

P 1922
N° 5 B.

MAI

1915

BULLETIN INTERNATIONAL
DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES

DE CRACOVIE

CLASSE DES SCIENCES MATHÉMATIQUES ET NATURELLES

SÉRIE B: SCIENCES NATURELLES

ANZEIGER
DER
AKADEMIE DER WISSENSCHAFTEN
IN KRAKAU

MATHEMATISCH-NATURWISSENSCHAFTLICHE KLASSE

REIHE B: BIOLOGISCHE WISSENSCHAFTEN



CRACOVIE

IMPRIMERIE DE L'UNIVERSITÉ

1915



L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE CRACOVIE A ÉTÉ FONDÉE EN 1873 PAR
S. M. L'EMPEREUR FRANÇOIS JOSEPH I.

PROTECTEUR DE L'ACADÉMIE:

Vacat.

VICE-PROTECTEUR:

Vacat.

PRÉSIDENT: S. E. M. LE COMTE STANISLAS TARNOWSKI.

SECRÉTAIRE GÉNÉRAL: M. BOLESLAS ULANOWSKI.

EXTRAIT DES STATUTS DE L'ACADÉMIE:

(§ 2). L'Académie est placée sous l'auguste patronage de Sa Majesté Impériale Royale Apostolique. Le Protecteur et le Vice-Protecteur sont nommés par S. M. l'Empereur.

(§ 4). L'Académie est divisée en trois classes:

- a) Classe de Philologie,
- b) Classe d'Histoire et de Philosophie,
- c) Classe des Sciences Mathématiques et Naturelles.

(§ 12). La langue officielle de l'Académie est la langue polonaise.

Depuis 1885, l'Académie publie le «Bulletin International» qui paraît tous les mois, sauf en août et septembre. Le Bulletin publié par les Classes de Philologie, d'Histoire et de Philosophie réunies, est consacré aux travaux de ces Classes. Le Bulletin publié par la Classe des Sciences Mathématiques et Naturelles paraît en deux séries. La première est consacrée aux travaux sur les Mathématiques, l'Astronomie, la Physique, la Chimie, la Minéralogie, la Géologie etc. La seconde série contient les travaux qui se rapportent aux Sciences Biologiques.

Publié par l'Académie
sous la direction de M. **Ladislav Kulczyński**,
Secrétaire de la Classe des Sciences Mathématiques et Naturelles.

31 sierpnia 1915.

Nakładem Akademii Umiejętności.

Kraków, 1915. — Drukarnia Uniwersytetu Jagiellońskiego pod zarządkiem Józefa Filipowskiego.

Wir kommen nun zu einer sehr wichtigen und vielumstrittenen Frage nach der Genese der Geißelkammern. Bei der Metamorphose der Larve scheint dieselbe bereits durch die sorgfältigen Untersuchungen von Maas, Delage und Evans endgültig gelöst zu sein. Nach ihren übereinstimmenden Darstellungen soll bekanntlich das Geißelepithel der Larve während der Metamorphose zur Bildung der Choanocyten verwendet werden. Es gehen zwar die Ansichten dieser Forscher über die Rolle, die dabei die Amöbocyten spielen, auseinander, dies ist aber nebensächlich; die wichtige Tatsache steht fest: daß das Ektoderm der Larve sich zum Entoderm des ausgebildeten Tieres umgestaltet, und zwar sowohl bei Süßwasser- als auch bei marinen Schwämmen. Bei den ersteren findet jedoch eine Ausnahme statt, indem viele Larven bereits während ihres Aufenthaltes im mütterlichen Körper Geißelkammern entwickeln und da dieselben auch ausschwärmen, so dürfte ihr Geißelepithel, welches als Bewegungsorgan dienen soll, nicht zur Bildung von Geißelkammern verwendet werden. Sie sollen also nach Evans (1899) aus einzelnen Archäocyten, seinen „vesicular cells“ gebildet werden. In diesen zerfällt nämlich der Nukleolus und das ganze Chromatin in lauter kleine Körnchen, welche sich nach Auflösung des Kernbläschens im Plasma zerstreuen und nach und nach zu Kernen der künftigen Choanocyten umbilden; sie rücken sodann an die Oberfläche der Zelle, es tritt zugleich eine Plasmatrengung ein, so daß jeder Kern eine kleine Partie desselben erhält, und auf diese Weise entstehen kleine, selbständige Zellen, welche nur Kragen und Geißeln auszubilden brauchen, um sich in echte Choanocyten zu verwandeln und vollkommene Kammern zu bilden.

Über die Bildung der Geißelkammern bei den aus den Gemmulis sich entwickelnden Schwämmen liegen zurzeit nur einige neuere Angaben von Zykoff (1892), Müller (1911) und Jaffé (1912) vor. Der erstgenannte behauptet, mit besonderer Aufmerksamkeit die Bildung der Geißelkammern verfolgt zu haben, und hat folgende Beobachtungen gemacht: „Einige Parenchymzellen fangen an sich zu teilen, wobei aus jeder Zelle sich ein kompakter Haufen kleiner Zellen bildet; in diesem Haufen erscheint eine Höhlung, welche größer wird und die Zellen zwingt, sich in einer Schicht anzuordnen, und da solche Haufen gewöhnlich in der Nähe der Kanäle liegen, so ist es nicht im mindesten unwahrscheinlich, daß

die Höhlung des Kanals mit der wachsenden Höhlung des Zellenhaufens durch das Durchreißen des Kanals und den Durchbruch der Höhlung in Verbindung treten wird“ (S. 715). Wir haben die Darstellung des ganzen Vorganges wörtlich wiedergegeben, um zu zeigen, daß Zykoff denselben doch nicht sorgsam genug beobachtet hat, da er nicht einmal angibt, ob jede beliebige oder nur gewisse Zellen zur Bildung der Geißelkammer verwendet werden, ferner ob die Teilung auf mitotischem oder auf amitotischem Wege vor sich geht, seine Erklärung aber, daß die Höhlung die Zellen zwingt, sich in einer Schicht anzuordnen, ist wohl nur ein lapsus calami, da doch einer Höhlung als solcher unmöglich eine richtende Kraft zugeschrieben werden kann. Die Vermutung über die Art und Weise, wie die Verbindung der Höhlung der Geißelkammer mit dem Kanal zustande kommt, ist wohl auch nicht haltbar.

Nach Müller's Auffassung¹⁾ bilden sich die Geißelkammern bei der Regeneration aus vielkernigen Zellen, die ihrerseits aus je einem Archäocyten vermutlich durch multiple Teilung seines Kernes hervorgegangen sind. Jaffè beschreibt den Vorgang der Geißelkammerbildung ausführlicher, seine Darstellung stützt sich aber auch bloß auf die Annahme einer multiplen Kernteilung, deren Verlauf er nicht beobachten konnte. Er sah nämlich große Zellen mit zwei oder drei Kernen und folgerte aus diesem Befunde, daß eine multiple Kernteilung, wahrscheinlich in amitotischer Weise stattfindet. Der weitere Verlauf der Kammerbildung wird in einer mit Evans übereinstimmenden Art dargestellt, weshalb es überflüssig wäre, auf die Einzelheiten näher einzugehen.

Nachdem also mehrere Autoren zu der Überzeugung gelangt sind, daß die Geißelkammern bei der Larvenmetamorphose und bei der Entwicklung aus den Gemmulis sich aus einzelnen Archäocyten entwickeln, dürfte ihre Auffassung zum wenigsten als sehr wahrscheinlich gelten, zumal mehrere Befunde dafür sprechen. Vor allem die Teilung der Kerne ohne gleichzeitige Plasmateilung, die so oft in den Anfangsstadien der Entwicklung des Schwammes aus den Gemmulis vorkommt und, wie bereits oben näher erörtert wurde, sowohl in mitotischer als auch in amitotischer Weise vor sich geht (Taf. 3, Fig. 6). Wir haben aber zugleich die Gründe angeführt,

¹⁾ Vergl. Arch. f. Entwcklmech. XXXII. Bd. 1911 u. Inaugural-Dissert.

die uns veranlassen, diese Teilungen nicht als multiple, zur Bildung von Syncytien führende, sondern als gewöhnliche Zerfallsteilungen ansehen zu müssen, wobei besonders der Umstand hervorgehoben wurde, daß man bei der Häufigkeit solcher gleichzeitigen Kernteilungen keine größeren Zellen mit mehreren kleinen Kernen (vielkernige Zellen der Autoren), sondern viele kleine, einzelne Zellen findet.

Eine weitere Stütze der obigen Auffassung der Autoren bildet die Beobachtung, daß man öfters in den Archäocyten des Keimes und des frisch gebildeten Parenchyms anstatt des für sie charakteristischen bläschenförmigen Kernes mit großem Nukleolus lauter feine, rundliche Chromatinkörnchen findet. Solche Bilder haben Evans wahrscheinlich zum Ausgangspunkt seiner Darstellung der Kammerbildung gedient, indessen habe ich mich sehr oft überzeugen können, daß der körnige Zerfall des Nukleolus nur ein Vorbereitungsstadium zur mitotischen Kernteilung bedeutet. In Taf. 3, Fig. 6 sieht man in einer zweikernigen Zelle (in der obersten Reihe) den einen Kern noch im Anfangsstadium, den anderen dagegen im Spindelstadium. Ähnliche Bilder kommen auch sonst im Parenchym der Schwämme zu jeder Zeit vor und haben stets dieselbe Bedeutung, d. i. stellen Vorbereitungsstadien zur Mitose vor. Bei der Ableitung der Geißelkammern von einem einzigen Archäocyten spielen die Hauptrolle gewisse tingierbare Einlagerungen im Plasma, die eine mehr oder weniger große Ähnlichkeit mit unausgebildeten Kernen zeigen. Manche erscheinen als stark tingierte Kügelchen, umgeben von einem kleinen, hellen Hof, andere als homogene Kugeln oder Brocken, die sich ebenfalls stark färben, wieder andere als kleine Aggregate von Chromatinbrocken, von denen einige den Choanocytenkernen sehr ähnlich sein können. Man erklärt nun diese Gebilde als Entwicklungsstufen der Choanocytenkerne (Jaffé). Über ihre Natur und Herkunft ist schwer eine begründete Ansicht auszusprechen, es können geformte deutolecithale Elemente oder auch wirkliche Chromatinbrocken sein, die sich tatsächlich zu Kernen entwickeln können. Ich halte es nämlich für wahrscheinlich, daß neben den mitotischen Teilungen, die man so oft und so sicher feststellen kann, auch amitotische vorkommen, vielleicht ein Knospungsprozeß, den man erst ganz speziell untersuchen müßte, um ihn als erwiesen betrachten zu können, da man sonst bloß auf Vermutungen angewiesen wäre.

Für jeden Fall aber ist für mich so viel sicher, daß die Umformung derartiger Einlagerungen zu Kernen nie zur Bildung von Syncytien führt und daß sie keine direkten Abkömmlinge der geteilten Archäocyten-Kerne sein können, weil ich stets in jenen Zellen, in denen sie zahlreich vorkommen, die Kerne intakt und in normaler Größe gefunden habe¹⁾. Es wollte mir überhaupt nie gelingen, solche Stadien zu finden, welche man nach der Darstellung der Autoren als unzweifelhafte Übergangsstadien zur definitiven Entwicklung der Kammern postulieren müßte (d. i. große, dotterarme Archäocyten mit vielen kleinen Kernen und ohne Mutterkern) und ich hätte sie doch ganz bestimmt beobachtet, da ich Dutzende von Präparaten, die nach verschiedenen Methoden hergestellt wurden, sehr genau darnach durchmusterte. Meine Beobachtungen wurden aber nicht nur bei der Erforschung der Entwicklung des Schwammes aus den Gemmulis, sondern auch bei derjenigen der Larven angestellt und führten, wie das weiter unten gezeigt werden soll, zur einheitlichen Auffassung der Kammerbildung.

Bei der Entwicklung aus den Gemmulis beginnt die Bildung der Geißelkammern bereits innerhalb der Hüllen, sobald die histologische Differenzierung der ganzen Keimmasse so weit vorgeschritten ist, daß man neben den einkernigen und doppelkernigen Archäocyten recht viele kleinere, dotterarme oder ganz dotterfreie Zellen findet, welche nach meinen Beobachtungen vorwiegend, wenn nicht ausschließlich, auf mitotischem Wege entstehen. Ihre Kerne entbehren entweder ganz des Nukleolus oder haben einen ganz kleinen, manchmal sogar zwei kleine Nukleolen, ihr Plasma ist gleichmäßig, enthält öfters tingierbare Einlagerungen. Unter diesen Zellelementen befinden sich viele kleinkernige, die in Bezug auf ihre Größe und die Struktur ihrer Kerne denjenigen Zellen sehr ähnlich sind, aus denen ausgebildete Kammern zusammengesetzt sind. Man findet solche Zellen an Schnitten durch Gemmulae, von deren Inhalt nur ein ganz unbedeutender Teil ausgeschlüpft ist, und man bemerkt sie bald einzeln zwischen den Archäocyten, bald an der Peripherie unter der Hülle, bald zu 2, 3, 4 und zu mehreren zu Gruppen vereinigt, die unmittelbar an den Lakunen liegen. Die

¹⁾ Ähnliche Einlagerungen kommen auch in den Archäocyten vegetierender Schwämme vor.

Lakunen sind nämlich schon an diesem Stadium in mehr oder weniger großer Anzahl ausgebildet. In den größeren Gruppen erkennt man sofort die Anlagen der Kammern, zumal einzelne Stufen ihrer Ausbildung manchmal nebeneinander und zugleich neben vollkommen ausgebildeten Kammern liegen. Die Bildung der letzteren geht jedoch innerhalb der Hüllen nur in sehr beschränktem Maße vor sich und ist auch der unmittelbaren Beobachtung weniger zugänglich, weil hier die mit Dotter stark beladenen Archäocyten dicht gedrängt nebeneinander liegen. Viel klarer liegen die Verhältnisse bei jungen Schwämmchen. Nach meinen Erfahrungen eignen sich zu diesbezüglichen Untersuchungen am besten flach ausgebreitete Formen, die man in toto präpariert. Um solche Präparate für Untersuchungen mit stärkeren Linsensystemen zugänglich zu machen, entfernt man vor dem Auflegen des Deckglases die Gemmula-Hülle und wählt das dünnste Gläschen. Gewöhnlich befinden sich bereits in ganz kleinen Schwämmchen vollkommen ausgebildete Kammern im zentralen Teile, aber der peripherische enthält da, wo er in die helle Randzone übergeht, sehr viele Anlagen derselben, die man bei seiner vollkommenen Durchsichtigkeit ganz genau beobachten kann. Vor allem fallen hier zahlreiche Mitosen auf, deren man öfters 4—8 im Gesichtsfelde zählt. Die in Teilung begriffenen Zellen enthalten bald mehrere kleine Dotterkörnchen, bald sind sie ganz dotterfrei, oder aber sind es Archäocyten; öfters sind solche Zellen von anderen größeren umgeben. Die Teilung ist stets vollkommen und die Tochterzellen bleiben entweder dicht nebeneinander oder sie rücken weit auseinander. Im erstere Falle bilden sie die Anlage einer Gruppe, im letzteren können sie zur Verstärkung einer bereits vorhandenen Gruppe dienen oder aber jede für sich die Anlage einer solchen bilden. Bei näherer Untersuchung der erwähnten Randpartie der jungen Schwämmchen findet man eine große Anzahl ganz kleiner, mittelgroßer und kollossaler Gruppen, von denen einige in Taf. 3, Fig. 9 wiedergegeben sind. Betrachtet man zunächst mit größerer Aufmerksamkeit die kleineren, aus 2 bis etwa 8 und 10 Zellen zusammengesetzten, so wird man gewahr, daß die aus gleicher Anzahl von Zellen bestehenden Gruppen untereinander sehr verschieden sind, so z. B. die vier- und fünfzelligen (Fig. 9: 1—8); sie zeigen nämlich nicht nur eine verschiedene Anordnung ihrer Komponenten, sondern auch eine verschiedene Größe und Beschaffenheit derselben, einige erinnern an Furchungsstadien (vgl. Fig.

9: 3, 4, 8). Man merkt ferner an ihrer Größe, daß sie unmöglich aus einem einzigen Archäocyten durch multiple Kernteilung entstanden sein können. Die größeren Gruppen enthalten gewöhnlich eine oder mehrere in Teilung begriffene Zellen, ihre Komponenten sind überhaupt sehr selten von ungefähr gleicher Größe, im Gegenteil, zu mehreren gleich großen gesellt sich öfters eine sehr große und ganz anders beschaffene Zelle, so z. B. in Fig. 9 (10, 12, 23).

Die Gruppen zeigen als Ganzes nicht nur eine große Mannigfaltigkeit bezüglich ihrer Größe, sondern auch hinsichtlich der Gestalt und Anordnung ihrer Komponenten, es sind bald flache Kuchen, bald Zellreihen oder wurstförmige Körper, bald kompakte Haufen von unregelmäßiger Gestalt, oder sphärische Gebilde mit einem Hohlraum im Inneren, oder ringförmig angeordnete Zellen, die entweder einen geschlossenen Ring bilden oder sich hufeisenförmig anordnen.

Hat man Dutzende derartig vielgestaltiger Gruppen durchmustert, so gewinnt man die Überzeugung, daß man aus ihnen ganze Tafeln zusammenstellen könnte, ohne ihre Mannigfaltigkeit erschöpft zu haben. Unsere Fig. 9, Taf. 3 gibt somit in den 27 Skizzen bloß eine ungefähre Vorstellung von dieser Mannigfaltigkeit. In allen, sowohl ganz kleinen als auch ganz großen Gruppen sind die Zellgrenzen gewöhnlich deutlich markiert, so daß sie keineswegs den Eindruck von Syncytien machen können.

