, Sc. Nat.*, 1926, 707. — 7) Koehler Z., *Acta Biol. Exper.*, IV, 33, 1929. — 8) Levene P. A. et Hill, *Journ. Biol. Chem.*, 101, 741, 1933. — 9) Lindenbaum Z., *Bull. de l'Acad. Pol. des Sc. et des Lettres, Cl. des Sc. Mathém. et Nat. Série B, Sc. Nat. I*, 1926. — 10) Lityński T., *Roczniki Chemji*, 13, 578, 1933. — 11) Minkowska Z. *Bull. de l'Acad. Pol. des Sc. et des Lettres, Cl. des Sc. Mathém. et Nat. Série B, Sc. Nat. I*, 1926. — 12) Mnich E., *Bull. de l'Acad. Pol. des Sc. et des Lettres, Cl. des Sc. Mathém. et Nat. Série B, Sc. Nat. I*, 123, 1931. — 13) Osborne T. B. et Campbell G., *Journ. Amer. Chem. Soc.* 22, 379, 1900; Résumé Abderhalden E. *Handbuch der biol. Arbeitsmethoden*, Abt. I, T. 8, Lief. 39, S. 379. — 14) Pischinger E., *Bull. de l'Acad. Pol. des Sc. et des Lettres, Cl. des Sc. Mathém. et Nat. Série B, Sc. Nat. 37*, 1933. — 15) Rimington C., *Biochem. Journ.* 21, 272, 1087, 1927. — 16) Vorbrodt W., *Bull. de l'Acad. Pol. des Sc. et des Lettres, Cl. des Sc. Mathém. et Nat., Série B*, 1926. — 17) Wiązownicka H. *Bull. de l'Acad. Pol. des Sc. et des Lettres, Cl. des Sc. Mathém. et Nat. Série B, Sc. Nat. I*, 107, 1934. — 18) Winterstein E., *Chem. Ztrbl.* I, 195, 1909.
-



*Z morfologii liścia Philodendron squamiferum. — Zur  
Blattmorphologie von Philodendron squamiferum.*

Mémoire

de M. K. ROUPPERT,

présenté le 8 juin 1936, par M. Wl. Szafer m. t.

(Planche 10).

Während unseres Aufenthaltes auf Java im J. 1926 bereitete es uns große Freude unserem guten alten Bekannten dem *Philodendron squamiferum* zu begegnen. Doch wie wenig erinnerte das Bild, welches uns im Botanischen Garten zu Buitenzorg in Erstaunen versetzte, an die bescheidenen Topfpflanzen, an welchen wir im Krakauer Botanischen Garten im Jahre 1917 experimentierten! An zwei Riesenbäumen der berühmten Canarium-Allee war die dichte Blatt-Mosaik dieser *Philodendron*-Spezies zu sehen, deren Exemplare an den Stämmen bis etwa 50 Meter Höhe emporstiegen, als Beweis für ein Klima, in welchem... »die Anthokladien von *Philodendron* und *Piper*-Arten, die sich selbstständig bewurzeln, theoretisch endlos weiter wachsen können« (2. S. 7.). Mehrmals untersuchte ich die kletternden Sympodien dieser Art als ich im Treub-Laboratorium arbeitete, in der Hoffnung irgend ein Blattgebilde zu finden, welches dem von uns beschriebenen (4. S. 192—197, Pl. 19) ähnlich wäre, doch vergebens, obgleich es an Verzweigungen dieser Sympodien nicht fehlte, was schon Engler für *Philodendron* bemerkte (1. S. 192): »Bei den kletternden Arten kommen die Beisprosse, welche vor den Fortsetzungssprossen stehen, häufig mit einigen Niederblättern beginnend, zur Entwicklung, und es entstehen dann verzweigte Sympodien«; alle untersuchten Exemplare von *Philodendron squamiferum* des

s'Lands Plantentuin hatten normale Laubblätter und normale Scheiden, kein einziges erinnerte an das Laubblatt mit einer Scheide am Blattstiel, welches an Stelle einer Scheide sich in unserem Experiment im J. 1917 an einem dekapitierten Exemplar entwickelte (4. Pl. 19, Fig. 2.), und den Großmeister der Morphologie zur Äußerung veranlaßte: »Jedenfalls aber ist die Gestaltung der Anthokladiumglieder von *Philodendron* experimentell beeinflüßbar (2. S. 43)«.

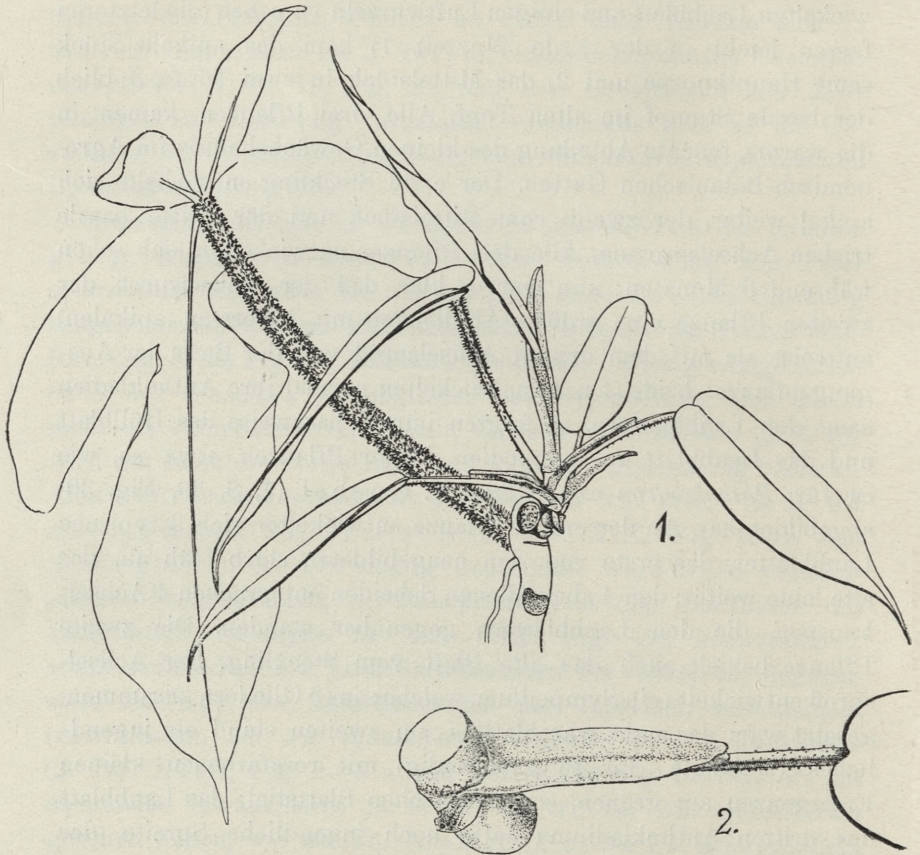
Dasselbe, was uns an *Philodendron squamiferum* zu erhalten gelang, erreichte K. Goebel an den Anthokladien von *Piper geniculatum*, und zwar ein »Erstes Blatt eines aus einem Steckling ausgetriebenen Sprosses. Es... entspricht... offenbar der Primärblattform«. (2. S. 30, Fig. 24). Daß bei *Piper*-Arten... »das jeweilige Axenende der einzelnen Sproßglieder des Sympodiums sich meist nicht als Blütenstand entwickelt, sondern verkümmert« (2. S. 40), wird mit Recht hervorgehoben und folgendes gleichzeitig bemerkt: »Bei *Philodendron* wiederholt sich das nur viel öfter« (2. S. 40), was schon seit Th. Irmisch (3. Taf. XIX, Fig. 10-B) und A. Engler (1. S. 192) richtig beobachtet wurde. Die verkümmerten Infloreszenzen, bei *Philodendron* in den Blattbasen der Laubblätter verborgen (3. Taf. XIX, Fig. 10), kennzeichnen, wenn vorhanden, den Laubblattcharakter der letzteren; dagegen steht oberhalb der Insertionsstelle der typischen zweikieligen (rosafarbenen bei *Ph. squamiferum* Scheide) eine Achselknospe (3. Taf. XVIII, Fig. 2—5 a und Taf. XIX, Fig. 1—7 a), oft mit squamulae intraaxillares (3. S. 39), die wir bei *Ph. squamiferum* gesehen haben, wie sie Th. Irmisch (l. c.) bei *Ph. macrophyllum* beschreibt und abbildet. Aus einer solchen Achselknospe treibt leicht ein Achselsproß, wenn man oberhalb das Sympodium dekapitiert. »An einer Pflanze von *Philodendron squamiferum*, deren oberer Teil entfernt worden war, beobachtete Rouppert (1917) an einem austreibenden Achselsproß statt des Hüllblattes ein mit einer Blattscheide versehenes Laubblatt. Leider wird nicht angegeben, ob dieses an einer verkümmerten Infloreszenz stand« (2. S. 43).