Einzelne Gruppen wachsen sowohl durch Teilung ihrer Komponenten als insbesondere durch Aufnahme fremder Zellen von außen, die öfters viel Nährmaterial mitbringen, da es manchmal Archäocyten sind. Sonst können kleinere Nachbargruppen miteinander verschmelzen und ganz kolossale Gruppen bilden, die wieder ihrerseits durch Teilung in kleinere zerfallen können.

Aus obiger Darstellung ist zu entnehmen, daß an der Bildung der Kammern sich mehrere Zellen, und zwar Zellen verschiedener Sorten beteiligen können, ferner daß die Gruppen befähigt sind zu wachsen und sich durch Teilung zu vermehren und daß sie verschiedene Abstufungen der Kammerbildung darstellen.

Es bleibt noch zu erwähnen, daß Jaffè (1912, S. 34) kleine Zellen, „die den Choanocyten in bezug auf Größe und Kernstruktur gleichen“, im Gewebe des Schwammes gefunden hat und sie auf dieselbe Weise entstehen läßt wie die Kragengeißelzellen — es soll aber das ganze Syncytium in seine Bestandteile zerfallen, über deren weitere Schicksale indessen der Verfasser keine Auskunft zu

geben vermag. Ich habe an verschiedenen Stadien kleine Zellen gesehen, deren Kerne den Choanocytenkernen ähnlich sind, konnte jedoch keine Bilder finden, die für ihre Entstehung aus den Archäocyten durch multiple Kernteilung beweisend sein könnten.

Über die Entwicklung der Geißelkammern bei Larven, während sie noch im mütterlichen Körper verweilen, liegen bisher nur die oben erwähnten Befunde von Evans vor. Ich habe diesbezüglich recht viele solche Larven von *Eusp. lacustris*, *Spong. fragilis* und *Eph. fluviatilis* in mehreren Entwicklungsphasen auf Schnitten untersucht und vor allem die Überzeugung gewonnen, daß die Bildung der Geißelkammern bei Larven im mütterlichen Körper weder als eine Anomalie noch als eine pathologische Erscheinung zu deuten ist, wie es Delage auffaßt, sondern als ein ganz normaler Vorgang, da ich bei den meisten unter den dutzendweise untersuchten Larven sowohl verschiedene Stadien der Kammerbildung als auch ganz fertige Kammern gefunden habe.

Die ersten Anlagen der Kammern erscheinen kurz nach der Ausbildung der Larvenhöhle, und ihre Zahl nimmt in dem Maße zu, als die Differenzierung der sog. „inneren Masse“ (Evans) fortschreitet und im peripherischen Teile durch mehrfache mitotische Teilungen recht viele kleine Zellen mit hellem, gleichmäßigem Plasma und fein strukturierten Kernen entstehen. Man trifft auch einige derartige Zellen zwischen den Archäocyten bald einzeln, bald in einfacher oder doppelter Reihe, bald gruppenweise angehäuft. Manche Gruppen erinnern schon durch ihre sphärische Anordnung an fertige Kammern; die meisten von ihnen findet man in der peripherischen Zone und am Boden der Larvenhöhle. Die ersteren entstehen unter der äußersten Schichte, in der sehr lebhaft, mitotische Teilungen vor sich gehen. Hier befinden sich sehr viele kleine Zellen mit runden Kernen und fein zerteiltem Chromatin gruppenweise angehäuft, so daß es oft den Anschein hat, als wenn jede Gruppe aus einer einzigen Blastomere entstanden wäre, was schon Maas (1890) bei der Larve von *Eph. fluviatilis* aufgefallen ist. Indessen setzt sich jede Gruppe aus einzelnen Zellen zusammen, deren Grenzen sich ganz deutlich unterscheiden lassen. In mehreren, sowohl im peripherischen als auch im inneren Teile der Larve gelegenen Gruppen bemerkt man oft mitotische Teilungen, deren Produkte zur Vergrößerung der betreffenden Gruppe beitragen.

Die Größe und die Art der Zusammensetzung einzelner Gruppen bieten hier ebenso zahlreiche Modifikationen wie bei der Entwicklung aus den Gemmulis (vgl. Taf. 3, Fig. 9). Eine Eigentümlichkeit der Larvenentwicklung besteht nur darin, daß unter den vielgestaltigen Gruppenanlagen auch solche vorkommen, die aus lauter kleinen Komponenten von gleicher Größe bestehen und den fertigen Kammern sehr ähnlich sind. Sie liegen entweder unmittelbar unter dem Geißelepithel oder etwas tiefer, am zahlreichsten im Hinterpol der Larve, ausnahmsweise auch einzeln am Vorderpol zwischen den Wänden der Larvenhöhle. Bei genauer Durchmusterung zahlreicher Schnitte hat sich ergeben, daß diese Kammern direkt aus den Zellen der äußersten Schichte der Larve, dem künftigen Geißelepithel entstehen, dessen definitive Ausbildung dadurch nicht beeinträchtigt wird, da darin noch immer sehr rasche Teilungen vor sich gehen, so daß der Verlust an Zellen schnell ersetzt wird. Die Beteiligung der Epithelzellen an der Kammerbildung liefert den Beweis, daß zwischen jenen und diesen ein Zusammenhang besteht, der aber erst bei der Metamorphose der Larve recht klar zum Vorschein kommt, wo das ganze Geißelepithel zur Bildung der Choanocyten verwendet wird. Ähnliche Vorgänge bei der Larve wären wohl nur als eine vorzeitige Erscheinung, vielleicht überhaupt als eine seltene Ausnahme aufzufassen.

Bei *Esperia* sollen nach Maas die Kammern in ähnlicher Weise entstehen und werden von ihm ebenfalls als vorzeitige Bildungen aufgefaßt.

Bemerkenswert wäre noch der Umstand, daß die zu Kammern sich vereinigenden ektodermalen Zellen entweder spontan ins Innere einwandern oder aber durch amöboide Zellen dahin transportiert werden.

Im Zusammenhange mit der Kammerbildung bei den Larven im mütterlichen Körper steht noch ein sehr interessanter Vorgang, den ich nur bei einigen im Aquarium ausgeschwärmten und unmittelbar darauf konservierten Larven beobachtete. Bekanntlich liegt bei der reifen Spongilliden-Larve unmittelbar unter dem Geißelepithel eine einfache Schicht von ganz hellen Zellen mit fein strukturierten Kernen und pseudopodienähnlichen, oft sternförmig ausstrahlenden Fortsätzen. Sie werden von den Autoren als Epithel- oder Dermalzellen bezeichnet, von Delage als „*cellules ectodermiques*“. Im normalen Zustande enthält ihr Plasma gar keine oder nur ganz

unscheinbare Einschlüsse. Bei einigen Larven aber bieten sie ein ganz eigentümliches Aussehen: einige enthalten nämlich in ihrem Plasma kernartige Gebilde, an anderen hängen solche nur lose oder werden durch kürzere oder längere Fortsätze festgehalten, wieder andere sind mit diesen Gebilden so reich beladen, daß man beinahe die Zelle selbst nicht sieht. Solche Zellen liegen bald einzeln, bald mehrere beisammen, oft durch Plasmabrücken miteinander verbunden, einige stecken mit einem Fortsatze zwischen den Geißelzellen (vgl. Taf. 3, Fig. 8). In den meisten läßt sich der eigene Kern sehr deutlich unterscheiden, in wenigen scheint er aufgelöst zu sein.

Nach näherer Untersuchung hat sich ergeben, daß die ungewöhnlichen Einschlüsse der sog. Dermalzellen Kerne des Geißel-epithels sind, von denen die meisten bereits verschiedene Umformungen erfahren haben, in einigen sind aber ihre charakteristischen Merkmale noch unversehrt geblieben. Die im Plasma tiefer liegenden haben ein mehr homogenes, bläschenartiges Aussehen, während die der Oberfläche anhaftenden mit einzelnen Chromatinbrocken oder mit einem einzigen Nukleolus versehen sind.

Wir haben hier offenbar mit einem ähnlichen Vorgang zu tun, wie er nach Delage bei der Metamorphose der Larve vorkommt, nach deren Festsetzen die Geißelzellen in der Regel durch amöboide, ausnahmsweise aber auch durch die ektodermalen Zellen von der Oberfläche weggefressen werden sollen; der Freßprozeß soll gerade bei *E. lacustris* sehr deutlich ausgesprochen vor sich gehen. Seine Darstellung erweckte bei einigen Autoren (Maas, Nöldke) gewisse Bedenken, besonders mit Rücksicht auf die vermittelnde Rolle, welche die Amöbocyten bei der Bildung der Kammern spielen sollen. Mein Befund scheint wenigstens für die Wahrscheinlichkeit eines derartigen Freßprozesses zu sprechen, zumal ich auch bei der Larve im mütterlichen Körper öfters beobachtete, daß einzelne ektodermale Zellen die Kerne des Geißel-epithels an sich ziehen und inkorporieren. Bei der freischwärmenden Larve dürfte der Freßprozeß entweder als eine vorzeitige oder aber als eine pathologische Erscheinung gedeutet werden, zumal er nur bei wenigen von den vielen untersuchten Larven festgestellt werden konnte und dazu vorwiegend bei solchen, die recht viele Kammeranlagen besaßen. Dieser Befund erscheint noch aus dem Grunde sehr merkwürdig, weil die mit fremden Kernen beladenen Zellen nach dem Festset-

zen der Larve das Plattenepithel und nicht die Geißelkammern zu bilden bestimmt sind. Trotzdem aber weist ein weiterer Befund darauf hin, daß sie doch diese bilden können. Ich bemerkte nämlich an zwei Schnitten kammerartige Gruppen, deren Komponenten sich auffallend von denen anderer Gruppen unterschieden, und ein näherer Vergleich hat gezeigt, daß ihre Kerne genau dieselbe Größe und Struktur besitzen, wie jene in den Phagocyten; die Zellgrenzen waren etwas undeutlich, sonst sah die ganze Gruppe wie eine fertige Kammer aus (T. 3, Fig. 8 k). Aus diesem Befunde lassen sich keine weiteren Schlüsse ziehen, als daß zwischen dem Ektoderm (Geißelepithel) der Larve und der Kammerbildung ein Zusammenhang besteht. Sonst dürfte der ganze Vorgang als eine pathologische Erscheinung gedeutet werden.

Die Ergebnisse meiner Untersuchungen über die Entwicklung der Geißelkammern einerseits bei den aus den Gemmulen sich entwickelnden Schwämmchen, andererseits bei den Larven (während sie noch im mütterlichen Körper verweilen) lassen sich mit den bisher vorliegenden Angaben nicht ganz in Einklang bringen. Im ersteren Falle konnten sie die Angaben Zykoſſ's und Jaffé's, daß die Geißelkammern aus je einer Zelle (Archäocyten) hervorgehen, nicht bestätigen, ebenso wenig die Annahme des letzteren, daß die Choanocyten durch multiple Teilung eines Archäocyten-Kernes entstehen.

Aus diesem Grunde muß ich auch die mit Jaffé übereinstimmende Annahme K. Müller's, daß bei Regeneraten die „*groupes polynuclés*“ ebenfalls durch multiple Kernteilung aus je einem Archäocyten entstehen, für unwahrscheinlich halten, zumal der Verfasser selbst für seine Annahme keine Begründung geben konnte.

Bezüglich der Kammerbildung bei der Larve befinde ich mich vor allem im Gegensatz zu Evans, nach dessen ausführlicher, bereits oben kurz wiedergegebener Darstellung die Kammern aus je einem Archäocyten durch simultane Kernteilung entstehen. Nach meinen Beobachtungen lassen sich für diesen Bildungsmodus keine beweisenden Tatsachen feststellen.

Es erübrigt noch der Vergleich mit den Befunden bei der Metamorphose der Larve. Bei dieser werden die Geißelkammern nach übereinstimmenden Angaben von Delage, Maas und Evans nur aus den Geißelzellen der Larve gebildet, und zwar direkt

(Maas) oder indirekt durch Vermittlung von Amöbocyten (Delage, Evans). Dagegen können nach Nöldke (1894) die Geißelzellen deshalb keinen Anteil an der Kammerbildung nehmen, weil sie von Amöbocyten wirklich gefressen und verdaut werden. Nun hat sich aus meinen Untersuchungen ergeben, daß das Geißelepithel sogar bei der Larve im mütterlichen Körper zur Erzeugung von Kammern teilweise verwendet wird; umso wahrscheinlicher erscheint somit seine Verwendung zu demselben Zwecke nach dem Festsetzen der Larve. Aus diesem Grunde halte ich die Aussage Nöldkes: „daß der ganze Schwamm auf das larvale Entoderm zurückzuführen ist“ für unhaltbar.

Es wäre überhaupt nach den vorliegenden Angaben unzulässig, die Kammern bei den aus den Larven entstehenden Schwämmen von einem einzigen Keimblatte abzuleiten, denn sie werden bei der Larve im mütterlichen Körper nach Evans ausschließlich aus Archäocyten (Entoderm oder Mesoderm der Autoren), nach meinen Befunden dagegen aus verschiedenen Zellelementen gebildet. Wollte man also nach dem Vorgehen einiger Autoren bei Spongienlarven von bereits differenzierten Keimblättern sprechen, so wäre man zu dem sonderbaren Schluß gedrängt, daß Teile eines und desselben Organs (hier des Ernährungsorgans) einen zum wenigsten doppelten Ursprung haben (aus dem Ektoderm und Entoderm resp. Mesoderm), folglich wären die Nährkammern desselben Organismus untereinander nicht homolog. Diese Erwägungen führen wohl zu der Überzeugung, daß die Annahme gesonderter Keimblätter bei den Larven der Schwämme und ihre Homologisierung mit den Keimblättern höherer Metazoen aufgegeben werden soll, da man sich sonst bei der Ableitung der Organe öfters in Widersprüche verwickeln müßte. Deshalb schließe ich mich gern der Ansicht jener Embryologen an, die nur eine Differenzierung der Zellelemente statt einer solchen der Keimblätter bei Schwämmen annehmen und jene nur als eine Arbeitsteilung auffassen.

Bezüglich der schroffen Gegensätze und Kontroversen in der Erklärung der Kammerbildung, die bis in die allerjüngste Zeit noch nicht ausgeglichen sind, möchte ich zum Schluß betonen, daß sie hauptsächlich daher rühren, daß man den Vorgang dieser Bildung nicht in seiner Kontinuität verfolgen kann, sondern lediglich auf Kombinationen einzelner Phasen angewiesen ist, wodurch dem subjektiven Ermessen ein zu weiter Spielraum eröffnet wird.

Zusammenfassung.

1) Bei der Entwicklung der Gemmulae wird, noch vor der Ausscheidung der sog. inneren Sponginmembran, von den peripheren Zellen des Keimes eine Zellmembran gebildet, die ich bereits im J. 1886 bemerkt und als Primitivmembran beschrieben habe. Eine Nachprüfung lieferte nun den Beweis, daß sie in diesem Stadium tatsächlich erzeugt wird und in späteren, sobald nämlich die Sponginmembran an Dicke zugenommen hat, verschwindet. Die Schrumpfung der sie zusammensetzenden Zellen läßt sich Schritt für Schritt verfolgen.

2) Vor Abschluß der Entwicklung der Gemmulae werden alle Keimzellen (Archäocyten, Statocyten) doppelkernig. Die doppelten Kerne entstehen nicht durch Verschmelzung von je zwei Keimzellen, sondern durch mitotische oder amitotische Teilung der einfachen Kerne, die in einem für einzelne Arten verschiedenen Zeitpunkte stattfindet, jedoch nie vor der Ausscheidung der inneren Sponginmembran.

3) Den Ausgangspunkt der Entwicklung des Schwammes bildet somit immer der Keim mit durchgehends zweikernigen Archäocyten, die oft beobachteten drei- und mehrkernigen sind bereits das Resultat der begonnenen Entwicklung.

Die Differenzierung der Keimmasse findet schon innerhalb der Gemmula-Hülle statt und kann daselbst einen verschiedenen Grad erreichen: man findet dann öfters neben verschieden differenzierten Zellelementen auch Nadeln, Lakunen und Kammeranlagen, ja sogar fertige Kammern.

4) Der Keim wird nicht durch mechanische Faktoren aus seinen Hüllen herausgeschleudert, wie neulich wieder vermutet wird, sondern schlüpft selbständig durch den Porus partieweise aus, wobei die differenzierten Zellen voranrücken.

5) Die Oscula werden bei den aus den Gemmulis entwickelten Schwämmchen erst dann angelegt, wenn bereits recht viele Kammern, Kanäle und Hautporen sich gebildet haben. Ihre erste Anlage erscheint in Gestalt einer kuppelartigen Erhebung des einschichtigen Plattenepithels über einem Auswurfskanal, an deren Gipfel sich ein intrazellulärer Porus befindet. Die Oskularröhre wächst über dem letzteren schornsteinförmig heraus, wird anfangs nur einschichtig; später gewinnt sie gewöhnlich die Struktur der Haut.

6) Für die Annahme einiger Autoren, daß die Geißelkammern aus je einem Archäocyten durch multiple Teilung des Kernes hervorgehen, konnte ich weder bei der Entwicklung aus den Gemmulis noch bei der der Larve im mütterlichen Körper sichere Beweise finden. Dagegen ließ sich in beiden Fällen feststellen, daß die Kammern aus Gruppen von Zellen entstehen, die ihrerseits entweder durch vollständige Teilung einzelner großer Zellen gebildet werden, oder aber aus mehreren kleinen, die sich gruppenweise vereinigen. Die Kammeranlagen vergrößern sich sowohl durch mehrfache Teilungen ihrer Komponenten als auch durch Aufnahme neuer Zellen; einzelne Anlagen können miteinander verschmelzen.

Die zur Kammerbildung verwendeten Zellen entstammen nicht ausschließlich einem Keimblatte, sondern können den beiden (dem Ekto- und Ektoderm der Autoren) angehören.

7) Bei einer freischwärmenden Larve von *Eusp. lacustris* wurde eine Art Phagocytose beobachtet, die darin besteht, daß die unmittelbar unter dem Geißelepithel liegenden Zellen (Dermalelemente) die Kerne des letzteren massenhaft aufnehmen und vielleicht auch verdauen.

Literaturverzeichnis.

- Delage, Y. Sur le développement des Eponges (*Spong. fluviatilis*). Compt. Rend. Acad. Paris, T. 113. 1891.
- Evans, R. A Description of *Ephydatia blembingia*, with an Account of the Formation and Structure of the Gemmulae. Quart. Journ. Mic. Sc., Vol. 42, 1900.
- The Structure and Metamorphosis of the Larva of *Spong. lacustris*. Ebda. 1899.
- Götte, A. Untersuchungen zur Entwicklungsgeschichte von *Spong. fluviatilis*. Abh. zur Entwckl. d. Tiere. Heft 3. Hamburg und Leipzig 1886.
- Jaffè, G. Die Entwicklung von *Sp. lacustris* und *Eph. fluviatilis* aus den Gemmulae. Inaug.-Dis. 1912 u. Zool. Anz.
- Maas, O. Über die Entwicklung des Süßwasserschwammes. Zeitschr. f. wiss. Zool. 1890.
- Die Embryonal-Entwicklung u. Metamorphose der Cornacuspongien. Zool. Jhrb., Abt. f. Anat. u. Ont., Bd. 7, 1893.
- Müller, K. Versuche über die Regenerationsfähigkeit des Süßwasserschwammes. Zool. Anz., Bd. 37, 1911.
- Beobachtungen über Reduktionsvorgänge bei Spongilliden nebst Bemerkungen zu deren äußerer Morphologie u. Biologie. Ebend., Bd. 37, 1911.
- Das Regenerationsvermögen der Süßwasserschwämme. Inaug.-Dis. Marburg 1911.

- Nöldeke, B. Die Metamorphose des Süßwasserschwammes. Zool. Jhrb., Abt. f. Anat. u. Ont., Bd. 8, 1894.
- Weltner, W. Bemerkungen über d. Bau u. d. Entwicklung der Spongill. Biol. Zentrbl., Bd. 13, 1893.
- Spongillidenstudien II. 1893. Arch. f. Naturg. 59.
- Wierzejski, A. O rozwoju paków gąbek słodkowodnych europejskich. Rozpr. Ak. Um., t. XII, 1884.
- Le développement des gemmules des Eponges d'eau douce d'Europe. Arch. Slav. Biol., T. I. 1886.
- Über Abnormitäten bei Spongilliden. Zool. Anz., Bd. 39. 1912.
- Zykoff, W. Die Entwicklung der Gemmulen bei *Eph. fluviatilis*. Bull. Soc. Imp. Natur. Moscou 1892.
- Entwicklungsgeschichte von *Eph. mülleri*, Lieb. aus den Gemmulae. Biol. Zentrbl., Bd. 12. 1892.

Tafelerklärung¹⁾.

Tafel 3.

Fig. 1. Stücke eines Längsschnittes durch die Randpartie einer in Entwicklung begriffenen Gemmula, um die Bildung der Primitivmembran zu zeigen. 1a—1e ihre drei aufeinanderfolgenden Entwicklungsstadien; *z* Zylinderzellen der Hülle, *pr* Primitivmembran, *dz* Dotterzellen des Keimes. Fig. 1a gezeich. bei Z. D. O₄. 1b u. 1c bei Im. $\frac{1}{12}$ O₄.

Fig. 2. Ein herauspräpariertes Stück der Primitivmembran mitsamt den ihr anhaftenden Zylinderzellen *z* aus einer Gemmula von *E. lacustris*. Vergr. Z. D. O₄.

Fig. 3. Sieben sukzessive Stadien der mitotischen Kernteilung in den Keimzellen einer Gemmula von *E. mülleri* vor Abschluß ihrer Entwicklung. Z. Im. $\frac{1}{12}$ O₄.

Fig. 4. Einige Bilder der amitotischen Kernteilung in den Keimzellen der Gemmulae verschiedener Arten. Die vier Bilder in der letzten Reihe weisen auf einen Knospungsprozeß der Kerne hin. Z. Im. $\frac{1}{12}$ O₄.

Fig. 5. Einige Archäocyten (Statocyten) einer vollständig entwickelten Gemmula, deren Keim aus lauter doppelkernigen Archäocyten besteht, um die verschiedene gegenseitige Lage ihrer Kerne zu zeigen.

Fig. 6. Zwei- bis sechskernige Archäocyten von verschiedener Gestalt und Größe aus einer Gemmula am dritten Tage der Entwicklung zu einem Schwamme. Der Keim befand sich noch innerhalb der Hüllen. In der ersten Reihe sind verschiedene Teilungsfiguren bei den zweikernigen Archäocyten dargestellt, die drei- und vierkernigen zeichnen sich durch ihre verhältnismäßig bedeutende Größe aus, die zwei der letzten Reihe sind schon stark differenziert. Der Dotter ist nur

¹⁾ Wegen der Schwierigkeiten in der Herstellung der Tafeln während der Kriegszeit mußte sowohl die Anzahl der Figuren beschränkt als auch die Ausführung der Zeichnungen möglichst vereinfacht werden.

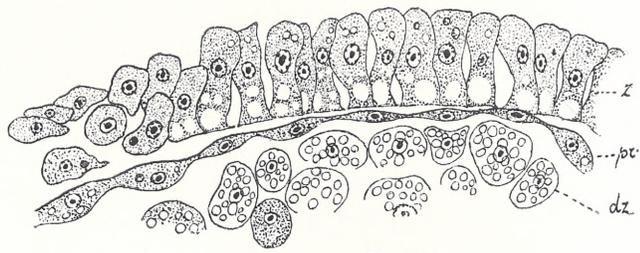


Fig. 1a.

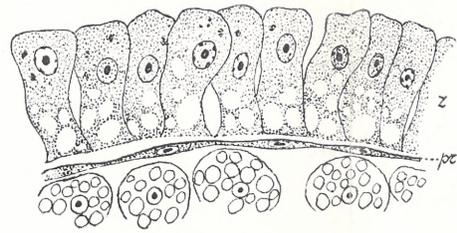


Fig. 1b.

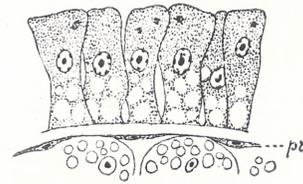


Fig. 1c.

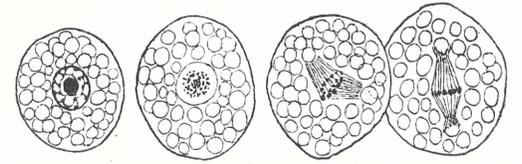


Fig. 3.

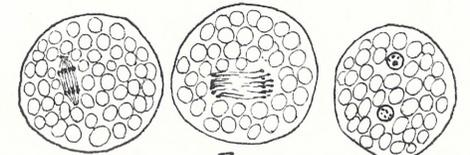


Fig. 4.

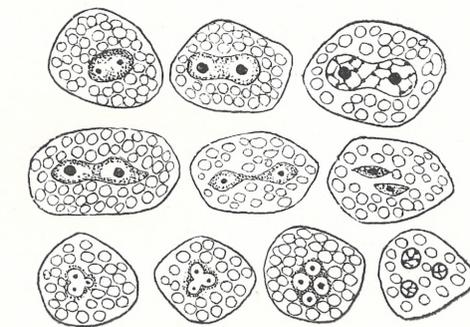


Fig. 5.

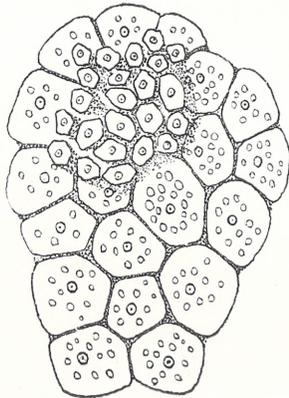


Fig. 2.

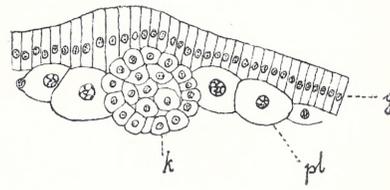
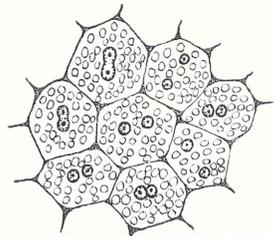


Fig. 7.

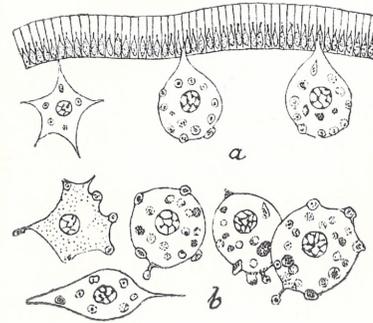


Fig. 8.

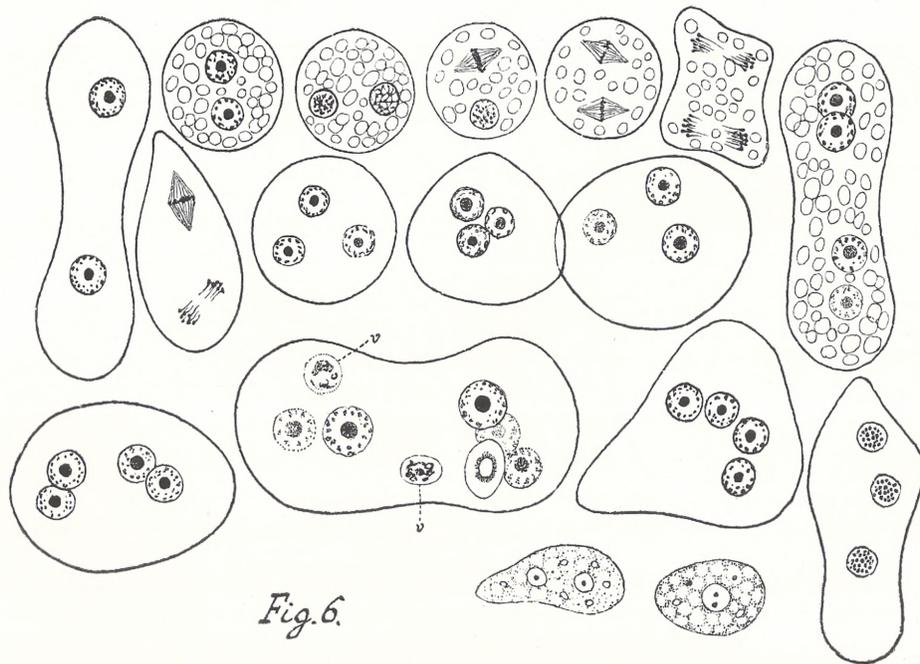


Fig. 6.

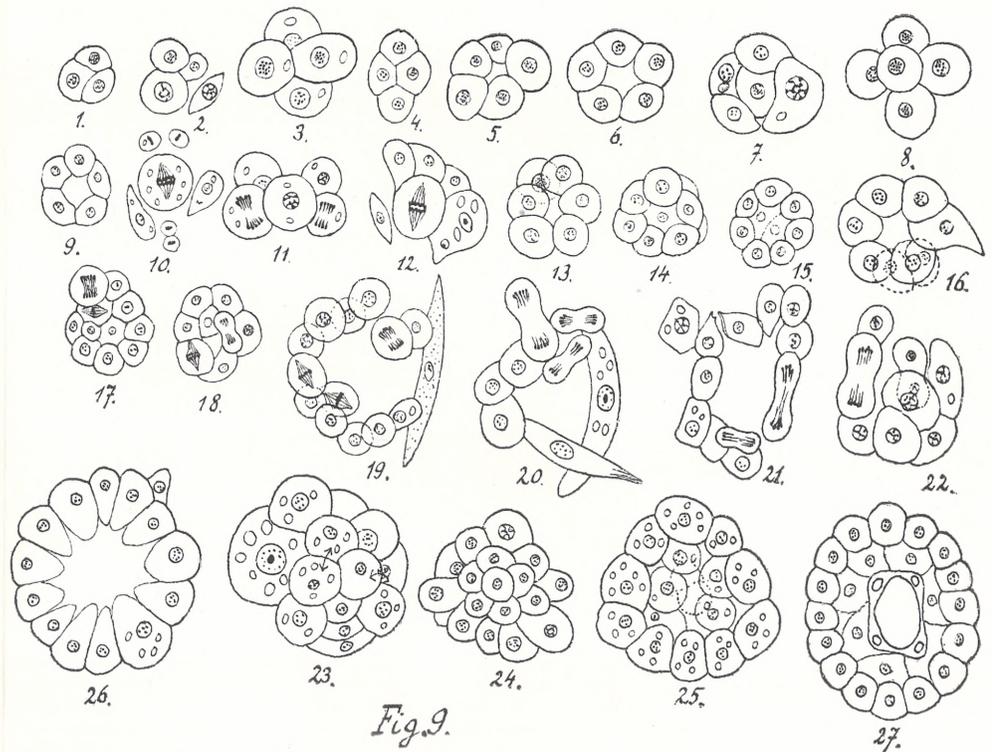


Fig. 9.

in einigen Zellen eingezeichnet, sonst weggelassen; sämtliche Bilder sind bei gleicher Vergrößerung (Z. Im. $\frac{1}{12}$ O₄) gezeichnet. *V* Vakuole.

Fig. 7. Stück eines Längsschnittes durch die Randpartie einer Larve aus dem mütterlichen Körper. *g* Geißelepithel, *pl* Plattenepithel (Dermalzellen), *k* eine aus dem Geißelepithel gebildete Kammer. Vergr. Z. Im. $\frac{1}{12}$ O₄.

Fig. 8. Randpartie einer freischwärmenden Larve von *E. lacustris*, um die Phagocytose der Dermalzellen zu zeigen, die mit Kernen des Geißelepithels mehr oder weniger stark beladen sind; daneben eine wahrscheinlich von Phagocyten gebildete Kammer *k*. Verg. Z. Im. $\frac{1}{12}$ O₄.

Fig. 9. Reihen von verschieden gestalteten Kammeranlagen, die bei der Entwicklung aus den Gemmulis und in den Larven im mütterlichen Körper vorkommen. In der untersten Reihe ist die in Nr. 23 dargestellte aus sehr ungleichen Zellen gebildet, in Nr. 26 ist die vorletzte, in Nr. 27 die letzte Entwicklungsstufe mit stark erweiterter Öffnung (Apopyle) dargestellt. Vergr. aller Figuren Z. Im. $\frac{1}{12}$ O₄.

*Studia anatomiczne nad jawańskimi mykocecydyami, II.—
Anatomische Studien über javanische Pilzgallen, II.*

Mémoire

de M. **WŁ. SZAFER**,

présenté, dans la séance du 27 Mai 1915, par M. M. Raciborski m. t.

(Planche 4).

2. Die von *Elsinoë*-Arten hervorgerufenen Pilzgallen.

Von der Pilzgattung *Elsinoë*, die zu den eigenartigsten parasitischen Ascomyceten Javas gehört, so daß neuerdings für sie eine neue Pilzfamilie aufgestellt wurde (Höhnel), war ich in der Lage, alle vier von Prof. M. Raciborski entdeckten und beschriebenen Arten zu untersuchen, was in Anbetracht der ganz verschiedenen Nährpflanzen, auf welchen *Elsinoë*-Arten leben, besonders wünschenswert erschien.

Es wurden folgende *Elsinoë*-Arten in anatomischer Hinsicht näher untersucht: *Elsinoë Canavalliae* Rac., *E. Menispermacearum* Rac., *E. viticola* Rac. und *E. Antidesmae* Rac. Makroskopisch sind diese vier Pilzarten einander ziemlich ähnlich, aber sie weisen in anatomischer Hinsicht recht beträchtliche Unterschiede auf, die sowohl durch die spezifischen Unterschiede der *Elsinoë*-Arten als auch, und zwar vielleicht in noch höherem Grade, durch die anatomische Beschaffenheit ihrer Nährpflanzen bedingt sein dürften.

Elsinoë Canavalliae Rac.

Dieser Pilz erscheint „an den Blättern, seltener Stengeln und jungen Früchten der *Canavallia gladiata* bei Buitenzorg. An der Unterseite, seltener an der Oberseite der Blätter, erscheinen, besonders längs der Nerven, aschgraue, halbkugelige, an der Oberfläche rauhe, rundliche oder zusammenfließende Pusteln und Warzen von

2—12 mm Breite, 1—3 mm Dicke, gewöhnlich sehr viele nebeneinander“¹⁾. (Vergl. Fig. 1, Taf. 4).

Der anatomische Bau einer Galle von der Unterseite des Blattes zeigte im Vergleich mit dem Bau eines normalen Blattes nicht unwesentliche Differenzen.

Das normale Blatt ist von auffallend fester Beschaffenheit und besteht, im Querschnitte betrachtet (vergl. Fig. 2, Taf. 4), aus einer ziemlich stark kutinisierten Epidermis, zwei übereinander liegenden Reihen von Palisadenparenchymzellen und einem ziemlich homogenen Schwammparenchym, das sich aus fast gleichen, beinahe isodiametrisch gestalteten Zellen aufbaut. Die Spaltöffnungen finden sich auf beiden Seiten des Blattes.