Nun wollten wir dieser Forderung Goebels Rechnung tragen, indem wir noch einmal das Experiment mit *Philodendron squamiferum* vornahmen.



Am 28 November 1935 zerlegten wir eine Topfpflanze von *Philodendron squamiferum* in drei Stücke, jedes mit einem vollentwickelten Laubblatt und einigen Luftwurzeln versehen (die letzteren fassen leicht in der Erde Wurzel). 1) kam das apikale Stück samt Hauptknospe und 2) das Mittelstück in zwei Töpfe, 3) blieb der basale Stumpf im alten Topf. Alle drei Pflanzen kamen in die warme, feuchte Abteilung des kleinen Gewächshauses im Agromisch-Botanischen Garten. Der erste Steckling entwickelte sich apikal weiter, der zweite vom Mittelstück und der dritte basale trieben Achselsprossen. Alle drei Pflanzen entwickelten sich schön während 6 Monaten; nun war es klar, daß der Achsel sproß der zweiten Pflanze eine größere Ähnlichkeit mit der ersten (apikalen) aufweist als mit dem dritten Achsel sproß von der Basis der Ausgangspflanze: beide (1 u. 2) entwickelten normal ihre Anthokladien samt den Laubblättern, es folgten immer paarweise das Hüllblatt und das Laubblatt an Sympodien beider Pflanzen, etwa so, wie es für *Philodendron oxycardium* K. Goebel (2, S. 39, Fig. 30) abgebildet hat. An der ersten Pflanze entwickelten sich 3 typische Laubblätter, das erste von den neugebildeten starb früh ab, das alte lebte weiter; den 4 abgefallenen Scheiden entsprachen 4 Achselknospen, die den Laubblättern gegenüber standen. Die zweite Pflanze behielt auch das alte Blatt vom Steckling. Der Achsel sproß entwickelte ein Sympodium, welches aus 5 Gliedern zusammengesetzt war: das erste war blattlos, am zweiten stand ein jugendliches Laubblatt (Spreite ganzrandig) mit rosafarbenen kleinen Emergenzen am grünen, sonst typischen Blattstiel; das Laubblatt des dritten Anthokladiums hatte noch jugendliche Spreite, der Blattstiel war schon typisch rosagefärbt und mit großen Emergenzen bedeckt; die zwei folgenden Blätter waren schon typisch entwickelt, und am Scheitel enthüllte die rosafarbene zweikielige Scheide das typische Laubblatt samt der zwischen den beiden Blättern stehenden Knospe. Beide Pflanzen entwickelten sich, was die Blattgebilde anbelangt, typisch. Anders stand es mit dem 3 (dekapitierten) Sproß: sein Achsel sproß entwickelte sich mit einem Resultat, das lebhaft an die Pflanze von 1917 erinnerte. Die Knospe war von 2 Knospenschuppen umhüllt, die sich zu zwei kurzen grünen Scheidenschuppen an der Basis des ersten Anthokladiums entwickelten, welches sonst blattlos blieb; beide Scheidenschuppen vertrockneten bald; an der Basis des zweiten

Anthokladiums (Taf. 10, Fig. B, Textfig. 1) erschien nun ein Paar Blattgebilde: eine grüne einkielige Scheide mit engem



Textabbildung 1 und 2.

Die Zeichnung zeigt das Bild von der Seite, wo der Sproß dekapitiert wurde; unterhalb der Schnittfläche ist die Scheidenspur zu sehen, viel niedriger die Laubblattspur; links oben, oberhalb der Adventivwurzel sehen wir das alte Laubblatt eingezeichnet, welches jedoch abgefallen ist. Rechts von der Schnittfläche sehen wir an der Basis des I. Anthokladiums die kleine abgetrocknete Schuppenscheide; von der Basis des II. Anthokladiums entspringt die erste grüne Scheide, welche gegen uns gerichtet ist. Ihr Partner ist das erste juvenile Laubblatt (nach hinten); rechts (nach oben) folgt die zweite grüne Scheide, ohne Partner; links das erste anomale Gebilde an Stelle einer Scheide, auch ohne Partner; das V. Anthokladium hat schon zwei Blätter: rechts das zweite Gebilde an Stelle der Scheide, und links normales Laubblatt; oben sieht man das junge Laubblatt des VI Anthokladiums, noch von der typischen Scheide festgehalten.

weißlichen Saum, die mehrere Monate am Leben blieb und assimilierte und ihr gegenüber ein normales Laubblatt von ausgeprägt jugendlichem Typus: ganzrandige Lamina, grüner Blattstiel ohne Spur von Emergenzen, doch auch ohne irgendwelche Spur von Scheidenspaltung am Blattgrund. An der Basis des dritten Anthokladiums (Taf. 10, Fig. A) entwickelte sich nur eine grüne einkielige Scheide (der vorigen ähnlich), das entsprechende Laubblatt blieb dagegen vollkommen aus. Beide »grünen Scheiden« entsprechen den Scheiden, da sie an der Basis keine Infloreszenzreste, dagegen typisch entwickelte ruhende Knospen am Fortsetzungssprossen besitzen. Nun kommt das vierte Anthokladium (Taf. 10, Fig. B), an seiner Basis finden wir nun wieder ein einziges Blattgebilde, diesmal vom Typus 1917: es ist ein Jugendblatt mit ganzrandiger Blattlamina und schöner Scheide am Blattstiel: 7.5 cm beträgt die Länge der Spreite, 1.6 cm der Blattstiel von der Spreite bis zur Ligula des Scheidenteiles, 2 cm die Scheide (samt Blattstiel). Dieses Blattgebilde umfaßt breitspurig die Achse; vom Infloreszenzrudiment nichts zu sehen, dagegen ist ein typischer Achsel sproß vorhanden (Textfig. 2), was den Charakter des Gebildes entscheidet: es ist an Stelle einer Scheide ein Blatt mit langer Scheide entstanden; das zweite Blatt ist ausgeblieben. Den zwei so verarmten Anthokladien folgt nun das fünfte (Taf. 10, Fig. A) schon mit einem Blätterpaar an der Basis: statt einer Scheide ist wiederum ein Blatt mit jugendlicher Spreite und schöner Scheide am Blattstiel vorhanden; ihr gegenüber steht schon ein typisches Laubblatt mit jugendlicher Lamina, rotem typischem Blattstiel voll von Emergenzen (Taf. 10, Fig. B); das Blattgebilde, an Stelle der Scheide entstanden, hat eine Lamina von 9.5 cm Länge, der Blattstiel ist 4.5 cm lang (Scheidenteil von 3 cm Länge). Die Basis dieses Gebildes umfaßt breitspurig das Anthokladium, ein Rudiment von Infloreszenz fehlt, dagegen ist die Achselknospe am Fortsetzungssproß vorhanden (Textfig. 2). Das sechste Anthokladium ist schon normal (Taf. 10, Fig. B): eine rosafarbene zweikielige Scheide steht einem normalen Laubblatt gegenüber; das siebente endigt mit einer Knospe, die in einer normalen Scheide geborgen ist.

Dieser Achsel sproß wurde am 24. V. 36. gezeichnet und am 7. VI photographiert. Er hat eine größere Ausbeute geliefert als der vom Jahre 1917. Starker Wurzeldruck, reichliche Zufuhr von Wasser und Mineralstoffen, baldiger Verlust des einzigen alten

Laubblattes der Hauptachse, alles das bewirkte eine rasche und intensive Produktion chlorophyllhaltiger Organe, die assimilatorisch wirken konnten. Die Bildung grüner einkieliger Scheiden hat dem mitgewirkt, auch die Bildung eines normalen Laubblattes schon am zweiten Anthokladium. Die folgenden Blätter mit Scheiden an Stielen, welche wir als progressive Trophomorphose der Scheiden betrachten, sind mit dem Gebilde vom Jahre 1917 noch lange nicht identisch. Es fehlen ihnen an Blattstielen Emergenzen und die Anthozyanfärbung, auch ist die Scheidengestaltung eine andere, eine mehr oberflächliche und liguläre; diese beiden Gebilde scheinen primitiver zu sein als dasjenige vom Jahre 1917. Auch sind die grünen einkieligen Scheiden anders gestaltet, als die abfallende rosafarbene zweikielige normale Scheide.

Von den beiden Blättern, die Scheiden an ihren Blattstielen besitzen, und an Stelle von Scheiden entstanden sind, ist das obere, vom fünften Anthokladium schon mit einigen Emergenzen versehen, auch im Scheidenteil, doch lange nicht so dicht, wie dasjenige vom Jahre 1917; das untere, vom vierten Anthokladium, hat einen glatten Blattstiell; an der Basis der Lamina finden wir jedoch einige Emergenzen schwach angedeutet. Beide haben deutliche liguläre Apikalteile.

Wir glauben uns berechtigt über den Charakter dieser Gebilde von *Philodendron squamiferum* ein Urteil fällen zu können: das Fehlen von Infloreszenzspuren, das Vorhandensein der Axillarknospen (Taf. 10, Fig. B) spricht dafür, daß diese anomalen Blätter an Stelle der Scheiden entstanden sind.

Es scheint neuerlich von uns bewiesen worden zu sein, daß »die Gestaltung der Anthokladiumglieder von *Philodendron* experimentell beeinflusbar« ist.

### Erklärung der Figuren auf Tafel 10.

Photographische Aufnahmen:

A. Von derselben Seite wie die oben beschriebene Textabbildung.

B. Von rückwärts: rechts unten das normale Laubblatt des II. Anthokladiums; links das zweite Gebilde vis-à-vis seinem Laubblatte (rechts); nach oben gerichtet das normale Blattpaar des VI. Anthokladiums; zwischen der Scheide (Front) und dem Laubblatt (hinten mit der Lamina künstlich nach oben gerichtet) entpuppt sich das VII. Anthokladium.

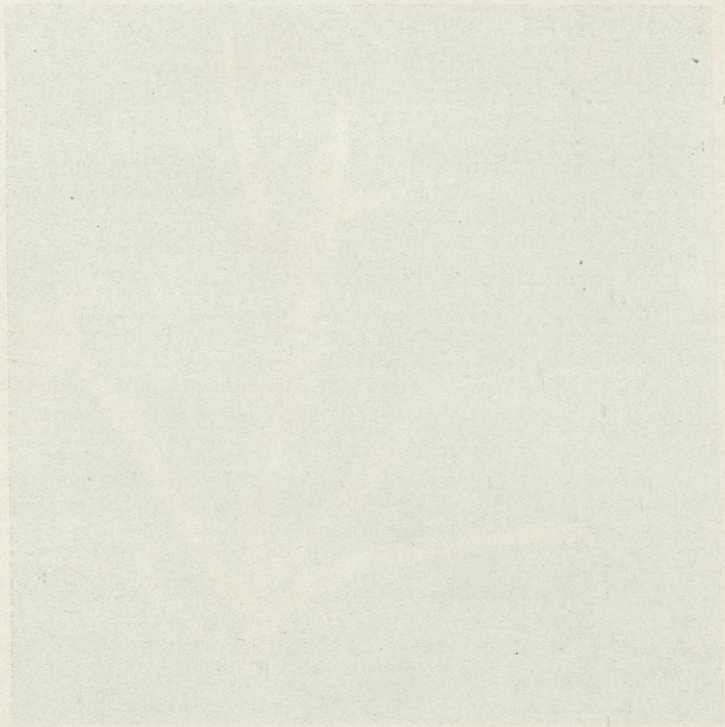
Die Photographie zeigt den Scheidenteil mit Ligula und Basis des Gebildes an Stelle einer Scheide des V. Anthokladiums mit Achselknospe und *squamulae intraaxillares*.



Fig. A.



Fig. B.



**Literatur.**

1. Engler A. Vergleichende Untersuchungen über die morphologischen Verhältnisse der Araceae: II. Über Blattstellung und Sproßverhältnisse der Araceae. (Nova Acta Ac. Caes. Leop.-Car. Germ. Nat. Cur., B. 39, 1877, Nr. 4). —
2. Goebel K. Blütenbildung und Sproßgestaltung (Anthokladien und Infloreszenzen). II. Ergänzungsband zur Organographie der Pflanzen. Jena 1931. —
3. Irmisch Th. Beiträge zur vergleichenden Morphologie der Pflanzen. Über einige Aroiden. (Abh. d. naturf. Ges. Halle, B. XIII, H. 2, 1874, T. XIV—XIX). —
4. Rouppert K. Über Umwandlung der Scheide in ein Laubblatt bei *Philodendron squamiferum*. Bull. Ac. Sc. Cracovie, Sér. B. 1917.

Kraków, Laboratorium Botanicum Janczewskianum, Al. Mickiewicza 21.

---





*Próba zastosowania stężonej wody utlenionej przy oznaczaniu składników mineralnych w substancjach roślinnych i zwierzęcych. — Essai d'employer de l'eau oxygénée concentrée pour doser les composants minéraux des substances végétales et animales.*

Note préliminaire

de M. **W. VORBRÖDT**,

présentée le 6 juillet 1936, par M. F. Rogoziński m. t.

Depuis assez longtemps déjà on emploie de l'eau oxygénée pour détruire la matière organique, quoique jusqu'ici on ne s'en soit pas servi sur une plus grande échelle dans l'analyse quantitative. Il est vrai qu'en 1915 Mandel et Neuberg<sup>1)</sup> avaient déjà publié un travail qui contenait les résultats qu'ils obtinrent en dosant les métalloïdes des substances organiques à l'aide d'eau oxygénée, mais il semble que ces résultats n'aient pas contribué à généraliser l'emploi du nouveau procédé. Ces auteurs employaient de l'eau oxygénée à 15<sup>0</sup>/<sub>0</sub> et l'additionnaient d'habitude d'une petite quantité d'acide nitrique ainsi que de sels de fer qui servaient de catalyseur; parfois la substance étudiée était d'abord carbonisée en la traitant par de l'acide sulfurique concentré et ce n'est qu'ensuite qu'on y ajoutait de l'eau oxygénée. La réaction était généralement plutôt brusque. Ce procédé donna de bons résultats, lorsqu'il s'agissait de doser le phosphore, le soufre et les halogènes, que renferment différents composés organiques, cependant la méthode ne semble pas avoir été souvent appliquée dans la suite. On trouve plus souvent dans la littérature scientifique des travaux où il est question de l'emploi d'eau oxygénée dont

<sup>1)</sup> J. A. Mandel und C. Neuberg. Biochemische Zeitschrift **71**, 1915.