In dem ersten Stadium der Einwirkung des Pilzes auf das Blatt können wir beobachten, daß an der infizierten Stelle zuerst die Epidermis angegriffen wird; sie zerreißt, vertrocknet und fällt allmählich von dem Blatte ab. Gleichzeitig vollzieht sich eine rasche tangentielle Teilung der ersten subepidermalen Parenchymsehichte, welche sich bald in ein üppiges Neugewebe mit korkähnlich angeordneten Zellen umgestaltet. (Vergl. Fig. 2, Taf. 4). Der anfangs an der Oberfläche lebende Pilz dringt jetzt in die sich immer von den inneren Partien her regenerierende Wucherung ein; hie und da werden kleine Pilzteile von dem schnell wachsenden Neugewebe eingeschlossen, wie das uns unsere Fig. 3 (Taf. 4) *N* zeigt.

In dem Maße, wie sich die Gallenbildung über das Blatt erhebt, kann man allmählich auch andere sekundäre Veränderungen in dem Baue des Blattgewebes bemerken. Zuerst treten Veränderungen in dem Palisadenparenchym auf. Die Zellen desselben strecken sich in die Länge und unterliegen raschen Querteilungen, so daß schließlich das in dem normalen Blatte so regulär gebaute Assimilationsgewebe in eine gänzlich unregelmäßige Anhäufung von Zellen umgewandelt wird; diese ungleichmäßige Vermehrung des Palisadenparenchyms führt zur Aufwölbung der betreffenden Stellen der Blattoberfläche.

Das Schwammparenchym bleibt mit Ausnahme der ersten subepidermalen Schicht, die in ein produktives, korkähnliches Gewebe umgewandelt wird, stellenweise ganz unverändert. Von Stelle zu

¹⁾ M. Raciborski: Parasitische Algen und Pilze Javas. I. Teil, S. 14. Batavia 1900.

Stelle zeigt es aber eine auffallende Hypertrophie von einzelnen kleineren Partien, wo sich manchmal wahre Riesenzellen entwickeln, die sogar das Zehnfache ihres normalen Durchmessers erreichen. (Vergl. Fig. 3, *R*).

Es sei hier noch bemerkt, daß die Membranen des aus der ersten subepidermalen Zellschicht entstandenen korkähnlichen Wucherungsgewebes keinerlei Spur von Suberinsubstanz aufweisen, hingegen manche Zellen des Neugewebes in den älteren, ausgewachsenen Gallen verholzt erscheinen.

Elsinoë Menispermacearum Rac.

Diese *Elsinoë*-Art unterscheidet sich schon makroskopisch von den übrigen und zwar erkennt man sie an der Gestalt der 1—2 mm breiten, meist kreisrunden, warzenförmigen Gallen, die in erwachsenem Zustande in der Mitte eingedrückt erscheinen. (Vergl. Fig. 4, Taf. 4). Die Nährpflanze des Pilzes *Tinospora cordifolia*¹⁾ ist eine *Menispermacee* von charakteristischem Blattbau, den uns Fig. 5, Taf. 4 veranschaulicht. Die Epidermiszellen der Oberseite sind papillenartig ausgewölbt, das Palisadengewebe ist einschichtig, und die darunter liegenden Schwammparenchymzellen sind netzartig angeordnet.

Die Gallen entstehen meistens auf der Unterseite des Blattes; die durch den Pilz zur lebhaften Teilung angeregten Epidermiszellen liefern ein Neugewebe, das die Hauptmasse der Galle bildet (Fig. 5, Taf. 4). Das sehr dünne Pilzhymenium überzieht die Oberfläche dieses pathogenen Gewebes und tötet dessen äußere Zellschichten ab.

Wie bekannt, ist die Blattepidermis in der Regel nur in geringem Maße an der Gallenbildung beteiligt; das auffallend üppige Dickenwachstum derselben, das wir in unserem Falle besonders hervorheben müssen, ist wohl eine ziemlich seltene Erscheinung, die sich vielleicht am ehesten noch mit den Weidengallen vergleichen ließe, wie sie von der Blattwespe *Nematus gallarum* auf verschiedenen Weidenarten hervorgerufen werden.

Was das übrige Blattgewebe anbelangt, so unterliegt auch dieses einer nicht geringen Veränderung. Der sonst sehr deutliche

¹⁾ Die andere Nährpflanze dieses Pilzes, *Tinospora crispa*, stand mir nicht zur Verfügung.

Unterschied zwischen dem Palisaden- und dem Schwammparenchym verschwindet allmählich auf die Weise, daß die Palisadenzellen sich tangential teilen und sich in ihrer Form und Größe immer mehr den vergrößerten und isodiametrisch gewordenen Schwammparenchymzellen nähern, bis schließlich in der mittleren Partie der Galle alle Mesophyllzellen gleich gestaltet sind und sich fast lückenlos aneinander anreihen. (Vergl. Fig. 5, *M*). Die in der Randpartie der Galle gelegenen Schwammparenchymzellen zeigen in Vergleich mit ihren Nachbarzellen eine besonders intensive Teilungs- und Wachstumsfähigkeit, was schließlich dahin führt, daß sich die Randpartie in der Form einer ringförmigen Wucherung über die Oberfläche der Galle emporhebt. Diesem Umstande verdankt die Galle ihre makroskopisch charakteristische Form, von welcher im Eingang die Rede war.

In der Epidermis der Oberseite des Blattes, sowie in den Leitungselementen, die die Galle durchziehen, ist keine Veränderung zu bemerken.

Elsinoë viticola Rac.

„An der Unterseite, seltener an der Oberseite der Blätter, ebenso auf den Hauptnerven wie zwischen denselben, bilden sich schokoladenbraune, deutlich erhabene, flache Flecke, die unregelmäßig rundlich sind und gewöhnlich mit kleinen Lappen radiär fortwachsen“. (M. Raciborski, a. a. O., III. T., S. 4). Die Nährpflanze des Pilzes ist *Vitis serrulata* Rxb. in Buitenzorg.

Die Entstehung und der Bau dieser Galle erinnern lebhaft an die von *Elsinoë Menispermacearum*. Analog wie in jenem Falle bildet auch hier die durch den Pilz zum Dickenwachstum angeregte Epidermis das wichtigste Gallengewebe. Beachtenswert ist dabei, daß die mehrschichtige Epidermis sich aus ziemlich großen, fast isodiametrischen Zellen zusammensetzt. Die Zellwände sind ziemlich dick und braun gefärbt. Die Teilungsfähigkeit dieses Wucherungsgewebes scheint beschränkt zu sein, da bei den ganz ausgewachsenen Gallen niemals mehr als 8—15 Zellschichten in der Verdickungsschichte zu zählen sind. (Vergl. Fig. 6, Taf. 4).

Die Mesophyllzellen, die im normalen Blatt nahezu gleich gestaltet sind, unterliegen in der Galle einer geringen Hypertrophie. Die Kristalldrüsen in den Zellen sowie die Raphiden bleiben unverändert.

Nicht selten findet man an den Blättern die Gallen auf beiden Seiten derselben entwickelt. In solchen Fällen können wir ein gleiches Verhalten der beiden Blattseiten konstatieren.

Elsinoë Antidesmae Rac.

Dieser Pilz erscheint nur auf der Unterseite der Blätter von *Antidesma heterophylla* in Buitenzorg und setzt sich gewöhnlich hin „an den Hauptnerven, seltener an sekundären oder tertiären Nerven, wo er dunkelgraue, eiförmig-elliptische, am häufigsten längliche, sehr selten rundliche Warzen von 0·5—1·5 mm Breite, 1—10 mm Länge bildet“. (M. Raciborski, a. a. O., I. T. S. 15).

Die Galle ist in ihrer äußeren Form der bei *E. Canavalliae* auftretenden sehr ähnlich. Das Wucherungsgewebe entwickelt sich bei dieser Art aus den subepidermalen Parenchymschichten. Die Epidermis wird früh abgestoßen.

3. Blattgalle des Diospyros sp., hervorgerufen durch *Aecidium rhytismoides* Rac.

„Auf den Blättern entstehen kreisrunde, verdickte, harte, rußschwarze, 0·5—1·5 cm breite Polster, welche äußerlich den Stromata der *Rhytisma* ganz ähnlich sind“. (M. Raciborski, a. a. O. III. T., S. 14). (Vergl. Fig. 7, Taf. 4).

Der Pilz bildet in den jungen Stadien seiner Entwicklung auf der Oberseite der Blätter Pykniden, die sich subepidermal mitten im Palisadenparenchym entwickeln. (Vergl. Fig. 8, Taf. 4). Zugleich treten die tangentialen Teilungen in dem ziemlich homogen gestalteten Schwammparenchym auf, dessen Zellen sich jetzt in die Länge strecken und sich unterhalb der Epidermis der Unterseite zu einem Neugewebe ansammeln, das bald in korkähnlicher Weise sein Dickenwachstum fortsetzt. Die Epidermiszellen beiderseits des erkrankten Blattes bedecken sich jetzt mit immer dicker werdenden Schichten einer rußschwarzen Substanz, deren Herkunft und chemische Natur mir unbekannt ist. Der schwarze Farbstoff dürfte in die Gruppe der pflanzlichen Melanine gehören, deren Kenntnis derzeit noch sehr dürftig ist.

Bevor es im Innern der angelegten Galle zur Bildung von Aecidienperidien kommt, vollziehen sich im Mesophyll weitere, sehr interessante histologische Umwandlungsprozesse. Die immer dicker

werdende Partie der korkähnlichen Mesophyllzellen läßt jetzt auf der Unterseite des Blattes eine merkwürdige, nestartig auftretende Umwandlung ihrer tieferen Schichten in dickwandige, reich getüpfelte Steinzellen erkennen. Die Membranen derselben weisen typische Verholzung auf. (Vergl. Fig. 9, Taf. 4, *StZ*). Dieses neu aufgetretene Dauergewebe ist als ein Schutzgewebe für die in dem Mesophyll des erkrankten Blattes eingesenkten Aecidienbecher anzusehen.

Auf der Oberseite des Blattes, wo in den ersten Entwicklungsstadien der Galle die Pyknidenperidien zu sehen waren, verschwinden diese sehr bald und nahezu spurlos und es treten im Schwammparenchym wichtige Umwandlungsprozesse auf. Unter der Palisadenzellschichte, die allein anscheinend vollständig unverändert geblieben ist, entsteht ein Lager von großen, dickwandigen und verholzten Sklerenchymzellen (Fig. 9, *MZ*). Dieses sklerenchymatische Dauergewebe verstopft auch die aufgewölbten Stellen, wo sich ehemals Pykniden befanden.

Die mechanisch ungemein stark gebaute Galle des *Aecidium rhytismoides* trennt sich nach der Reife und nach dem Öffnen der Aecidienbecher ganz von der gesunden Blattspreite ab, fällt endlich ab und läßt ein rundes Loch in dem Blatte zurück.

Aus dem Botanischen Institut der Jagellonischen Universität.

Erklärung der Tafel.

Fig. 1. *Elsinoë Canavalliae* Rac.; ein Blatt von *Canavallia gladiata*. Nat. Gr.

Fig. 2. Querschnitt durch eine junge Galle der *Elsinoë Canavalliae*; rechts normaler Blattbau, links die ersten Stadien der Gallenbildung. *E*: Epidermis, *GB*: Gefäßbündel, *P*: Palisadenparenchym, *S*: Schwammparenchym, *X*: eine frisch geteilte erste subepidermal gelegene Mesophyllzelle. Vergr. 4/A. Z.

Fig. 3. Querschnitt durch die mittlere Partie der ausgewachsenen Galle von *Elsinoë Canavalliae*; *H*: Pilzhymenium, *A*: Pilzschläuche, *N*: ein vernarbter Teil des vom Pilze zerstörten Gewebes (Näheres darüber im Texte), *R*: stark hypertrophisch gestaltete Mesophyllzellen, *P*: mehrschichtig gewordenes Palisadenparenchym. Vergr. 4/A. Z.

Fig. 4. *Elsinoë Menispermacearum* Rac.; ein Blatt von *Tinospora cordifolia*. Nat. Gr.

Fig. 5. Querschnitt durch die Randpartie der Galle von *Elsinoë Menispermacearum* Rac. Die Bedeutung der Buchstaben wie in Fig. 2. Vergr. 4/A. Z.

Fig. 6. Querschnitt durch die Randpartie der Galle von *Elsinoë viticola* Rac.;
K: eine Zelle mit Kristalldruse. Vergr. 4/A. Z.

Fig. 7. *Aecidium rhytismoides* Rac.; ein Blatt von *Diospyros* sp. Nat. Gr.

Fig. 8. Ein junges Stadium der Gallenbildung durch *Aecidium rhytismoides*;
Oe: Öffnung eines Pyknidenbeckers. Vergr. 4/C. Z.

Fig. 9. Querschnitt durch die mittlere Partie einer ausgewachsenen Galle von *Aecidium rhytismoides*; *Ae*: Aecidiosporen, *StZ*: verholzte Steinzellen, *MZ*: verholzte Sklerenchymzellen, *Pd*: Öffnung eines ehemaligen Pyknidenbeckers. Vergr. 4/A. Z.

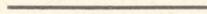




Fig. 1.

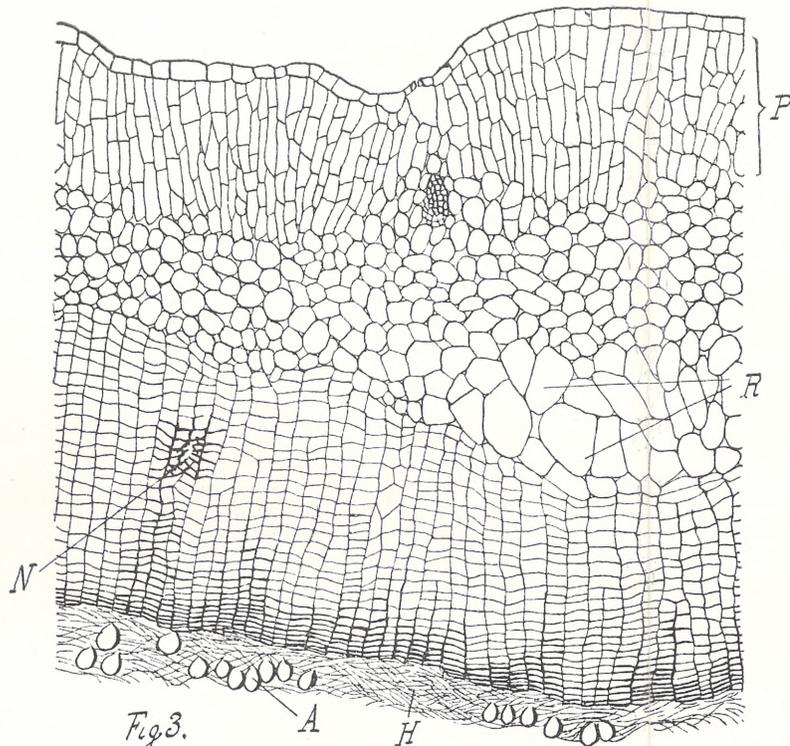


Fig. 3.

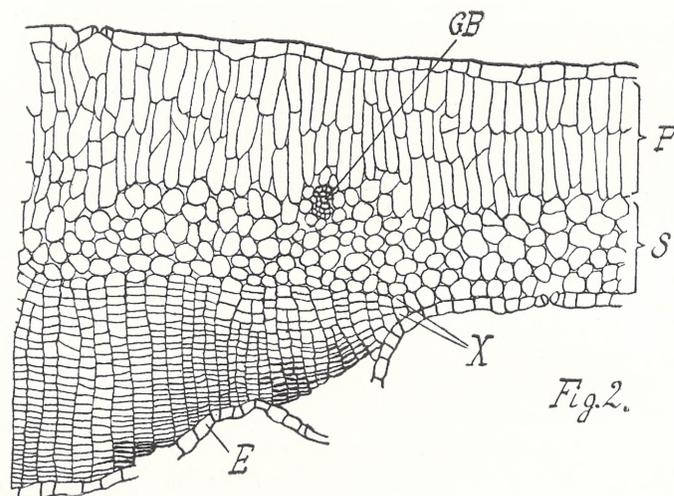


Fig. 2.

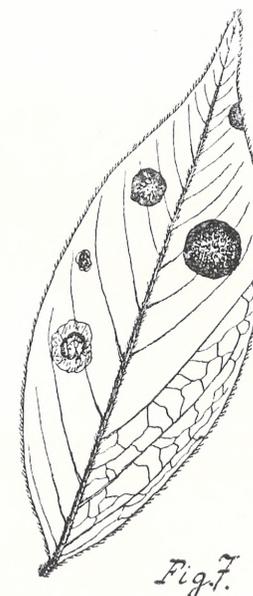
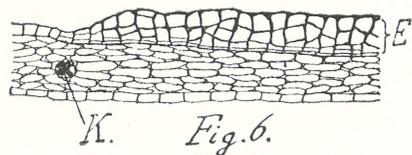


Fig. 7.



K. Fig. 6.

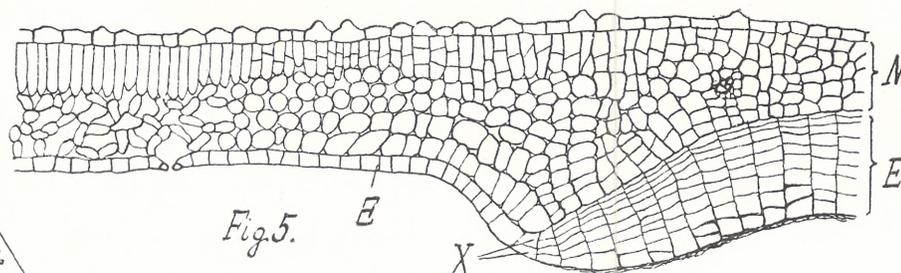


Fig. 5.

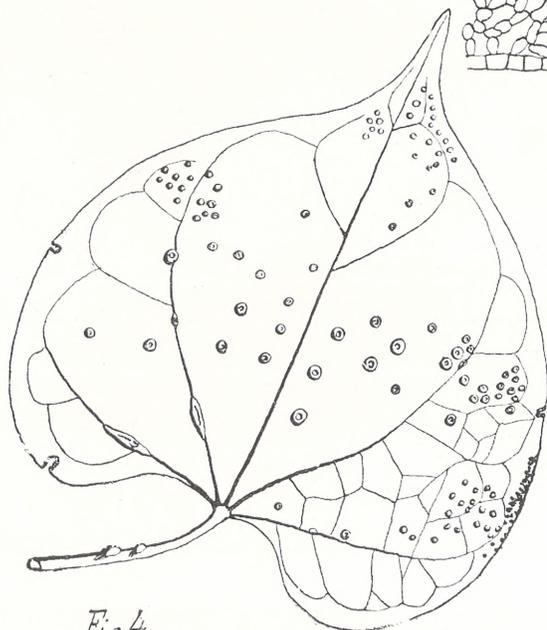


Fig. 4.

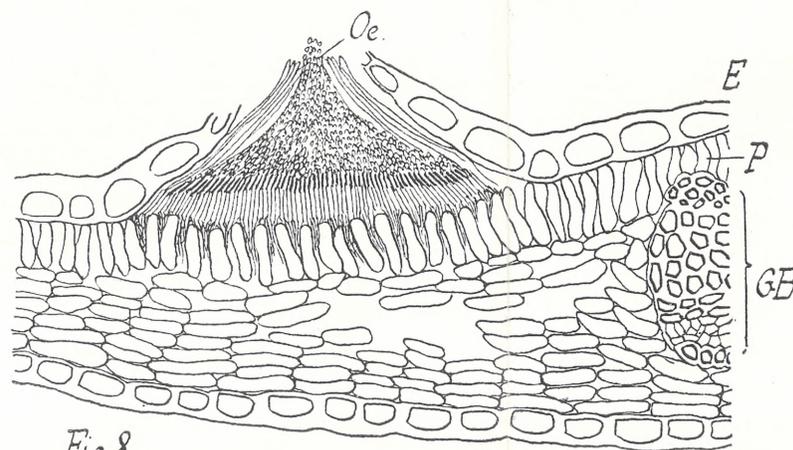


Fig. 8.

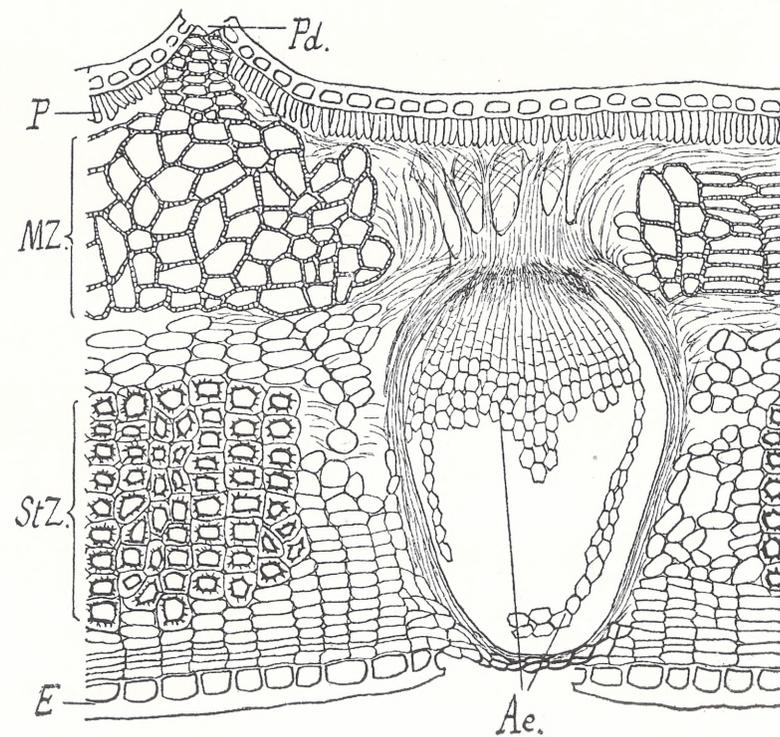


Fig. 9.

*Przyczynki do chemii biologicznej fosforu. — Beiträge zur
Biochemie des Phosphors.*

Mémoire

de M. F. **ROGOZIŃSKI**,

présenté, dans la séance du 27 Mai 1915, par M. E. Godlewski père, m. t.

I. Verteilung der Phosphorsäure in einigen Pflanzenstoffen.

Die Frage nach der Natur von phosphorhaltigen, im Pflanzenmaterial auftretenden Verbindungen wurde bekanntlich im Laufe der Zeit sehr verschieden beantwortet. Schon seit längerer Zeit unterscheidet man besonders in Pflanzensamen zwei Gruppen von phosphorsäurehaltigen Stoffen: solche, die bei Behandlung mit verdünnten Säuren ungelöst bleiben, wie die phosphorsäurehaltigen Eiweißstoffe und das Lecithin, oder richtiger gesagt, die pflanzlichen Phosphatide, ferner Stoffe, die bei Behandlung mit verdünnter Säure in Lösung gehen, und von denen man lange Zeit hindurch annahm, daß sie ausschließlich aus anorganischen Phosphaten bestehen, daß also ein beträchtlicher Teil der gesamten Phosphorsäure im Pflanzenmaterial in anorganischer Form vorhanden sei. Ein neues Licht wurde auf die Frage nach dem Vorkommen von Phosphaten in Pflanzenstoffen geworfen, als dank den Untersuchungen von Palladin (1), Winterstein (2), Posternak (3) die konstante Gegenwart einer organischen Phosphorverbindung, der Phytinsäure, in sauren Pflanzenauszügen festgestellt wurde. Man durfte somit nicht länger die gesamte in verdünnten Säuren lösliche Phosphorsäure als anorganische Phosphorsäure betrachten, es mußte vielmehr in jedem Falle das Verhältnis zwischen löslicher anorganischer und löslicher organischer Phosphorsäure bestimmt werden.

Hart und Andrews (4) ließen sich in ihren diesbezüglichen Untersuchungen von dem Gedanken leiten, daß die früher in Pflanzenstoffen gefundenen Phosphate überhaupt ein Laborationsprodukt seien und erst während der Analyse selbst infolge der Abspaltung von Phosphorsäure aus organischen Verbindungen entstünden. Nachdem sie die übliche Molybdän-Methode insofern modifiziert hatten, daß keine Berührung zwischen phosphorhaltigen organischen Substanzen und der Salpetersäure, deren spaltende Wirkung sie befürchteten, stattfand, und als sie ihre Fällungen in fast neutraler Lösung mit neutraler Ammoniummolybdatlösung vornahmen, gelangten sie in der Tat zu der Überzeugung, daß die untersuchten Pflanzenstoffe keine nennenswerte Menge von anorganischen Phosphaten enthielten. Zu gleichem Ergebnis kamen bald darauf Schulze und Castoro (5), indem sie, um die vermeintliche spaltende Wirkung der Salpetersäure gänzlich zu umgehen, die anorganische Phosphorsäure in saurem Pflanzenauszug nach Alkalisieren mit Ammoniak durch Kalziumchlorid fällten, den erhaltenen Niederschlag in Ammoniumzitrat lösten und die Phosphorsäure in der Lösung mit Magnesiamischung fällten. Bei Anwendung dieses Verfahrens fanden die genannten Autoren in der überwiegenden Mehrzahl der darauf untersuchten Pflanzensamen überhaupt keine anorganische Phosphorsäure. Trotzdem entsprechen sowohl die Resultate von Hart und Andrews wie auch die von Schulze und Castoro erhaltenen, wie weitere Untersuchungen dargetan haben, der Wirklichkeit nicht. Es enthalten vielmehr alle Pflanzensamen anorganische Phosphate, wie dies zuerst in einwandfreier Weise Iwanow (6) bewiesen hat. Die von Iwanow in Anwendung gebrachten Methoden wurden sodann von Vorbrodt (7) einer sorgfältigen kritischen Prüfung unterworfen. Dank den Untersuchungen der beiden letztgenannten Forscher besitzen wir jetzt zuverlässige Mittel, um anorganische Phosphate neben Phytinsäure zu bestimmen.

In der vorliegenden Arbeit habe ich es mir zur Aufgabe gemacht, unter Anwendung der genannten Methoden die Verteilung der Phosphorsäure in einer Reihe von Mahl- und Preßprodukten pflanzlichen Ursprungs zu bestimmen. Von den ursprünglichen Pflanzensamen, woraus sie gewonnen werden, unterscheiden sich diese Stoffe vor allem durch einen Mindergehalt an Stärkemehl bzw. Fett, also an phosphorsäurearmen Stoffen; sie bilden ja den

Abfall bei der technischen Mehl- und Ölgewinnung. Die phosphorhaltigen Stoffe der Pflanzensamen erscheinen somit in diesen Produkten gleichsam angehäuft, und diese Mahl- und Preßprodukte eignen sich besonders zur Darstellung einzelner Phosphorsäureverbindungen; im besonderen hoffte ich, das geeignetste Ausgangsmaterial zur Darstellung von Phytinsäure darunter ausfindig zu machen. Außer der Bedeutung, welche diese Stoffe als Quelle organischer Phosphorsäureverbindungen besitzen, beanspruchen sie auch in hohem Maße Interesse vom tierphysiologischen Standpunkt, da sie nämlich die am meisten verbreiteten tierischen Kraftfuttermittel darstellen. Obgleich nun die Frage nach der physiologischen Wirkung einzelner Phosphorsäureverbindungen noch viel Unklares bietet, so kann doch ihre Natur und ihr gegenseitiges Verhältnis für den tierischen Organismus sicher nicht ohne Belang sein.

Bevor nun in weiteren Untersuchungen versucht werden soll, etwas Licht in die Frage über die Bedeutung einzelner Phosphorsäureverbindungen für den tierischen Organismus zu bringen, wollte ich mir zunächst eine ungefähre Orientierung über deren Verteilung in einzelnen Futtermitteln verschaffen. Die bisherigen Untersuchungen über die Verteilung der Phosphorsäure in Pflanzensamen und deren Abfällen haben zu sehr schwankenden Ergebnissen geführt, was wohl vor allem auf Mangelhaftigkeit der angewandten analytischen Methoden beruht, wenn auch bedeutende tatsächliche Schwankungen sicher vorkommen. Insbesondere scheint die chemische Zusammensetzung des Bodens sowohl für den Gehalt der Samen an Gesamtphosphorsäure wie an einzelnen Phosphorverbindungen von ausschlaggebender Bedeutung zu sein. Einige Beispiele, die ich der Zusammenstellung von Rose (8) entnehme, mögen die bedeutenden Schwankungen zwischen den Ergebnissen verschiedener Forscher illustrieren. Die Zahlen bedeuten den Phosphor der Phytinsäure in Prozenten des Gesamtphosphors:

Erbsen: 70·8; gelbe Erbsen: 19·0.

Hanfsamen: 91·4; 15·0.

Roggen: 90·3; 28·9.

Raps: 80·0; 44·5; 38·0.

Linse: 82·6; 9·3.

Weizenkleie: 84·0; 52·0.

Es ist kaum anzunehmen, daß diese Unterschiede tatsächlichen Verhältnissen entsprechen könnten. Im folgenden soll versucht werden, durch systematische Untersuchung einer Anzahl von Proben unter Anwendung einer einheitlichen, zuverlässigen Methode wenigstens untereinander vergleichbare Resultate zu erzielen.

Untersuchungsmethoden.

Ich habe mich auf die Bestimmung der unlöslichen, der im Phytin enthaltenen und der anorganischen Phosphorsäure beschränkt. Unter der erstgenannten sollen phosphorhaltige Eiweißkörper und Phosphatide, unter Phytinphosphorsäure alle in verdünnter Säure löslichen organischen Phosphorsäureverbindungen verstanden werden.

Die Untersuchung wurde in folgender Weise ausgeführt: 10 g der lufttrockenen, feingemahlten Substanz wurden bei Zimmertemperatur mit 250 ccm 1%-iger Essigsäure in einem verschlossenen Kolben unter häufigem Umschütteln extrahiert. Nach 3 Stunden filtrierte man ungefähr 200 ccm des Auszugs durch ein Faltenfilter. Beim Erwärmen gaben die Auszüge entweder keinen Eiweißniederschlag oder nur in Form einer diffusen Trübung; es wurde deshalb von deren Erwärmen überhaupt abgesehen. Dem Filtrat entnahm man je zwei Proben zu 50 ccm zur Bestimmung von anorganischer Phosphorsäure und je zwei Proben zu 25 ccm zur Bestimmung der gesamten löslichen Phosphorsäure. Die Proben, in denen anorganische Phosphorsäure bestimmt werden sollte, wurden mit Salpetersäure angesäuert, bis zum Blasenwerfen erwärmt und mit 50 ccm gewöhnlichem Molybdän-Reagens gefällt. Nach 24 Stunden wurde filtriert, der Niederschlag mit 1%-iger Salpetersäure durch Dekantation ausgewaschen, in verdünntem Ammoniak gelöst, mit Magnesiamischung gefällt. Am nächsten Tage wurde der Niederschlag abfiltriert, mit Ammoniak ausgewaschen, auf dem Filter in kochender 1%-iger Salpetersäure gelöst, in der sauren Lösung die Phosphorsäure nach Neubauer-Lorenz gefällt. Die Bestimmung der Phosphorsäure geschah stets durch Wägung des Ammonium-Phosphor-Molybdats im Neubauer'schen Tiegel nach Neubauer und Lückner (9). Ich halte diese Bestimmung von anorganischer Phosphorsäure unter dreifacher Fällung für bequemer als das Verfahren der zweifachen Fällung; wonach der Auszug direkt mit Ammoniak und Magnesiamischung gefällt wird, da die

ammoniakalische Lösung zuweilen schlecht filtriert. In einigen Fällen übrigens, wo ich Parallelbestimmungen unter dreifacher und zweifacher Fällung ausgeführt habe, war die Übereinstimmung gut. Es wurde z. B. gefunden: in Malzkeimen, auf 10 g Substanz berechnet (jede Zahl bildet das Mittel aus zwei Bestimmungen):

bei dreifacher Fällung — 0·0817 g anorganische Phosphorsäure,
 bei zweifacher Fällung — 0·0821 g " "

Zur Bestimmung der gesamten löslichen Phosphorsäure wurden die Proben in Kjeldahl-Kolben gebracht, im Glycerinbade zur Trockne eingedampft und der Rückstand nach der Methode von Neumann (10) verbrannt, worauf eine Bestimmung der Phosphorsäure nach Neubauer-Lorenz folgte. Ebenso wurde die Gesamt-Phosphorsäure in zwei Proben der ursprünglichen Substanz nach Neumann und Neubauer-Lorenz bestimmt. Sämtliche weiter unten angeführten Zahlen bilden somit das Mittel aus je zwei gut übereinstimmenden Bestimmungen. Die unlösliche Phosphorsäure wurde als Differenz zwischen der gesamten und der löslichen Phosphorsäure, die Phytin-Phosphorsäure als Differenz zwischen der löslichen und der anorganischen Phosphorsäure bestimmt.

Um die Zuverlässigkeit der angewandten Methode zu prüfen, habe ich in einem Versuch mit Weizenkleie die Gesamt-, die Lezithin-, die lösliche Phosphorsäure in 200 ccm Auszug, sowie die Phosphorsäure in ausgelaugter Kleie + 50 ccm Auszug direkt bestimmt. Es wurden dabei folgende Zahlen erhalten:

Lezithinphosphorsäure	= 0·0027 g
Phosphorsäure in 200 cmm Auszug	= 0·2242 "
" im Rückstand (ausgelaugte Kleie + 50 ccm	
Auszug)	= 0·1202 "
	Zusammen = 0·3471 g

Die direkte Bestimmung ergab als Mittel in 10 g: 0·3495 g Gesamtphosphorsäure. Die Übereinstimmung ist hiernach als genügend zu betrachten.

Die Resultate der Untersuchung sind in folgender Tabelle zusammengestellt, wobei sich sämtliche Zahlen auf 10 g lufttrockene Substanz beziehen:

TABELLE I.

Nummer	Ausgangsmaterial	Gesamt- P ₂ O ₅ in %	Unlösliche P ₂ O ₅ in %	Phytin- P ₂ O ₅ in g	Anorgani- sche P ₂ O ₅ in g
1	Gerstenschrot	0.0958	0.0510	0.0270	0.0178
2	Malzkeime	0.1510	0.0526	0.0167	0.0817
3	Weizenkleie	0.3495	0.0693	0.2304	0.0498
4	Weizenkleie	0.2282	0.0745	0.1108	0.0429
5	Weizenkleie (grob)	0.3435	0.0549	0.2144	0.0742
6	Weizenfuttermehl	0.2287	0.0572	0.1042	0.0673
7	Roggenkleie	0.1978	0.0507	0.0513	0.0958
8	Reisfuttermehl	0.3949	0.0635	0.2526	0.0788
9	Maisfutter	0.0165	0.0102	—	0.0063
10	Baumwolsaatmehl	0.3233	0.2064	0.0602	0.0567
11	Erdnußkuchen	0.1154	0.0951	0.0039	0.0164
12	Kokoskuchen	0.1297	0.0705	0.0117	0.0475
13	Sonnenblumensaatkuchen	0.1963	0.1195	0.0642	0.0126
14	Leinsamenkuchen	0.2303	0.1173	0.0796	0.0334
15	Sesamkuchen	0.2830	0.1748	0.0822	0.0260
16	Palmkernkuchen	0.1407	0.0948	0.0368	0.0091
17	Rapskuchen	0.2173	0.1099	0.0898	0.0176

Diese Zusammenstellung wird übersichtlicher, wenn wir die verschiedenen Formen von Phosphorsäure in Prozenten der Gesamtphosphorsäure umrechnen. (Siehe Tab. II S. 93).