étaient additionnées d'autres substances oxydantes; ainsi *Blagowieszczenskij*<sup>2)</sup> se servait p. ex. d'un mélange d'eau oxygénée et d'acide sulfurique, non seulement pour doser l'azote des substances d'origine végétale, mais il l'appliquait aussi dans les dosages du phosphore et du calcium qu'elles contiennent.

Partant du principe que l'eau oxygénée par elle-même est un agent très énergique dont on se sert entre autres pour détruire la matière organique dans des échantillons de sol soumis à l'analyse mécanique, l'auteur de la présente note a essayé de l'appliquer sans rien y ajouter, pour doser le phosphore des substances de provenance organique, afin de pouvoir substituer ce procédé à la méthode de Neumann, généralement employée, qui tout en étant très satisfaisante, n'en est pas moins pénible, vu qu'elle s'accompagne d'un dégagement d'oxydes d'azote dont l'action irrite les muqueuses. Il se servit d'eau oxygénée ordinaire à 30<sup>0</sup>/<sub>0</sub>, telle qu'on l'emploie en médecine, mais s'aperçut qu'elle contenait une assez forte quantité de phosphore; ainsi dans la première portion employée, il trouva dans 50 cm<sup>3</sup> 1.17 mg de P, il en décela 1.41 mg dans la seconde et 1.49 mg dans la troisième. Il fallait donc exactement déterminer la quantité d'eau oxygénée employée et faire une correction appropriée, ce qui rendait le travail difficile et diminuait l'exactitude des résultats obtenus, surtout lorsque les recherches portaient sur des substances pauvres en phosphore. L'auteur apprit cependant que l'usine dont il faisait venir l'eau oxygénée pouvait fournir au même prix une préparation qui ne renfermait qu'une quantité minime de phosphore, de sorte que 250 cm<sup>3</sup> ne contenaient même pas 0.1 mg de P. Notons d'ailleurs qu'un pareil essai à blanc en vue de doser le phosphore dans de l'eau oxygénée, se heurtait à des difficultés; en effet, quoiqu'on eût évaporé presque à sec une portion de celle-ci, le liquide prenait une coloration jaune ou jaunâtre après l'avoir additionné de réactif molybdique, coloration qui témoignait de la présence de peroxydes, aussi obtenait-on des valeurs trop basses dans ces cas-là. Lorsque, suivant les indications de *Mandel et Neuberg*, l'évaporation avait lieu après avoir ajouté un bout de fil de platine, le liquide demeurait incolore, même si on l'avait additionné de réactif molybdique. L'erreur provenant d'une pareille précipitation

<sup>2)</sup> А. В. Благовещенский, Труды Ср.-аз. гос. унив., 1929, сер. VIII б.

incomplète, s'élevait à environ 0.1 mg de P pour 50 cm<sup>3</sup> d'eau oxygénée, aussi ne pouvait-elle pas avoir une répercussion sérieux sur les résultats enregistrés. On trouve indiquées d'ailleurs dans le tableau I les inexactitudes possibles que présentent certains dosages.

Après avoir fait les épreuves préliminaires, on procéda comme suit: environ 1 g de substance, respectivement 0.5 g de celle-ci quand on avait affaire à des matières riches en phosphore, était traité par 25 cm<sup>3</sup> d'eau oxygénée dans une fiole de Kjeldahl en verre «Pyrex», dont la capacité s'élevait à 300 cm<sup>3</sup>. La substance était soigneusement mélangée avec le liquide, puis chauffée à une toute petite flamme sur une toile métallique à amiante. Certaines substances étudiées renfermaient probablement des corps qui catalysaient la décomposition du peroxyde d'hydrogène, car la réaction se produisait déjà à froid, c'est pourquoi dans ces cas-là il fallait prendre beaucoup de précaution en chauffant, afin d'éviter une réaction trop brusque, car il pouvait se former alors une abondante écume, comme lorsqu'il s'agissait p. ex. de sang séché. On voit en effet se former parfois une écume abondante et épaisse, comme on pouvait l'observer en analysant de la cervelle de veau, aussi faut-il se servir alors d'une fiole plus grande dont la capacité correspond à 500 cm<sup>3</sup>. La marche de la réaction est très lente lorsqu'on chauffe avec une petite flamme. Après avoir réduit le liquide à un très petit volume, on ajoutait encore 10 cm<sup>3</sup> d'eau oxygénée, puis on chauffait très légèrement de nouveau. On ne peut très sensiblement concentrer le liquide, s'il renferme encore de la matière organique non oxydée, car on risquerait de le voir s'enflammer dans la fiole. Comme beaucoup de substances organiques contiennent différents composés phosphorés organiques, insolubles dans l'eau, j'ajoutais pour les dissoudre un peu d'acide nitrique concentré, le mieux pas trop tôt, c'est-à-dire après l'addition de la seconde portion d'eau oxygénée; en effet, l'addition d'acide nitrique accélère la décomposition du peroxyde d'hydrogène et j'ai l'impression qu'il s'agit plutôt de l'action lente qu'il exerce sur la matière organique. L'acide nitrique ajouté au liquide fortement concentré qui contenait encore de la matière organique, entraînait parfois une carbonisation partielle qui rendait difficile, sinon impossible, l'action de l'eau oxygénée sur les parcelles carbonisées.

L'oxydation complète dure quelques heures; elle ne prend pas en général plus de temps que l'oxydation selon Neumann. Comme la surveillance est facile, on peut oxyder simultanément de dix à vingt échantillons; le temps est de cette manière bien exploité.

Une fois que la matière organique avait été complètement oxydée et après la décomposition du peroxyde d'hydrogène qui se produisait sans difficulté, car jamais il n'arriva que le liquide prît une teinte jaune sous l'action du reactif molybdique, tout ce qui restait dans la fiole était dissous dans du mélange de Lorenz (300 cm<sup>3</sup> de HNO<sub>3</sub> concentré, 20 cm<sup>3</sup> de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré, 680 cm<sup>3</sup> de H<sub>2</sub>O); puis l'on procédait à la précipitation du phosphore dans la solution, d'après la méthode de Lorenz-Neubauer. Au début le liquide contenu dans la fiole Kjeldahl était versé dans un ballon jaugé, en le faisant passer le cas échéant à travers un petit filtre, puis on prélevait des portions appropriées en vue de les analyser. Pour simplifier l'opération, on se servait ensuite d'une quantité définie de mélange de Lorenz (le mieux de 50 cm<sup>3</sup>) et l'on versait les eaux de lavage dans un bécher, où le phosphore était immédiatement précipité. On n'aurait pas pu procéder de la manière indiquée ci-dessus, si l'on avait appliqué la méthode de Neumann, car le liquide renfermait alors trop d'acide sulfurique, ce qui aurait défavorablement agi sur la formation du dépôt phosphomolybdique; en attendant ce procédé est précisément commode, surtout quand il s'agit d'analyser des substances pauvres en phosphore.

Nous nous sommes servis de différentes substances végétales et animales pour y doser le phosphore. Les résultats obtenus, exprimés en p. 100 de P par rapport à la quantité de substance employée, ont été réunis dans le tableau I. Pour permettre d'établir une comparaison, nous y avons rapporté les données obtenues en appliquant la méthode de Neumann.

Nous avons indiqué en italiques dans le tableau I les chiffres trouvés au cours des premières épreuves, ainsi que les valeurs trop basses, auxquelles nous avons abouti après avoir apporté certaines modifications à la méthode. Abstraction faite de ces dosages incertains, la concordance avec les résultats obtenus par la méthode de Neumann, était en général suffisante pour des travaux biologiques ordinaires. L'oxydation de la cervelle de veau offrait le plus de difficultés, probablement parce qu'elle renferme

TABLEAU I.

Substance employée	P en p. c. de la substance	
	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> +HNO <sub>3</sub>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Mycélium d'Aspergille ( <i>Aspergillus niger</i> )	0.939	0.904 <sup>1)</sup> 0.935 <sup>2)</sup> 0.830 <sup>2)</sup> 0.935 <sup>2)</sup> 0.948 <sup>2)</sup>
Graines de féverole . . . . .	0.592	0.511 <sup>1)</sup> 0.585 <sup>2)</sup> 0.577 <sup>2)</sup>
Nucléate de sodium . . . . .	0.691	0.683 <sup>1)</sup>
Lycoperdon . . . . .	0.546	0.542 <sup>1)</sup>
Plantes entières d'avoine . . . . .	1.14	1.14 <sup>1)</sup>
Levure séchée . . . . .	1.18	1.16 <sup>1)</sup>
Cervelle séchée de veau . . . . .	1.56	1.44 <sup>2)</sup> 1.48 <sup>2)</sup> 1.50 <sup>2)</sup> 1.55 <sup>2)</sup> 1.55 1.56 1.45
Caséine . . . . .	0.673	0.642 <sup>2)</sup> 0.668 <sup>2)</sup> 0.629 <sup>2)</sup>
Orge-graines . . . . .	0.481 0.485	0.454 <sup>2)</sup> 0.498 <sup>2)</sup> 0.502 0.424
Epicéa-semences (degraissées) . . . . .	0.839	0.800 <sup>2)</sup> 0.848 0.834
Betteraves potagères — racine rouge foncé	0.377	0.378 <sup>2)</sup> 0.373 0.374
Chou blanc . . . . .	0.339	0.335 <sup>2)</sup>
Carotte-racine . . . . .	0.348	0.346 0.346

<sup>1)</sup> On se servait d'eau oxygénée pour laquelle l'essai à blanc pouvait donner des valeurs trop basses, aussi les chiffres obtenus sont-ils probablement un peu trop élevés.

<sup>2)</sup> On employait de l'eau oxygénée pour laquelle l'essai à blanc pouvait donner des valeurs tant soit peu trop basses; c'est pourquoi les chiffres obtenus sont sans doute à peu près exacts.

Les caractères italiques indiquent les chiffres trouvés au cours de premières épreuves ainsi que les essais où les valeurs trop basses peuvent s'expliquer par la trop petite quantité d'eau oxygénée qu'on avait employée, ou par la marche irrégulière de l'oxydation.

beaucoup de composés lécithiques. Mandel et Neuberger avaient déjà attiré l'attention sur les difficultés que présente l'oxydation de la lécithine. Pour oxyder la racine de la betterave potagère rouge, nous nous sommes servis de portions pesant 1 et 2 g et nous avons appliqué la même quantité d'eau oxygénée. On s'aperçoit que les résultats étaient satisfaisants, ce qui prouve qu'on peut employer moins d'eau oxygénée par rapport à la substance étudiée, quand il s'agit d'analyser des matières qui ne contiennent que peu de phosphore.

Voulant nous renseigner si pendant que diverses substances étaient chauffées avec de l'eau oxygénée, la matière organique était complètement détruite, nous avons procédé comme d'habitude avec trois substances différentes, savoir: avec de la farine d'orge, des betteraves potagères rouges et du sang séché. Le liquide ayant été concentré et réduit à un très petit volume, le ballon fut prudemment chauffé directement à la flamme. On n'observa une coloration foncée du restant qui témoignait de la présence d'une petite quantité de matière organique, que pour la farine d'orge qui formait pour ainsi dire des brindilles minuscules ne se dissolvant pas sous l'action de l'eau oxygénée et provenant sans doute de l'enveloppe de la graine, riche en silice.

En présence du résultat de cette épreuve qui témoignait de la destruction complète ou presque entière de la matière organique sous l'influence de l'eau oxygénée concentrée, on résolut d'essayer, si en appliquant le même procédé, on ne réussirait pas à oxyder de plus grandes quantités de substance, afin de pouvoir doser dans le restant non seulement le phosphore, mais aussi d'autres composants minéraux; en d'autres termes, on voulut se rendre compte si cette méthode permettrait d'aboutir à une «incinération humide». Nous nous entretiendrons de ces essais dans la suite et voulons présenter pour le moment les résultats de quelques dosages du phosphore, que nous avons exécutés avec de l'eau oxygénée dont le contenu de phosphore était tellement insignifiant qu'on pouvait ne pas en tenir compte dans les calculs. Nous avons apporté une modification à ces analyses; elle consistait à n'ajouter au début que 10 cm<sup>3</sup> d'eau oxygénée pour 1 g de substance et à chauffer la fiole dans de l'eau bouillante. L'oxydation n'était cependant pas satisfaisante, quoique nous eussions ajouté ensuite encore 10 ou 20 cm<sup>3</sup> d'eau oxygénée. Des

parcelles de substances adhéraient aux parois de la fiole et on finit par obtenir des valeurs trop peu élevées, ainsi que le montre le tableau II, où la première série de chiffres correspond pour chaque substance analysée aux résultats obtenus en appliquant ce procédé. Je suppose qu'après avoir introduit une petite quantité d'eau oxygénée, sa concentration diminuait trop rapidement,

TABLEAU II.

Substance employée	P en p. c. de la substance	
	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + HNO <sub>3</sub>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Mycélium d'Aspergille ( <i>Aspergillus niger</i> )	0.939	0.913 0.944
Graines de féverole . . . . .	0.592	0.555 0.577
Caséine . . . . .	0.673	0.651 0.647
Orge-graines . . . . .	0.483	0.450 0.472
Betteraves potagères — racine rouge foncé	0.377	0.360 0.367

Les chiffres en italiques indiquent les portions chauffées dès le début dans de l'eau bouillante; quant aux autres portions, elles étaient chauffées d'abord sur une toile métallique à amiante et ce n'est qu'ensuite qu'on les chauffait dans de l'eau bouillante.

ce qui entraînait une baisse de l'intensité de son action oxydante. Dans ces conditions on procéda comme auparavant dans les épreuves suivantes et l'on versait au commencement 25 cm<sup>3</sup> d'eau oxygénée, pour en ajouter encore 10 cm<sup>3</sup> dans la suite. On commençait par chauffer le liquide sur une toile métallique à amiante et ce n'est qu'après l'avoir additionné d'une seconde portion d'eau oxygénée qu'il était chauffé dans de l'eau bouillante. Cependant ce procédé ne se montra également pas pratique, car des parcelles de substance adhéraient parfois si fortement aux parois, qu'on ne réussissait pas à les en séparer, même en appliquant le mélange de Lorenz à chaud. Les valeurs ainsi obtenues figurent dans la seconde série de chiffres, à côté de chaque substance analysée. Les résultats étaient généralement exacts. En ce qui concerne la caséine, pour laquelle cette fois aussi les valeurs

étaient trop peu élevées, il est à remarquer qu'après avoir appliqué le mélange de Lorenz on obtint un liquide jaunâtre.

Les essais tentés en vue d'oxyder de plus grandes quantités de substance, furent effectués au début dans des fioles Kjeldahl en verre »Pyrex« d'une capacité de 800 cm<sup>3</sup>. On se servit ensuite de ballons »Duran« à fond rond dont la capacité correspondait à 1 l, et qui se montrèrent pratiques au cas où il se dégagerait de l'écume. Les liquides étaient chauffés au début soit sur une toile métallique à amiante, soit au bain-marie, puis ils étaient concentrés en plongeant les ballons dans de l'eau bouillante. On pesait 25 g de substance, de sorte que l'erreur ne dépassait pas 0.1 g, vu qu'il ne s'agissait que de se rendre compte de la marche de l'oxydation et de se renseigner s'il ne restait pas par hasard une plus grande quantité de matière organique. Une fois pesées, les portions de substance étaient traitées par 150 à 200 cm<sup>3</sup> d'eau oxygénée, puis, après avoir fortement concentré le liquide, on les additionnait ensuite de nouvelles portions de peroxyde d'hydrogène. Dans une série d'épreuves on ajoutait également de l'acide nitrique, afin de dissoudre les parcelles de substance qui résistaient à l'action dissolvante de l'eau oxygénée. Insistons sur la circonstance, qu'après les avoir chauffées quelque temps, les différentes substances végétales et animales passaient généralement presque entièrement dans la solution et que même une substance aussi résistante que la peau de pieds de veau se conformait à cette règle. Ainsi on obtient d'emblée une solution se prêtant à l'analyse, on évite toutes les difficultés techniques liées à l'incinération et l'on prévient les pertes qui peuvent se produire au cours de cette opération. On réussit en outre à séparer les parties terreuses et l'on trouve dans la solution les composants minéraux que renferme la substance étudiée.