Ogleich nun die vorstehenden Zahlen nur einen Beitrag zur Frage über die Verteilung der Phosphorsäure in den untersuchten Substanzen geben können, da bei den großen Schwankungen in der Zusammensetzung von Pflanzensamen eine viel größere Anzahl von Untersuchungen zur Aufstellung von brauchbaren Mittelwerten notwendig wäre, so lassen sich doch schon daran einige Betrachtungen knüpfen. Man kann unter den untersuchten Stoffen zwei natürliche Gruppen unterscheiden: erstens die Abfälle von Cerealien-samen (N. 2—9), zweitens die Abfälle von fettführenden Samen und Früchten (N. 10—17). Während nun in den ersteren die unlösliche Phosphorsäure nur 16—35% der gesamten Phosphorsäure bildet,

TABELLE II.

Nummer	Ausgangsmaterial	Unlösliche P_2O_5	Phytin- P_2O_5	Anorgani- sche P_2O_5
1	Gerstenschrot	53·24	28·18	18·58
2	Malzkeime	34·83	11·06	54·11
3	Weizenkleie	19·83	65·92	14·25
4	Weizenkleie	32·65	48·55	18·80
5	Weizenkleie (grob)	15·98	62·42	21·60
6	Weizenfuttermehl	25·01	45·56	29·43
7	Roggenkleie	25·63	25·94	48·43
8	Reisfuttermehl	16·08	63·96	19·96
9	Maisfutter	61·82	—	38·18
10	Baumwollsaatmehl	63·84	18·62	17·54
11	Erdnußkuchen	82·41	3·38	14·21
12	Kokoskuchen	54·36	9·02	36·62
13	Sonnenblumensaatkuchen . .	60·87	32·71	6·42
14	Leinsamenkuchen	50·93	34·56	14·51
15	Sesamkuchen	61·77	29·05	9·18
16	Palmkernkuchen	67·38	26·16	6·46
17	Rapskuchen	50·58	41·33	8·09

beträgt ihre Menge in den Rückständen der ölführenden Samen 50—82%. Die einzige Ausnahme in der ersten Gruppe macht das Maisfutter mit 61·82% unlöslicher Phosphorsäure. Es stammte aus einer Syrupfabrik in Südrußland und bildete offenbar den Rückstand von der Verarbeitung von Endospermen, nach vorheriger Trennung von Maiskeimen. Die Verteilung der Phosphorsäure in dieser Substanz bildet einen neuen Beweis dafür, daß die Hauptmenge der löslichen Phosphorsäure, darunter die ganze Phytinphosphorsäure in den Keimen des Maissamens konzentriert ist. Weiter illustriert der Vergleich zwischen Gerstenschrot und Malzkeimen deutlich die Mobilisierung von P_2O_5 in jungen Keimlingen: die anorganischen Phosphate nehmen in letzteren stark auf Kosten der Eiweißkörper- und der Phytinphosphorsäure zu.

Der Vergleich zwischen den Weizenabfällen (N. 3—6) wirft

einiges Licht auf die Lokalisation verschiedener Formen von Phosphorsäure im Weizenkorn. Die Proben N. 3 und 5 bestanden aus grober, gut ausgemahlener, mehlarmer Kleie; dagegen waren die Proben N. 4 und 6 wenig ausgemahlen und mehltreich. Wie ersichtlich, nimmt sowohl der Gehalt an gesamter, wie speziell an Phytinphosphorsäure mit der Feinheit des Mahlproduktes deutlich ab. Die Phytinsäure ist offenbar in den äußeren Teilen des Weizenkorns angehäuft. Roggenkleie ist im Vergleich mit Weizenkleie verhältnismäßig arm an Phytinsäure, dagegen reich an anorganischen Phosphaten, was den Unterschieden in der Zusammensetzung der Körner durchaus entspricht. Als Ausgangsmaterial zur Darstellung von Phytinsäure kommen unter allen untersuchten Abfällen von Cerealiensamen nur Weizenkleie und Reisfuttermehl in Betracht.

Bei den Rückständen ölführender Samen verdient der zuweilen sehr geringe Gehalt an anorganischen Phosphaten hervorgehoben zu werden. Auffallend ist der Unterschied zwischen den so nahe verwandten Kokos- und Palmkernrückständen: während erstere verhältnismäßig viel Phytin und wenig Phosphate enthalten, ist bei letzteren gerade das Gegenteil der Fall. Zur Darstellung von Phytin eignen sich am meisten Rapsrückstände. Die nähere Untersuchung von Samen der verwandten *Sinapis* hat ja eben seinerzeit zur Entdeckung des Phytins geführt.

II. Natur der anorganischen Phosphate im Weizenkorn.

Näheres über die Natur der in Pflanzensamen vorkommenden Phosphate war bis jetzt nicht bekannt. Man nahm gewöhnlich an, daß dieselben ein Gemisch von Kalzium-, Magnesium- und Kaliumphosphaten bilden. Diese Ansicht finden wir in allen Lehrbüchern der Pflanzenphysiologie und Pflanzenbiochemie vertreten, und es sollen die Pflanzensamen Phosphate der drei erwähnten Metalle enthalten.

Es ist mir gelungen, wie ich hoffe, in einwandfreier Weise den Beweis zu führen, daß wenigstens im Weizenkorn die Verhältnisse wesentlich anders sind. Bei Gelegenheit einer näheren Untersuchung der Phosphorsäureverbindungen der Weizenkleie habe ich versucht, wässrige Auszüge der Kleie darzustellen, da ich hoffte, wenigstens einen Teil der störenden anorganischen Phosphorsäure, nämlich die in Form von Kaliumphosphaten vorhandene, auf

diese Weise zu entfernen. Indem ich nun den Gehalt an anorganischer Phosphorsäure in den wässerigen Auszügen mit dem Gehalt an derselben in den gewöhnlichen essigsauren Auszügen verglich, zeigte es sich, daß sämtliche anorganische Phosphorsäure in den wässerigen Auszug überging. Der folgende Versuch mag es illustrieren.

Versuch I.

Je 20 g Weizenkleie wurden mit 200 ccm destilliertem Wasser bzw. 1%-iger Essigsäure 30 Minuten lang ausgezogen. Die Extraktion erfolgte unter fortwährender mechanischer Rührung (Turbine-Rührer). Nun filtrierte ich die Auszüge und bestimmte in Proben von je 25 ccm des Filtrats die anorganische Phosphorsäure. Die Bestimmung geschah nach der Methode der dreifachen Fällung (Molybdän-Reagens, Magnesiamischung, Molybdän-Reagens nach Neubauer-Lorenz).

Es wurde auf 10 g der angewandten Kleie gefunden:

	Wässeriger Auszug	Essigsaurer Auszug
Anorganische Phosphorsäure:	0·04188 g	0·03724 g.

In einigen anderen Versuchen, die nach der Methode der zweifachen Fällung (direktes Fällen des Auszugs mit Magnesiamischung, sodann Fällen mit Molybdän-Reagens nach Neubauer-Lorenz) ausgeführt wurden, erhielt ich folgende Resultate, auf 10 g Kleie berechnet:

	Anorganische Phosphorsäure in g		
	I	II	III
Wässeriger Auszug	0·04144	0·03809	0·04383
Essigsaurer Auszug	0·03572	0·03304	0·03625

Wie ersichtlich, weisen die wässerigen Auszüge sogar einen Mehrgehalt an anorganischer Phosphorsäure den essigsauren gegenüber auf. Man könnte vermuten, daß wasserlösliche, phosphorhaltige Eiweißkörper in den wässerigen Auszug übergehen, bei der Bestimmung von anorganischer Phosphorsäure unter Einwirkung heißer Salpetersäure ihre Phosphorsäure abspalten und auf diese Weise jenen Mehrgehalt an derselben im wässerigen Auszuge verursachen. Um die Richtigkeit dieser Vermutung zu prüfen,

habe ich im folgenden Versuch das Verfahren entsprechend abgeändert.

Versuch II.

10 g Weizenkleie wurden mit 250 ccm 1%-iger Essigsäure 30 Minuten lang unter Rühren ausgezogen. In zwei Proben zu je 50 ccm des filtrierten Auszugs wurde anorganische Phosphorsäure unter dreifacher Fällung bestimmt. Der Gehalt an anorganischer Phosphorsäure in 50 ccm war:

$$\left. \begin{array}{l} 0\cdot006702 \\ 0\cdot006702 \end{array} \right\} 0\cdot006702 \text{ g,}$$

somit im ganzen Auszug, auf je 10 g Kleie, 0·03361 g anorganische Phosphorsäure. Weitere 10 g Kleie wurden nunmehr mit 250 ccm destilliertem Wasser in gleicher Weise ausgezogen; von dem filtrierten Auszug wurden 100 ccm in einen Meßkolben von 150 ccm gebracht, etwa 40 ccm Wasser hinzugefügt, sodann mit 1·5 ccm konzentrierter Essigsäure versetzt und mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt. Den Eiweißniederschlag ließ man etwas absetzen und filtrierte sodann etwa 100 ccm ab. In zwei Proben zu je 50 ccm des klaren Filtrats wurde die anorganische Phosphorsäure nach der Methode der dreifachen Fällung bestimmt. Es wurden in 50 ccm

$$\left. \begin{array}{l} 0\cdot005305 \\ 0\cdot005318 \end{array} \right\} 0\cdot005312 \text{ g}$$

Phosphorsäure gefunden; 50 ccm des ursprünglichen Auszuges entsprechen danach 0·007968 g anorganischer Phosphorsäure. Auf 10 g Weizenkleie berechnet, ergibt sich also eine Menge von 0·03984 g Phosphorsäure, während die Untersuchung des essigsaurigen Auszuges 0·03361 g Phosphorsäure ergab.

Der Mehrgehalt an anorganischer Phosphorsäure in wässerigen Auszügen ist somit, wie es scheint, nicht durch Abspaltung von Phosphorsäure aus wasserlöslichen Eiweißkörpern verursacht. Der Grund dürfte wohl ein anderer sein; die Untersuchung des Zusammenhangs will ich mir für später vorbehalten.

Es wurde schließlich wässriger und essigsaurer Auszug aus Weizenkörnern in genau gleicher Weise, wie zuletzt beschrieben, untersucht, und zwar mit folgendem Ergebnis.

Versuch III.

10 g feingemahlene Weizenkörner wurden mit 250 ccm 1%-iger Essigsäure ausgezogen. Die Bestimmung der anorganischen Phosphorsäure in zwei Proben von je 50 ccm des Auszugs ergab:

$$\left. \begin{array}{l} 0\cdot001417 \\ 0\cdot001404 \end{array} \right\} 0\cdot0014105 \text{ g,}$$

somit im ganzen Auszug, bezw. in 10 g Weizenkörnern 0\cdot0070525 g Phosphorsäure.

10 g Weizenkörner wurden sodann mit 250 ccm Wasser ausgezogen, 100 ccm des Auszugs mit 1\cdot5 ccm Eisessig gefällt und auf 150 ccm aufgefüllt. In zwei Proben des enteweißten Filtrats zu je 50 ccm wurde die anorganische Phosphorsäure bestimmt.

Ihr Gehalt betrug:

$$\left. \begin{array}{l} 0\cdot0009688 \\ 0\cdot0010020 \end{array} \right\} 0\cdot0009854 \text{ g.}$$

In 50 ccm des ursprünglichen Auszugs waren somit 0\cdot0014781 g, in 10 g Weizenkörnern 0\cdot0073905 g anorganische Phosphorsäure enthalten.

Dies Ergebnis stimmt somit mit den bei der Untersuchung von Weizenkleie gefundenen Zahlen überein.

Die qualitative Untersuchung der Basen der wässerigen Auszüge zeigte, daß sie verhältnismäßig reich an Kalium sind, dagegen kaum Spuren von Kalzium und Magnesium enthalten.

Durch die vorliegenden Versuche glaube ich bewiesen zu haben, daß sämtliche anorganische Phosphorsäure des Weizenkorns, soweit wir sie bei dem jetzigen Stande der analytischen Methoden bestimmen können, in wasserlöslicher Form, und zwar höchstwahrscheinlich als Kaliumphosphate vorhanden ist.

Einige Beobachtungen legen die Vermutung nahe, daß wir es hier keineswegs mit einem Ausnahmefall zu tun haben, sondern daß die gleichen Verhältnisse vielmehr auch für manche anderen Samen gelten.

Ich habe die Absicht — sofern es mir die äußeren Umstände gestatten — diese Untersuchungen nach zwei Richtungen weiterzuführen: erstens soll festgestellt werden, ob auch in anderen Pflanzensamen sämtliche anorganische Phosphorsäure in wasserlöslicher

Form enthalten ist; zweitens sollen die quantitativen Beziehungen zwischen Phosphorsäure und Kalium in wässerigen Auszügen aus Pflanzensamen untersucht werden.

Erst wenn wir Klarheit über diese Punkte gewonnen haben, wird es möglich sein, die physiologische Bedeutung der festgestellten Tatsachen eingehender zu würdigen.

Nach Beendigung meiner Versuche habe ich erfahren, daß bereits Hart und Andrews (4) den Gehalt an anorganischer Phosphorsäure in wässerigen Auszügen aus einigen Pflanzenstoffen untersucht hatten. Die Versuche der genannten Verfasser sind nach einer Methode ausgeführt worden, die, wie es sich später herausstellte, keine genaue Bestimmung der anorganischen Phosphorsäure gestattet. Es ist trotzdem nicht ohne Interesse zu erfahren, daß die Verfasser im wässerigen Auszug aus Weizenkleie mehr anorganische Phosphorsäure als im essigsäuren Auszug gefunden haben (0.143 gegen 0.055); im Weizenkorn war freilich das Ergebnis entgegengesetzt (0.028 im wässerigen, 0.040 im essigsäuren Auszuge).

Die vorliegende Untersuchung, die einen durchaus vorläufigen Charakter trägt, soll als Ausgangspunkt für weitere Forschungen über phosphorhaltige Pflanzenstoffe dienen. Sie wurde im Institut für Tierzucht an der Jagellonischen Universität ausgeführt. Dem Leiter desselben, Herrn Prof. Dr. V. v. Klecki, bin ich für die gütige Überlassung der Hilfsmittel des Institutes zu aufrichtigem Dank verpflichtet.

Literatur.

- 1) Palladin. Zeitschr. f. Biol., Bd. 31, S. 191, 1894.
 - 2) Winterstein. Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. 30, S. 2299, 1897.
 - 3) Posternak. Révue génér. de botan., Bd. 12, S. 5, 1900.
— Comptes rendus de l'Ac. d. Sc., Bd. 137, S. 202, 1903.
 - 4) Hart und Andrews. Amer. chem. Journ., Bd. 30, S. 470, 1903.
 - 5) Schulze und Castoro. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 41, S. 478, 1904.
 - 6) Iwanow. О превращеніяхъ фосфора въ растеніи, 1905.
 - 7) Vorbrodt. Bull. de l'Ac. des Sc. de Cracovie, Sér. A, S. 414, 1910.
 - 8) Rose. Biochemical Bulletin, Bd. 2, S. 21, 1912.
 - 9) Neubauer und Lücker. Zeitschr. f. analyt. Chemie, Bd. 51, S. 161, 1912.
 - 10) Neumann. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 37, S. 115, 1903.
-

O zjawiskach mechanicznych w hodowli tkanek poza ustrojem. — Über mechanische Erscheinungen in der Gewebeskultur außerhalb des Organismus.

Mémoire

de M. **CHARLES KLECKI**,

présenté, dans la séance du 27 Mai 1915, par M. E. Godlewski fils, m. c.

(Planche 5).

Die Ansichten verschiedener Autoren über das Hauptergebnis der Gewebeskultur nach *Harrisson*, *Burrows*, *Carrel*¹⁾ sind noch immer geteilt, es herrscht nämlich noch keine Einigkeit darüber, ob und welche Gewebe in der H. B. C.-Kultur in Wirklichkeit wachsen. Dessenungeachtet hat man sich der H. B. C.-Methode in einer großen Anzahl von Untersuchungen bedient, in welchen man bestrebt war, verschiedene physiologische und pathologische Fragen vermittelst der genannten Methode zu lösen.

Die oben erwähnten Meinungsdivergenzen betreffen nur in geringem Grade die H. B. C.-Kultur embryonaler Gewebe, welche nach den ziemlich einhelligen Äußerungen der Autoren, besonders die Gewebe mesodermalen Ursprungs, *in vitro* mehr oder weniger wachstumsfähig sind. Die Meinungen gehen auseinander hauptsächlich in bezug auf die Wachstumsfähigkeit außerhalb des Organismus der Gewebe erwachsener Tiere, welche nach der Ansicht der einen Autoren in der H. B. C.-Kultur ein typisches Wachstum aufweisen und nach der Ansicht anderer eines Wachstums außerhalb des Organismus überhaupt unfähig sind, im besonderen Epithel- und

¹⁾ Die Gewebeskultur nach *Harrisson*, *Burrows*, *Carrel*, resp. die Methode dieser Forscher wird in dieser Arbeit in Abkürzung als H. B. C.-Kultur, resp. H. B. C.-Methode bezeichnet.

Muskelgewebe. Die auf den Nachweis von Mitosen in der H. B. C.-Kultur gerichteten Untersuchungen haben diese Frage nicht zu klären vermocht. Die Mehrzahl der Forscher, welche in den letzten Zeiten Gewebe erwachsener Tiere nach H. B. C. gezüchtet und in den Kulturen Wachstumserscheinungen beobachtet haben, sind zu dem Schlusse gelangt, daß dieselben hier durchaus nicht typisch sind. Einige Autoren vertreten die Ansicht, daß die *in vitro* gezüchteten Gewebe sich entdifferenzieren, also indifferent werden, bevor sie zu wachsen beginnen.