Il importe de noter que, bien que la réaction de l'eau oxygénée employée dans les expériences ait été acide, on pouvait établir qu'en réagissant avec les différentes substances végétales et animales, le peroxyde d'hydrogène entraînait souvent l'alcalinisation du liquide, aussi pourrait-on dans ces cas-là procéder au dosage du chlore dans la solution obtenue. Nous appuyant sur les résultats des recherches de Mandel et Neuberg, nous pouvons supposer que nous trouverons également dans la solution tout le soufre sous forme de sulfates, à moins que la substance



analysée ne contienne des composés sulfureux tellement volatiles que nous risquerions de subir des pertes de soufre, quoique le processus d'oxydation eût lieu dans une température relativement peu élevée.

Je veux me borner à brièvement indiquer la marche de cette »incinération humide«, appliquée à une série de substances et à rapporter les résultats qu'elle a donnée.

1. Le mycélium de l'Aspergille (*Aspergillus niger*) était soumis à l'oxydation à l'aide d'eau oxygénée dont la quantité globale s'élevait à 425 cm<sup>3</sup> et à laquelle on ajouta de l'acide nitrique. Il produisit des parcelles de graisse(?) qui résistaient à l'oxydation et dont le poids après une dessiccation à 120° C s'élevait à 0.44 g, tandis qu'il correspondait à 7.4 mg après la calcination dans un creuset en porcelaine. La solution dont la filtration se faisait très rapidement, donna après l'évaporation un résidu qui, ayant été calciné avec précaution, dégageait une abondante fumée blanche, mais ne noircissait pas. Le poids de la cendre équivalait à 5.26% de la substance employée. Désirant oxyder la graisse refractaire à l'oxydation, on employa une grande quantité de peroxyde d'hydrogène mais ce fut en vain. Si ce n'avait pas été la graisse, il aurait suffi d'en utiliser environ 300 cm<sup>3</sup>.

2. La farine de féverole avait été précédemment vannée et par conséquent privée d'une partie des enveloppes de la graine. Elle était chauffée avec 315 cm<sup>3</sup> d'eau oxygénée, puis additionnée de HNO<sub>3</sub>. Le résidu insoluble resté après l'incinération pesait environ 20 mg, c'est-à-dire pas même 0.1% du poids de la farine. Une fois évaporée, la solution laissa un résidu dont se dégageait une fumée blanche quand il était chauffé, mais qui ne noircissait pas et dont le poids correspondait à 3.93% de celui de la substance employée.

3. Du chou était chauffé avec 400 cm<sup>3</sup> d'eau oxygénée sans addition aucune. Ce qui restait dans le ballon était versé dans une capsule en platine. (Le ballon était lavé avec de l'acide nitrique pour enlever les restes adhérant à ses parois, mais le liquide qu'il contenait était bouilli, afin d'écarter l'excès de HNO<sub>3</sub> libre). Ce reste était ensuite évaporé et légèrement calciné, et la substance dégageait alors une fumée blanche, sans cependant noircir, vu qu'elle ne brunissait qu'un peu. La cendre obtenue, grisâtre, friable et facilement triturable, correspondait à 10.7% de la substance utilisée. Bouillie avec du HNO<sub>3</sub> dilué, elle était presque

entièrement dissoute et il ne restait qu'un peu de sable pure. La solution filtre plutôt rapidement.

4. Les racines de betteraves potagères rouges étaient chauffées avec 275 cm<sup>3</sup> d'eau oxygénée, à laquelle on ajoutait ensuite du HNO<sub>3</sub>. Il ne resta dans le ballon qu'un peu de sable pure et transparent. Les parties plus légères, retenues par le filtre, pesaient 0.149 g après avoir été séchées à une température de 120° C, tandis qu'après une calcination dans un creuset de porcelaine, leur poids s'élevait à 0.100, soit il correspondait à 0.40% du poids des betteraves utilisées. Après l'évaporation de la solution, le résidu légèrement calciné équivalait à 7.68% du poids de la substance. Cette cendre s'est complètement dissoute dans de l'eau additionnée de HNO<sub>3</sub>.

5. Traitée par de l'eau oxygénée, la tourbe séchée fait monter la température du mélange, aussi n'a-t-on pas commencé à le chauffer de suite, mais seulement après quelque temps. On n'ajoutait pas d'acide nitrique et la réaction du liquide était acide après l'oxydation. Après avoir deux fois ajouté de l'eau oxygénée (320 cm<sup>3</sup> en tout), la couleur foncée de la substance disparut complètement et il ne restait dans le ballon qu'un liquide jaunâtre ainsi qu'une assez grande quantité d'un dépôt très fin, d'un aspect glaiseux. On supposa donc que la tourbe était déjà complètement oxydée, aussi la solution fut-elle débarrassée par filtration des parties insolubles. Après avoir évaporé le liquide dans une capsule en platine, le résidu ne noircissait pas lorsqu'il était chauffé. Le produit ainsi obtenu, facilement triturable, pesait 4.53% du poids de la tourbe. Le résidu insoluble était séché à 120° C (il pesait 3.762 g) et légèrement calciné. Pendant la calcination, il se dégagèrent des gaz inflammables et il resta un produit gris dont le poids s'élevait à 1.415 g. Ce résidu glaiseux devait encore contenir une certaine quantité de matière organique, aussi faudra-t-il tenter un nouvel essai d'oxydation.

6. Chauffée avec de l'eau oxygénée, sans aucune addition, la sciure de bois de frêne devient tout à fait blanche en peu de temps. L'oxydation une fois terminée, dans laquelle on se servait de 275 cm<sup>3</sup> d'eau oxygénée, on obtint un liquide dont la réaction était acide. Le contenu du ballon était versé dans une capsule de platine, évaporé et séché. Le résidu dont le poids s'élevait à 0.624 g, fut légèrement calciné. Pendant la calcination

il s'en dégagait une fumée blanche, la substance noircissait et devenait çà et là rouge, ce donc on pouvait conclure qu'il restait encore un peu de matière organique. Après la calcination, il resta une poudre facilement triturable dont le poids correspondait à 0.177 g. La cendre était mélangée avec le liquide obtenu en lavant le ballon avec de l'acide nitrique, afin d'en écarter les parcelles adhérant aux parois. Le contenu de la capsule en platine était évaporé, séché et légèrement torréfié. Il pesait alors 0.199 g, ce qui correspondait à 0.80% du poids de la sciure.

7. Après avoir traité de la farine d'orge par 275 cm<sup>3</sup> d'eau oxygénée, on obtint un produit qui ayant été séparé de la petite quantité de sable resté dans le ballon, fut transporté dans une capsule de platine, puis séché et dont le poids se montait à 1.774 g. Notons qu'on se servait d'acide nitrique pour laver le ballon, que le liquide obtenu était évaporé à sec afin d'écarter l'acide, puis que le résidu était dissous dans de l'eau et versé dans la capsule. La substance facilement triturable restée dans la capsule était chauffée avec précaution sur une toile métallique à amiante et il s'en dégagait un peu de fumée. La substance prenait une teinte noirâtre. On la chauffa quelques instants directement à la flamme, sans toutefois chauffer à rouge. On obtint un produit gris foncé, pesant 0.843 g, poids qui équivalait à 3.37% de celui de la farine d'orge. Après avoir calciné assez fortement la cendre, le poids de celle-ci diminua, de sorte qu'il correspondait à 3.09% du poids de la farine.