Im großen und ganzen erhellt aus den bisherigen Untersuchungen, daß das neue, in der Umgebung des nach H. B. C. gezüchteten Gewebstückes entstandene Gewebe von dem Muttergewebe differiert. Die Entstehungsweise desselben und die in den Elementen desselben auftretenden Veränderungen weisen dabei darauf hin, daß hier neben biologischen Faktoren, deren Wirkung besonders in Kulturen von embryonalem Gewebe sicher festgestellt worden ist, auch äußere, physische Faktoren zur Geltung kommen, welche mit dem Kulturmedium des nach H. B. C. gezüchteten Gewebes zusammenhängen.

Ein Gewebstück, sogar in homogenem Plasma *in vitro* gezüchtet, befindet sich ja in durchaus unnatürlichen Verhältnissen, welche, schon abgesehen von der Aufhebung der Zirkulation, Innervation und normalen Korrelation mit anderen Geweben, neben Intoxikation mit eigenen, im Gewebe angehäuften Stoffwechselprodukten, durch die physischen und chemischen Veränderungen des Plasmas geschaffen werden. Selbst die Konsistenz des das gezüchtete Gewebstück umgebenden Plasmas kann unmöglich auf die in der Kultur auftretenden Erscheinungen ohne Einfluß bleiben.

Selbstverständlich konnten viele von den in der H. B. C.-Gewebeskultur auftretenden mechanischen Erscheinungen nicht übersehen werden, indem aber das Augenmerk der Forscher hauptsächlich auf die biologischen Erscheinungen in den H. B. C.-Kulturen gerichtet war, wurden erstere meistens in den Hintergrund gedrängt. Nichtsdestoweniger findet man in der betreffenden Literatur eine Anzahl sehr wichtiger diesbezüglicher Angaben. Schon Carrel und Burrows haben in ihren ersten Arbeiten über Gewebeskultur *in vitro* auf das Zusammenschrumpfen des erstarrten Plasmas hingewiesen. Jolly hat die Verminderung des Gewebedruckes in den peripheren Teilen des gezüchteten Gewebstückes

und die mechanische und nekrobiotische Dissoziation des Gewebes daselbst hervorgehoben. Die Auswanderung der Rundzellen aus dem Gewebe in die Umgebung desselben hat Jolly auf Sauerstoffmangel im gezüchteten Gewebe zurückgeführt. Nach Carrel ist das Wachstum des Gewebes reger, wenn das Plasma mit $\frac{2}{5}$ Volumteilen destilliertem Wasser verdünnt wird. Harrison, Burrows, Lambert, Braus haben in H. B. C.-Kulturen stereotropische Erscheinungen beobachtet, nämlich Gestaltsveränderungen von Zellen, welche einseitig mit der Glasoberfläche, mit Fibrinfäden in dem erstarrten Plasma, mit in dasselbe eingeführten Spinnen- oder Seidenfäden und Lycopodiumsporen in Kontakt waren. Es wurden auch von einigen Autoren Lücken, resp. cystenartige Gebilde in den gezüchteten Geweben beobachtet, deren Wände mit Zellen ausgekleidet waren. Dilger hat auch auf den Umstand aufmerksam gemacht, daß die Zellen aus dem gezüchteten Gewebe desto leichter auswandern, je geringer die Konsistenz des betreffenden Gewebes ist, und Lambert hat hervorgehoben, daß in Milz- und Knochenmarkkulturen die Wachstumszone in verdünntem Plasma breiter als in unverdünntem Plasma ist.

Bei Untersuchungen, welche ich angestellt habe, um vermittelt der H. B. C.-Methode den gegenseitigen Einfluß von verschiedenen Geweben, resp. Geweben und gewissen Mikroorganismen aufeinander zu erforschen, sind mir vor allem die mechanischen Veränderungen in der H. B. C.-Gewebeskultur aufgefallen, welche meines Erachtens für die Beurteilung der durch die H. B. C.-Methode gelieferten Resultate von Wichtigkeit sind. In der vorliegenden Arbeit will ich meine die mechanischen Erscheinungen in der Gewebeskultur *in vitro* betreffenden Beobachtungen darstellen.

Ich züchtete in meinen Untersuchungen vorzüglich Gewebe von Kaninchen, und zwar meistens von jungen Tieren von 480—1160 g nach H. B. C.; es wurden nur in einigen wenigen Experimenten Gewebe älterer Kaninchen von 1200—1750 g verwendet. Im ganzen waren es 23 Experimente mit Kaninchengewebe, in welchen Gewebsstücke von Milz, Mesenterialdrüsen, Schilddrüse, Muskel, Leber, Niere, Nebenniere, Harnblase, Hoden und Peritoneum in unverdünntem Plasma gezüchtet wurden. Das Plasma stammte von demselben Tiere, welchem die zu züchtenden Gewebsstücke entnommen waren. In vier weiteren Experimenten wurde Mäusegewebe nach H. B. C. gezüchtet, und zwar in einem derselben normales Milzgewebe, in

den drei übrigen das Gewebe von drei Mäusetumoren in frischem, von jungen Kaninchen stammendem Blutplasma. Die Versuchstiere hatten 24 Stunden vor dem Experiment gehungert. Die Gewebekulturen wurden sowohl an Deckgläsern über hohlgeschliffenen Objektträgern wie auch in Gabritchewsky'schen Schalen angelegt. Gewaschen wurden die Gewebsstücke mit Ringer'scher Lösung. Um Artefakte zu vermeiden, wurden die gezüchteten Gewebsstücke weder überimpft noch fixiert und gefärbt, so daß nur ungefärbte Objekte, und zwar Originalkulturen von mehrtätigem Alter, höchstens 9 Tage alt, zur Untersuchung kamen, was für den Zweck vorliegender Arbeit vollkommen genügte. Die in den Kulturen beobachteten Veränderungen wurden notiert und skizziert, und auch mit dem Zeiss'schen Zeichenapparat gezeichnet.

Das ziemlich einförmige Material, dessen ich mich bei diesen Untersuchungen bediente, eignet sich sowohl nach der Ansicht mehrerer Autoren wie auch meiner eigenen Meinung nach für die H. B. C.-Kultur nicht minder gut wie die Gewebe anderer Tiergattungen.

Was das Wachstum der Gewebe anbetrifft, konnte ich keinen prinzipiellen Unterschied zwischen den mit meinem Material erreichten Resultaten und den bei Anwendung anderer Tiergewebe erzielten Ergebnissen finden.

Es ist wohl möglich, daß gewisse mechanische Erscheinungen in der H. B. C.-Kultur von Geweben gewisser Tiergattungen stärker hervortreten als in der Kultur anderer Tiergattungen. Da aber diese Erscheinungen recht allgemeiner Natur sind, kann es sich hier nur um Differenzen in der Intensität der betreffenden Erscheinungen handeln.

Von allen von mir kultivierten Geweben waren progressive Veränderungen am stärksten in dem Milzgewebe ausgesprochen, das Überleben dieses Gewebes dauerte auch am längsten, die Breite der das gezüchtete Gewebsstück umgebenden Wachstumszone war hier auch die größte. Es wanderten schon im Laufe der ersten 24 Stunden zahlreiche Rundzellen aus dem Gewebe in seine Umgebung und nach Ablauf von 24 Stunden waren häufig am Rande des Gewebsstücks Spindelzellen zu sehen; ein beträchtlicher Teil dieser Zellen war mit der Längsachse senkrecht zum Rande des Gewebsstückes gerichtet. Bei allseitigem Auftreten dieser Erscheinung machte das gezüchtete Gewebsstück in dieser Kulturperiode

den Eindruck eines mit Stacheln umgebenen Gebildes. An manchen Spindelzellen waren die Anzeichen einer dichotomischen Teilung zu sehen, andere bildeten sich in längere Fasern um. Gleichzeitig oder etwas später, am dritten oder vierten Tage der Kultur, erschienen in der Umgebung des gezüchteten Gewebstückes sternförmige Zellen, deren Ausläufer sich häufig miteinander verbanden, wodurch um das Gewebe herum ein neuer einschichtiger, auch Spindel- und Rundzellen enthaltender Gewebstreifen entstand. In einigen Fällen kam es auf diese Weise zu einer Vereinigung zweier nebeneinander liegenden Gewebstücke (Fig. 1). Nach Ablauf mehrerer Tage kamen auch in der Umgebung der gezüchteten Milzpartikeln große Rundzellen zum Vorschein, deren Cytoplasma eine grobe, dunkel gefärbte Körnung aufwies. Im Laufe der ersten Tage nach Anfertigung der Kulturen waren in der Umgebung der Milzstückchen amöboide Bewegungen von Rundzellen bemerkbar. Im Laufe der weiteren Tage wurden dort ab und zu zweikernige Zellen angetroffen, die nähere Untersuchung derselben war jedoch im ungefärbten Präparate unmöglich.

Ich konnte auch zum wiederholten Mal im Innern des gezüchteten Milzgewebes rundliche oder ovale Lücken feststellen; da ich sie schon im Laufe der ersten Kulturstage bemerkte, waren sie wahrscheinlich künstlich entstanden. Die Ränder dieser Lücken waren mit länglichen Zellen ausgekleidet; man sah von denselben ebenfalls längliche, aber annähernd senkrecht zu denselben gestellte Zellen entspringen. Die Ausläufer solcher gegenübergestellten Zellen vereinigten sich manchmal miteinander, wodurch über die Gewebstücke herüber eine Art zellulärer Brücken entstand. Zwischen diesen Zellen sah man auch in den Gewebstücken freie Rundzellen.

Gleichzeitig mit dem Auftreten der oben angeführten Erscheinungen in der Umgebung der gezüchteten Milzstückchen wurde der Rand derselben heller und dünner und erschien stellenweise peripherwärts in das das Gewebe umgebende Plasma verschoben. Es entstanden dadurch am Rande des Gewebes fortsatzähnliche Gebilde, welche nur im Laufe der ersten Tage an Umfang zunahmen, wonach das Gewebe an der Spitze des Fortsatzes sich auflockerte und die zelligen Elemente desselben regressiven Veränderungen unterlagen.

In einigen Experimenten, in welchen die gezüchteten Milzstück-

chen mit Ehrlich's Neutralrot zu Beginn der Kultur gefärbt wurden, begann die Entfärbung im Zentrum derselben nach Ablauf einiger Tage. Von Anfang an war aber die Färbung am Rand des Gewebstückes weniger intensiv als in den mehr zentralwärts gelegenen Partien desselben, der Gewebsrand wurde auch bald ganz hell und nahm einen Stich ins Gelbe an.

Gleich am Beginn meiner Untersuchungen richtete ich mein Augenmerk auf die in der nächsten Umgebung des gezüchteten Gewebstückes im Plasma auftretenden Erscheinungen. Wie dies schon durch andere Autoren festgestellt worden ist, kam es auch in vorliegenden Untersuchungen manchmal zu einer gleichmäßigen Schrumpfung des das Gewebe umgebenden Plasmas, so daß das Gewebstück in demselben wie der Stein in einem Siegelring zu liegen kam. In anderen Fällen kam das Plasma zum Bersten, wodurch unregelmäßig dasselbe durchziehende Spalten entstanden. Falls eine solche Spalte bis an den Rand des gezüchteten Gewebstückes reichte, schoben sich in dieselbe strahlenartig Gewebelemente ein, welche die Spalte häufig bald ausfüllten.

Besonders interessant waren hier aber die mit einer ungleichmäßigen Verflüssigung des Plasmas am Rande des gezüchteten Gewebstückes verbundenen Erscheinungen. In Milzgewebekulturen traten diese Erscheinungen meistens erst nach Ablauf von zwei oder drei Kulturtagen auf. Die Verflüssigung des Plasmas reichte hier gewöhnlich vom Rande des Gewebes nur unweit nach außen; die Grenze zwischen erstarrtem und verflüssigtem Plasma war als eine scharfe, dunkle, von einer Stelle des Gewebsrandes zu einer anderen bogenartig verlaufende Linie zu sehen. Es entstand also am Rand des gezüchteten Gewebes eine Blase, deren flüssiger Inhalt eine hellere Färbung als das erstarrte Plasma aufwies (Fig. 2). Falls mehrere solche Blasen entstanden waren, konnte ich ein Zusammenfließen solcher nebeneinander liegenden Blasen niemals beobachten.

Im flüssigen Inhalt obiger Blasen waren von Anfang an einzelne Rundzellen, mitunter auch amöboide Bewegungen aufweisende Zellen und freie Spindelzellen zu sehen. Besonders interessant war es aber zu beobachten, daß vom Gewebsrande aus, an der Stelle, wo die Blasenwand mit dem Gewebe zusammenstieß, von beiden Seiten der Blase längliche Zellen längs der Blasenwand hinausgeschoben wurden, welche in kurzer Zeit die ganze gegen das erstarrte Plasma gerichtete Blasenwand von innen bedeckten.

Sowohl von diesen Zellen als auch vom Gewebsrand, welcher von der Blase umfaßt worden war, sah man ebenfalls längliche, senkrecht zur Blasenwand oder zum Gewebsrand gestellte Zellen entspringen, deren Ausläufer gegenüberliegende Zellen verbanden und dadurch etwa das Gewölbe der Blase stützenden Säulen ähnelten (Fig. 3); zwischen diesen Säulen waren neben Rundzellen an den späteren Kulturtagen sternförmige und polygonale, manchmal auch grobgekörnte Zellen zu sehen.

Ähnliche Erscheinungen wie in den H. B. C.-Kulturen von Milzgewebe, jedoch schwächer ausgeprägt, wurden in Kulturen von Lymphdrüsengewebe beobachtet. In den Kulturen von quergestreiften Muskeln war das rasche Auftreten von regressiven Veränderungen am Rande der gezüchteten Gewebsstücke auffallend. In Kulturen von Nierengewebe waren keine Merkmale einer Gewebsvermehrung sichtbar. Am Rande der gezüchteten Gewebsstücke sah man schon am zweiten Kulturtag die an dieser Stelle quer oder schräg durchschnittenen Harnkanälchen in das das Gewebsstück umgebende Plasma etwas hineinragen, was aber im Laufe der Zeit nicht stärker wurde. Sehr kleine, manchmal nur aus wenigen Zellen bestehende Partikel von Harnkanälchen, welche im Plasma freilagen und von allen Seiten von demselben genau umgeben waren, zeigten im Laufe von 5–6 Tagen überhaupt keine im ungefärbten Präparate festzustellenden Veränderungen, worauf regressive Prozesse in denselben auftraten und die Zellen abstarben.

In Leberkulturen wurde der Rand des gezüchteten Gewebsstückes schon nach Ablauf von 24 Stunden heller und dünner und das Lebergewebe erschien hier aufgelockert. Auch hier sah man Gewebsfortsätze in das Plasma eindringen, von einem wirklichen Gewebswachstum war aber auch hier nichts zu bemerken. In der Umgebung des gezüchteten Leberstückchens erschienen schon im Laufe der ersten 24 Stunden freie Zellen, und zwar Rundzellen und isolierte Leberzellen, später erschienen Spindelzellen, z. T. in senkrechter Stellung zum Rande des Gewebsstückchens. Die Verflüssigung des Plasmas begann in den Leberkulturen verhältnismäßig früh, so daß die oben beschriebenen Blasen hier manchmal schon im Laufe der ersten 24 Stunden zu sehen waren.

In den Kulturen von Hodengewebe waren schon im Laufe der ersten 24 Stunden kleine Ausbuchtungen des Gewebsrandes bemerkbar, welche demselben ein gekerbtes Aussehen verliehen; der

Gewebsrand wurde dabei mehr hell und in seiner Nähe erschienen freie Rundzellen. Nach etwa zwei Tagen trat eine starke Auflockerung der Samenkanälchen auf und am Rande des Hodengewebes erschienen senkrecht von demselben entspringende Spindelzellen. Das Plasma verflüssigte sich häufig zu dieser Zeit an manchen Stellen, wodurch die oben erwähnten Blasen entstanden. Von irgend welchen Vermehrungserscheinungen wurde im Laufe von sieben Tagen in den Hodenkulturen nichts bemerkt.

In zahlreichen Kulturen von Schilddrüsengewebe waren gewöhnlich die oben angeführten Erscheinungen recht deutlich: die Auflockerung des Gewebes in den peripheren Teilen des gezüchteten Stückchens, das Heller- und Dünnerwerden derselben, die Entstehung von Gewebsfortsätzen, welche in das Plasma in den Anfangsstadien der Kultur eindrangen, das Erscheinen von Rund-, Spindel- und Sternzellen in der Umgebung des Gewebsstückchens waren hier sehr typisch. In einigen Kulturen waren kleine Ausbuchtungen des Gewebes am Rande desselben, ähnlich den in den Hodenkulturen beobachteten, zu sehen. In den in das Plasma eindringenden Gewebsfortsätzen sah man nach Ablauf einiger Tage eine deutliche Aufquellung des Gewebes. Nach Ablauf von drei oder mehr Kulturtagen erschienen in der Nähe des Gewebsstückchens Kolloidkugeln. Mit Neutralrot gefärbte Schilddrüsenstückchen entfärbten sich mit einem Stich ins Gelbe von ihrem Zentrum aus nach zirka 6 Tagen, der Gewebsrand war aber schon am zweiten Kulturtag deutlich gelblich. Im Laufe von ein bis drei Tagen verflüssigte sich meist ungleichmäßig das Plasma in der nächsten Umgebung des Gewebes, wobei die oben beschriebenen charakteristischen Blasen, gewöhnlich nach zwei Kulturtagen entstanden (Fig. 4). Auch hier entstanden ab und zu Spalten im erstarrten Plasma. Gewebsvermehrung wurde in den Schilddrüsenkulturen nicht beobachtet.