8. Pour oxyder de la sciure de bois de pin, on se servit de 375 cm<sup>3</sup> d'eau oxygénée et l'on obtint ainsi un liquide dont la réaction était légèrement acide, cependant des flocons non oxydés flottaient dans celui-ci. La solution contenue dans le ballon, lavé avec de l'acide nitrique dilué qu'on chassait ensuite en évaporant à sec, fut versée dans une capsule en platine, puis on l'évaporait, la séchait et la soumettait à une légère calcination. La cendre pesait 0.143 g, soit 0.57% du poids de la sciure. Les flocons insolubles (résine?) étaient traités par de l'alcool à chaud et furent dissous, de sorte que le ballon était presque libre d'impuretés et qu'il n'y resta au fond qu'un peu de sable blanc et fin. Après avoir évaporé la solution alcoolique et séché le résidu à une température de 120° C, on obtint une substance pesant 0.165 g, soit 0.66% du poids de la sciure. Après avoir calciné le résidu dans

un creuset de porcelaine, on obtint un reste de 7 mg, c'est-à-dire 0.03% du poids de la sciure employée.

9. Le poids du blanc de 20 oeufs durs de poule s'élevait à 655 g, mais après avoir séché le blanc à 120° C, il était à peu près de 80 g. Mille grammes de blanc d'oeuf contenaient par conséquent environ 880 cm<sup>3</sup> d'eau; d'après Hammarsten ils en renferment 850—880 cm<sup>3</sup>. Vingt-cinq grammes de blanc d'oeuf furent traités par 200 cm<sup>3</sup> d'eau oxygénée. En le chauffant au bain-marie, le blanc écume, mais la mousse peu épaisse s'affaissa dès qu'on la mélange. Après avoir ajouté de nouvelles portions d'eau oxygénée dont la quantité globale se montait à 360 cm<sup>3</sup> et après avoir chauffé le mélange, la marche de la réaction devenait rapide et l'on sentait l'odeur de l'ammoniaque dégagée, odeur qui témoignait de la réaction alcaline du liquide. Vers la fin de l'opération on ajouta de l'acide nitrique concentré. Après l'évaporation il se forme une masse cristalline solide qui, additionnée d'eau bouillante, donne une solution légèrement trouble. Ce liquide était soumis à l'évaporation dans une capsule en platine et le résidu était chauffé sur une toile métallique à amiante. La substance fondait, prenait une couleur brune tirant sur le roux, écumait et dégageait une fumée blanche. Après avoir pendant quelque temps chauffé sur la toile métallique, on chauffait brièvement et avec précaution à la flamme et l'on voyait la masse entière devenir blanche, de sorte que seulement certaines parties étaient légèrement noircies. La cendre pesait 1.78 g, ce qui correspondait à 7.12% du poids du blanc séché et à 0.87% du poids du blanc d'oeuf frais. La teneur du blanc d'oeuf de poule en sels s'élève à 7 p. 1000 d'après Hammarsten.

10. Traitée par 150 cm<sup>3</sup> d'eau oxygénée, la levure séchée donna un mélange dans lequel, après l'avoir légèrement chauffé, commença une réaction énergique avec formation d'écume. Lorsque après avoir au préalable fortement concentré le liquide, on y ajoutait de nouvelles portions d'eau oxygénée, on voyait continuellement se répéter le même phénomène. Comme il s'était formé des parcelles de graisse, on ajouta à plusieurs reprises de l'eau oxygénée afin de les oxyder, mais quoiqu'on en eût utilisée 500 cm<sup>3</sup> en tout, on ne réussit pas à obtenir le résultat désiré. Vers la fin de l'opération on ajouta également de l'acide nitrique. La graisse (soluble dans du toluène), séparée par filtration, pesait 0.64 g

après dessiccation à 120° C. Calcinée dans un creuset en porcelaine, elle donna 0.081 g de cendre, soit environ 0.30% du poids de la levure. On procéda avec la solution comme on l'avait fait avec le blanc d'oeuf et l'on obtint ainsi une cendre blanchâtre, çà et là brunâtre, qui correspondait à 7.54% du poids de la levure et donnait un liquide très faiblement opalescent lorsqu'on y ajoutait de l'eau additionnée de HNO<sub>3</sub>. (Le contenu de cendre pure dans la levure s'élève à 7 à 9% d'après Wolff). Il ne restait qu'un peu de sable blanc et fin dans le ballon où l'on avait procédé à l'oxydation de la levure.

11. Oxydée à l'aide de 350 cm<sup>3</sup> d'eau oxygénée qu'on additionnait ensuite d'acide nitrique la prêle donna un résidu insoluble dont le poids s'élevait à 0.928 g après avoir été séché et qui, après une courte calcination dans un creuset de porcelaine, pesait 0.67 g, c'est à-dire 2.68% du poids de la plante employée. En procédant comme ci-dessus avec la solution, on obtint de la cendre dont le poids équivalait à 16.49% de la matière végétale dont on s'était servi et qui était complètement dissous par de l'acide nitrique étendu d'eau. On obtint donc environ 19% de cendre en tout. (Suivant Wolff, *Equisetum arvense* donne 18.7% de cendre, tandis que *Equisetum Telmateja* en fournit 26.7). Il restait au fond du ballon un peu de sable blanc, très fin<sup>1)</sup>.

12. La peau de pieds de veau, séchée et traitée par de l'eau oxygénée, produit immédiatement de l'écume, aussi fallait-il la chauffer très peu de temps le cas échéant et la refroidir ensuite dans de l'eau. Pendant quelques jours la réaction se faisait à froid et il s'exhalait une forte odeur d'ammoniaque. Après quelque temps presque toute la substance avait passé dans la solution. On employa 360 cm<sup>3</sup> d'eau oxygénée et l'on y ajouta de l'acide nitrique. Il se forma une certaine quantité de «graisse» soluble dans de l'éther de pétrole dont on se servait pour la détacher des parois du ballon. Après l'avoir séchée, cette «graisse» pesait 0.509 g et ayant été calcinée dans un creuset en porcelaine, elle donna 0.015 g de cendre, autrement dit 0.06% par rapport au poids de la peau.

<sup>1)</sup> Rippel, Behr et Wiangke (Zeitschr. Pflanzenern. Düng. u. Bod. A, XVIII, 1930) attirent l'attention sur les difficultés qu'offre l'incinération des prêles, à cause de leur fort contenu de silice. De l'avis de ces auteurs, il peut se former des silicates que l'acide chlorhydrique est ensuite incapable de dissoudre.

La solution verdâtre tirant sur le jaune qui passait très rapidement à travers le filtre, donna, après y avoir appliqué le procédé décrit ci-dessus, de la cendre dont le poids correspondait à 1.95% de celui de la peau. Il est à remarquer que la substance brunissait, mais ne noircissait pas pendant qu'elle était chauffée.

13. De la viande de cheval, crue et maigre, était oxydée à l'aide de 400 cm<sup>3</sup> d'eau oxygénée, qu'on additionnait ensuite d'acide nitrique, cependant il y resta une graisse rouge soluble dans de l'éther de pétrole, laquelle ayant été séchée, pesait 2.2 g et donna 25 mg de cendre, soit 0.1% du poids de la viande. La cendre soluble équivalait à 5.41% du poids de la viande employée. Le résidu sec de la solution brunissait çà et là lorsqu'il était chauffé, mais ne noircissait pas; quant à la solution, elle était à peine verdâtre et passait assez rapidement à travers le filtre.

14. Le jaune de 20 oeufs durs de poule pesait 320 g et son poids s'élevait à environ 150 g après avoir été séché. Même après avoir appliqué 500 cm<sup>3</sup> d'eau oxygénée, on ne réussit pas à détruire une plus grande quantité de la »graisse« qui surnageait sur de l'eau chaude sous forme d'huile jaune et se figeait dans de l'eau froide en formant une masse de la même couleur. Ayant été brûlée et calcinée, cette graisse donna un résidu noir quoiqu'il eût été plusieurs fois humecté avec de l'acide nitrique. Il pesait 45 mg, donc pas même 0.2% par rapport au jaune d'oeuf. Après avoir été évaporé, la solution laissa un résidu qui se carbonisait lorsqu'on le chauffait sur une toile métallique à amiante, mais le charbon qui s'était formé ne pouvait être brûlé, même après l'avoir humecté à plusieurs reprises avec du HNO<sub>3</sub>. L'essai tenté en vue d'oxyder le jaune d'oeuf ne donna donc pas de résultats satisfaisants.

Après avoir passé en revue les essais de »l'incinération humide«, nous nous apercevons qu'on arrive à suffisamment détruire la matière organique dans la plupart des cas. On devrait donc retrouver dans la solution toute la quantité des composants minéraux que contient la substance étudiée. Les substances végétales se prêtent généralement plus facilement à ce procédé, que les matières d'origine animale. On ne se heurte à de sérieuses difficultés, que lorsqu'on a affaire à des substances riches en graisse, qu'il faudrait sans doute préalablement dégraisser. Il faudrait évidemment contrôler dans la suite, si l'analyse donne de bons ré-

sultats après avoir employé de l'eau oxygénée, surtout lorsqu'il s'agit de soufre, présent sous forme de composés organiques. Notons enfin que la méthode que nous venons de décrire, se rapprocherait peut-être de la méthode idéale dont parlent Mandel et Neuberger.

### Conclusions.

Une série de substances de provenance végétale et animale, dont on prélevait 25 g, furent oxydées à l'aide d'eau oxygénée à 30<sup>0</sup>/<sub>0</sub>. »L'incinération humide« que l'auteur obtint en procédant d'après cette méthode, aboutit à l'obtention d'une solution, dans laquelle on peut doser les composants minéraux. Une destruction suffisante de la matière organique réussit pour les substances suivantes: mycélium de l'Aspergille (*Aspergillus niger*), farine de féverole, choux blancs, racines de betteraves potagères rouges, sciure de bois de frêne, farine d'orge, sciure de bois de pin, blanc d'oeuf de poule, levure, prêle, peau de pieds de veau et viande de cheval.

L'auteur s'est particulièrement intéressé au dosage du phosphore et s'est servi d'eau oxygénée, en l'appliquant surtout à des portions d'un gramme. Il obtint des résultats satisfaisants pour les substances suivantes: mycélium d'Aspergille, graines de féverole, nucléate de sodium, Lycoperdon, avoine (plantes entières), levure, cervelle de veau, caséine, graines d'orge, semence d'épicéa, racines de betteraves potagères rouges, choux blancs et racines de carotte.

Institut de Chimie Agricole de l'Université des Jagellons à Cracovie.

---









BULLETIN INTERNATIONAL  
DE L'ACADÉMIE POLONAISE DES SCIENCES  
ET DES LETTRES

CLASSE DES SCIENCES MATHÉMATIQUES ET NATURELLES  
SÉRIE B: SCIENCES NATURELLES

DERNIERS MÉMOIRES PARUS.

N° 1—2 B I, 1936.

- Gatty-Kostyal L.** et **Tesarz J.** L'acide nucléique de l'ergot de seigle (II<sup>e</sup> partie).  
**Hryniewiecki B.** et **Kurtz W.** La répartition des cônes siliceux dans les cellules des Cypéracées et leur corrélation (Planches 1—2).

N° 1—2 B II, 1936.

- Garbowski T.** Die Rolle des Gedächtnisses bei einer blindgeborenen Katze (Planche 1).  
**Kołodziejski Z.** † Über die Transplantation von jungen Larven des Axolotls auf ältere Tiere (Planche 6).  
**Slonimski P.** Über Blutelemente bei dem Aalmolch (*Amphiuma means* Gard.) (Planche 5).  
**Studentowicz I.** Der Einfluß des Lichtes auf das Verhalten des Oligochaeten *Enchytraeus albidus* Henle.  
**Szarski G.** Contribution to the physiology of *Oligochaeta* belonging to the genus *Chaetogaster* (Planche 4).  
**Tur J.** Sur un embryon double néoplasie (Planche 2).  
**Zacwilichowski J.** Über die Innervation und die Sinnesorgane der Flügel von *Aphrophora alni* Fall. (Rhynchota-Homoptera) (Planche 3).

N° 3—4 B II, 1936.

- Ackermann J.** Methodische Untersuchung über die Bestimmung von kleinen Mengen der Lipide in den Tierorganen.  
**Ackermann J.** Experimentelle histo-chemische Untersuchungen über den Lezithinstoffwechsel im Tierkörper. I. Teil. Über die Resorption des Lezithins im Darm (Planche 8).  
**Cunge M. J.** Über die Cytoarchitektonik der Großhirnrinde der japanischen Tanzmaus (Planches 10—11).  
**Kéler S.** Über die neue Mallophagengattung, *Dahlehornia* nov. gen. (Planche 7).  
**Latkowski J.** und **Charłampowicz B.** Über die biologische Wirkung der sog. Kurzwellen.  
**Liche H.** Beiträge zur Ethologie der Dermestiden.  
**Vetulani T.** Die Wiedereinführung des Waldtarpans in den Urwald von Białowieża (Bialowies) (Planche 9).

# TABLE DES MATIÈRES.

Mars—Juillet 1936.

	Page
H. MEREMIŃSKI. Über Embryosackentwicklung bei <i>Begonia incana</i> Lindl. (Ein Beitrag zur Embryologie der Gattung <i>Begonia</i> ) (Planches 3—7) . . . . .	53
W. ZABŁOCKA. Untersuchungen über die Mykorrhiza bei der Gattung <i>Viola</i> (Planches 8—9) . . . . .	93
TH. LITYŃSKI. Recherches sur le dosage du phosphore nucléaire dans les graines de féverole ( <i>Vicia faba minor</i> ) . . . . .	103
K. ROUPPERT. Zur Blattmorphologie von <i>Philodendron squamiferum</i> (Planche 10) . . . . .	131
W. VORBRODT. Essai d'employer de l'eau oxygénée concentrée pour doser les composants minéraux des substances végétales et animales . . . . .	139

Le «*Bulletin International*» de l'Académie Polonaise des Sciences et des Lettres (Classe des Sciences Mathématiques et Naturelles) paraît en deux séries. La première (A) est consacrée aux travaux sur les Mathématiques, l'Astronomie, la Physique, la Chimie, la Minéralogie, la Géologie etc. La seconde série (B) se divise en deux sous-séries; l'une d'elles »I« contient les mémoires qui se rapportent aux diverses branches de la Botanique (la Systématique, l'Anatomie et la Physiologie des Plantes), l'autre »II« est réservée aux publications qui concernent le vaste domaine des recherches morphologiques et physiologiques sur l'homme et les animaux (Anatomie, Biologie générale, Embryologie, Histologie, Physiologie, Psychologie, Zoologie systématique et expérimentale).

Depuis 1928, le «*Bulletin International*» ne contient que les communications dont l'étendue ne dépasse pas une limite strictement définie; les mémoires de plus vaste envergure sont réunis en un Recueil différent, les «*Mémoires*» de l'Académie Polonaise des Sciences et des Lettres (Classe des Sciences Mathématiques et Naturelles). Les *Mémoires* sont également publiés en deux séries: A et B. Chaque mémoire publié dans les *Mémoires* se vend séparément.

Les abonnements relatifs au «*Bulletin International*» sont annuels et partent de Janvier. Les livraisons de ce Recueil se vendent aussi séparément.

Adresser les demandes à l'Académie ou à la Librairie »Gebethner et Wolff» Rynek Gł., Cracovie (Pologne).