Ein ganz besonderes Interesse boten Harnblasenkulturen, indem die beiden hier in Betracht kommenden Hauptgewebe, das platte Epithel und die glatten Muskelfasern ein differentes Verhalten aufwiesen und eine differente Wirkung auf das mit denselben in Berührung stehende Plasma ausübten. Die Auflockerung des Epithels und die Dislokation der Epithelzellen war hier sehr stark ausgeprägt, das mit dem Epithel im Kontakt stehende Plasma verflüssigte sich recht rasch. Es war auch eine starke Aufquellung der am

Gewebsrande liegenden Epithelzellen bemerkbar, so daß der betreffende Gewebsrand schon nach Ablauf der ersten 24 Stunden eine deutliche Kerbung aufwies. Das Gewebe der in das Plasma eindringenden Fortsätze wurde bald aufgelockert. Vom Gewebsrand wurden Blasenepithelien bald isoliert, bald gruppenweise, meist lamellenartig abgestoßen. Kleine Gewebspartikeln, ausschließlich oder zum größten Teil aus Epithelzellen bestehend, quollen in toto auf, so daß manchmal schon nach drei Kulturtagen die anfänglich unregelmäßige Gestalt solch eines Gewebsetzens sich stark einer Kugel näherte. Im Laufe von drei bis fünf Tagen traten gewöhnlich in den Epithelzellen regressive Veränderungen auf, nur in Ausnahmefällen erhielten sich dieselben bis zu sieben Tagen anscheinend normal. Eine Vermehrung der Blasenepithelien wurde nicht beobachtet. Mit Neutralrot gefärbte Blasenwandstückchen entfärbten sich meist rasch, gewöhnlich schon nach drei Tagen, das am Rande derselben liegende Epithel war von Beginn der Kultur an meist hell, nach 24 Stunden gelblich gefärbt. Die von dem Gewebe abgestoßenen gefärbten Epithelzellen entfärbten sich ebenfalls rasch. Da die betreffenden Gewebstückchen vor ihrer Einbettung in das Plasma sorgfältig mit Ringer'scher Lösung gewaschen worden waren, konnten obige Erscheinungen nicht von etwaigen an dem Epithel haften gebliebenen Harnresten abhängig sein.

Die glatten Muskelfasern behielten ihr normales Aussehen in den Blasenwandkulturen länger als das Epithel. Die Auflockerung des Muskelgewebes trat später auf als diejenige des Epithels, am frühesten nach Ablauf von vier Kulturtagen. Auch hier wurden keine Vermehrungsanzeichen beobachtet. Mit Neutralrot gefärbte glatte Muskelfasern behielten die rote Färbung länger als die Epithelien, ihre Entfärbung begann erst nach acht Tagen.

In Blasenwandkulturen, in welchen die gezüchteten Gewebstückchen sowohl aus Epithel wie auch aus glatten Muskelfasern bestanden, war ein Unterschied in dem Verhalten des Epithel und des die Muskelfasern berührenden Plasmas zu bemerken, das Plasma wurde nämlich viel schneller an den Stellen verflüssigt, wo dasselbe das Epithel berührte. Es entstanden hier manchmal schon nach Ablauf von 24 Stunden charakteristische Blasen, deren Wand teils mit in die Länge gestreckten, teils mit Epithelzellen ausgekleidet war und in deren flüssigem Inhalt Rundzellen und mehr oder weniger aufgequollene platte Epithelzellen zu sehen waren;

manchmal war die Blasenwand fast ausschließlich mit Epithelzellen ausgekleidet (Fig. 6). Andererseits verflüssigte sich das die glatten Muskelfasern berührende Plasma erst nach Ablauf von drei bis vier Tagen und es bildeten sich hier gewöhnlich überhaupt keine Blasen aus.

In H. B. C.-Kulturen von drei Mäusetumoren (Adenocarcinomen), deren einer im Tierorganismus ein außerordentlich rasches Wachstum aufwies, wurden im großen und ganzen eben dieselben Erscheinungen wie in den Kulturen normaler Kaninchengewebe beobachtet. Auch die im Organismus sich rasch vermehrenden Zellen vermehrten sich in der H. B. C.-Kultur nicht, von einem Zuwachs des eigentlichen Tumorgewebes war hier nichts zu sehen, es traten nur in der Umgebung des gezüchteten Gewebstückchens Rund-, Spindel- und Sternzellen auf, wie dies in der Umgebung von normalen Geweben geschieht (Fig. 7). Es lockerte sich auch hier das Gewebe am Rande des gezüchteten Stückchens auf, es drangen Gewebsfortsätze in das Plasma ein, und es bildeten sich in der nächsten Umgebung des Tumorgewebes charakteristische Blasen, deren Wand mit langen Spindelzellen ausgekleidet war und in deren Inhalt sich freie Rund- und Spindelzellen befanden; die gegenüberliegenden Wände der Blase waren auch hier häufig durch von der Blasenwand entspringende und senkrecht zu derselben aufgestellte, längliche Ausläufer entsendende Zellen vereinigt (Fig. 8). Manchmal wurde eine Abrundung des Randes des gezüchteten Tumorgewebes nach Ablauf einiger Kulturstage festgestellt.

* * *

Ich hebe also hervor, daß in der H. B. C.-Gewebskultur, abgesehen von den hier in Betracht kommenden biologischen Erscheinungen, wie Lebenderhaltung des gezüchteten Gewebstückchens und die an den Gewebselementen beobachteten progressiven und regressiven Veränderungen, eine Reihe von Erscheinungen auf mechanischer Grundlage auftritt.

Diese das gezüchtete Gewebstück, resp. die von demselben stammenden Elemente betreffenden Erscheinungen hängen zum großen Teil von den Prozessen ab, welche sich in dem das Gewebe umgebenden Plasma abspielen. Beim Zusammenschrumpfen des erstarrten Plasmas um das Gewebstück herum und beim Bersten desselben werden durch Druckabnahme an den betreffenden Stellen die zel-

ligen Elemente, besonders die randständigen, und die freien Zellen von dem gezüchteten Gewebstück zentrifugal gerichtet.

Sowohl die Verflüssigung des Plasmas um das ganze gezüchtete Gewebstückchen herum wie auch eine lokale Verflüssigung desselben am Rande des Gewebes beeinflußt ebenfalls die zelligen Elemente. Es geht aus meinen Untersuchungen hervor, daß der Verflüssigungsprozeß des Plasmas, der Zeitpunkt seines Beginnes und seine Verbreitungsgeschwindigkeit zum großen Teil von der Art des Gewebes abhängig ist, welches mit dem Plasma in Berührung steht. Im allgemeinen beginnt dieser Prozeß früher und schreitet rascher fort in einem Plasma, welches Epithelgewebe berührt, als in einem solchen, welches Lymphgewebe berührt; die Verflüssigung von erstarrtem Plasma, welches mit glatten Muskelfasern im Kontakt steht, ist überhaupt schwach und beginnt verhältnismäßig spät, wie dies aus meinen Harnblasenwandkulturen ersichtlich ist.

Der fermentative, fibrolytische, das Plasma verflüssigende Prozeß ist also höchst wahrscheinlich von den in dem gezüchteten Gewebe, vornehmlich in dessen peripheren Teilen sich abspielenden Prozessen abhängig. Aus den mit Neutralrot gefärbten Kulturen ist es ersichtlich, daß die Reaktion der peripher gelegenen Teile des gezüchteten Gewebes verhältnismäßig rasch in eine saure umschlägt, was durch die Anhäufung von sauren Produkten der hier auftretenden regressiven Gewebsveränderungen bedingt wird. Höchstwahrscheinlich werden infolge obiger Gewebsveränderungen neben den sauren Körpern auch andere die Verflüssigung des Plasmas bedingende oder befördernde Körper frei, welche in das Plasma übergehen. Eine Verflüssigung des Plasmas in der Umgebung freiliegender Zellen kann wahrscheinlich sowohl durch Zerfallsprodukte derselben wie auch durch normale Produkte mancher Zellen verursacht werden.

Gleichzeitig mit der Verflüssigung des Plasmas tritt in den peripheren, vom Plasma berührten Teilen des gezüchteten Gewebstückchens eine Aufquellung der Gewebselemente auf; möglicherweise ist dieselbe von den hier entstandenen regressiven Veränderungen des Gewebes abhängig, wahrscheinlich ist aber der enge Zusammenhang dieser Erscheinung mit der Verflüssigung des die betreffenden Gewebsteile berührenden Plasmas. Die Aufquellung der Gewebselemente tritt am stärksten im Epithelgewebe zum Vorschein, wo auch die Auflockerung des Gewebes, die Dislokation

und Abstoßung der Zellen den höchsten Grad erreicht. Die Auflockerung der mit Plasma durchtränkten Gewebsteile wird offenbar auch durch die regressiven Veränderungen derselben bedingt. Die Aufquellung und die dadurch bedingte Gestaltsänderung der frei im Plasma liegenden Zellen steht ebenfalls in einem engen Zusammenhange mit der Verflüssigung des Plasmas.

Infolge der beim Anfertigen der zu kultivierenden Gewebstückchen am Rande derselben entstandenen Gewebsschädigung nimmt der Gewebdruck daselbst ab. Es ist möglich, daß auch in der nächsten Umgebung des gezüchteten Gewebes der Druck abnimmt, und zwar dadurch, daß hier die Menge des verflüssigten und das Gewebe imbibierenden Plasmas abnimmt.

Eine Druckabnahme erfolgt wahrscheinlich auch am Rand der manchmal im Innern der gezüchteten Gewebstückchen beobachteten Gewebstückchen, und zwar aus demselben Grund wie am Rande des Gewebes; es weisen darauf die analogen Zellerscheinungen hin, welche hier und dort auftreten.

Die Druckabnahme am Rande des gezüchteten Gewebstückchens bedingt das passive fortsatzähnliche Eindringen des Gewebes in das Plasma, wodurch gewissermaßen eine Druckregulation hier erfolgt. Aber auch in denjenigen Fällen, wo das gezüchtete Gewebe am Rande wuchert, wie dies hauptsächlich in meinen Milz- und Lymphdrüsenkulturen der Fall war, wird die Bildung der in das Plasma sich einschiebenden Gewebfortsätze durch die Druckabnahme in der Peripherie des Gewebes begünstigt.

Das typische Auftreten von Rundzellen in der Umgebung der gezüchteten Gewebstückchen schon in den Anfangsstadien der Kultur, besonders stark ausgeprägt in Milz- und Lymphdrüsenkulturen, in welchen eine Anzahl von Rundzellen am Rande des Gewebes in das Plasma einfach abgestoßen wird, kann durch verschiedene Faktoren bedingt werden. Die Auswanderung von Rundzellen aus dem Gewebe, und zwar aus den peripheren Teilen desselben kann durch die in der Umgebung des Gewebes entstandene Druckabnahme begünstigt werden. Indem aber die Zellenemigration aus dem Gewebe eben in solchen Gewebskulturen recht früh beginnt und am stärksten ist, in welchen die Plasmaverflüssigung nicht so rasch wie in anderen Gewebskulturen vor sich geht, kann diesem Faktor keine große Bedeutung in dieser Hinsicht zugeschrieben werden. Wichtiger erscheinen hier chemotaktische Faktoren, vor

allen anderen der Sauerstoff, welcher im Innern des Gewebes durch die überlebenden Zellen aufgebraucht und in dem das Gewebe umgebenden Plasma länger erhalten werden kann. Positiv chemotaktisch kann hier auf die Rundzellen auch eine schwache Ansäuerung des das Gewebe umgebenden Plasmas einwirken, welche von Rous und Lambert in H. B. C-Kulturen direkt festgestellt worden ist und welche auch in meinen Untersuchungen eine indirekte Bestätigung findet.

Eine Auswanderung von Zellen aus den peripheren Teilen des gezüchteten Gewebes begünstigt auch die Auflockerung dieser Gewebsteile, wodurch diese im Laufe der Zeit immer dünner werden und infolgedessen heller erscheinen als die mehr zentralwärts gelegenen Gewebsteile.

Das in vielen Kulturen, besonders von Milz-, Lymphdrüsen- und Schilddrüsengewebe, im Laufe der ersten Kulturstage häufig beobachtete Auftreten zum Teil freier, zum Teil von dem Gewebsrand entspringender Spindelzellen, welche zum Gewebsrand senkrecht aufgestellt sind, hat nach meiner Ansicht auch einen mechanischen Grund, welcher aber bis dahin noch nicht genügend erkannt werden konnte. Es sei nur hervorgehoben, daß diese Erscheinung sowohl in erstarrtem wie auch in verflüssigtem Plasma auftritt, nämlich in den am Rande des gezüchteten Gewebstückchens entstandenen Blasen.

In diesen durch eine lokale Verflüssigung des Plasmas entstandenen Blasen beobachtet man als ganz charakteristische Erscheinung das Auftreten an beiden Stellen, wo die bogenförmige Blasenwand den Gewebsrand berührt, von in die Länge gestreckten, resp. spindelförmigen Zellen, welche sich längs der Blasenwand von beiden Seiten vorschieben und, nachdem sie zusammengestoßen sind, eine neue zelluläre Grenzschicht zwischen dem verflüssigten und dem noch erstarrten Plasma bilden. Diese Erscheinung ist als eine rein stereotropische aufzufassen; Erscheinungen dieser Art in H. B. C-Kulturen, nämlich sich in die Länge streckende Zellen längs der im Plasma entstandenen Fibrinfäden oder der in dasselbe eingeführten Seiden- oder Spinnenfäden, die Entstehung von Riesenzellen aus eine feste Unterlage berührenden Elementen und dergl. wurden schon von anderen Forschern beobachtet.

Der Mechanismus der Entstehung am Rande des gezüchteten Gewebes von Blasen, deren Wand mit einer Schicht Epithelzellen

ausgekleidet ist, ist ein anderer. Bei Verflüssigung des Plasmas und Auflockerung des Epithelgewebes werden nämlich durch das verflüssigte und in das Gewebe eindringende Plasma von dem Gewebsrand aus mehreren Zellen bestehende Epithelstreifen gewissermaßen fortgedrängt und an die Blasenwand geschoben; es ist aber nicht ausgeschlossen, daß auch hier der Stereotropismus in Betracht kommt. Einzelne Epithelzellen werden von solchen Epithelstreifen gelöst, geraten in das Innere der Blase und weisen mit der Zeit regressive Veränderungen auf.

Was die Entsendung von Ausläufern durch die vom Gewebsrand entspringenden Zellen, welche in das Innere der Blasen eindringen, wie auch durch diejenigen, welche in Gewebslücken zu sehen sind, ferner was das Zusammenstoßen der Ausläufer in der Nähe liegender Zellen anbetrifft, so müssen diese Erscheinungen auf Cytotropismus zurückgeführt werden, da die genannten Zellen eine feste Unterlage in dem gezüchteten Gewebe, auf der Glasoberfläche oder in den Fibrinfäden des erstarrten Plasmas finden.

* * *

Obwohl die oben beschriebenen mechanischen Erscheinungen in H. B. C.-Gewebskulturen an einem recht einförmigen Materiale beobachtet worden sind, glaube ich annehmen zu können, daß sie auch bei Anwendung eines anderen Materials in Betracht kommen, da sie ganz allgemeiner Natur sind, so daß es sich hier nur um quantitative Unterschiede handeln kann. Es sollten also bei der Untersuchung von Gewebeskulturen nach H. B. C. diese mechanischen Erscheinungen, welche öfters die Erscheinungen eines Gewebswachstums vorspiegeln können, streng ins Auge gefaßt werden.

In meinen Gewebeskulturen wurde ein wirkliches Wachstum nur der bindegewebigen Elemente beobachtet, wie dies schon von vielen Forschern, welche mit einem anderen Material arbeiteten, festgestellt worden ist. Dies spricht offenbar nicht dagegen, daß bei Verwendung eines geeigneten Materials, insbesondere eines fötalen Materials, auch in anderen, vermittelt der H. B. C.-Methode kultivierten Geweben progressive Veränderungen festzustellen sind. Aus meinen Untersuchungen erhellt nur folgender Umstand: Da in der H. B. C.-Kultur von Geweben erwachsener aber noch junger Kaninchen im eigenen Plasma dieser Tiere die mechanischen Erscheinungen das Bild der hier sich abspielenden Lebens-

BULLETIN INTERNATIONAL
DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE CRACOVIE
CLASSE DES SCIENCES MATHÉMATIQUES ET NATURELLES.

SÉRIE B: SCIENCES NATURELLES.

DERNIERS MÉMOIRES PARUS.

(Les titres des Mémoires sont donnés en abrégé).

- J. Jarosz.** Fauna des Kohlenkalks in der Umgebung von Krakau.
Brachiopoden, I. Juill. 1914
- St. Pietruski.** Mikroskopische Anatomie d. Verdauungskanal bei
Knochenfischen Juill. 1914
- W. Poliński.** Quartäre Mollusken von Ludwinów Juill. 1914
- J. Małkowska.** Jugendblätter von *Angiopteris Teysmanniana* Juill. 1914
- N. Cybulski, S. Woliczko.** Abhängigkeit der Aktionsströme der
Muskeln von der Temperatur Juill. 1914
- M. Eiger.** Physiologische Grundlagen der Elektrokardiographie. II. Juill. 1914
- L. Adametz, E. Niezabitowski.** In Zloczów gefundene Pferde- und
Ziegenknochenüberreste Juill. 1914
- N. Cybulski, S. Jeleńska-Macieszyna.** Aktionsströme der Groß-
hirnrinde Juill. 1914
- W. Wietrzykowski.** Développement de l'*Edwardsia Beautempsii* Juill. 1914
- M. Bogucki.** Régénération du testicule de la salamandre Juill. 1914
- Ch. Hessek.** Bedeutung d. normalen Lage der Keimscheibe des
Hühnereies Juill. 1914
- S. Tenenbaum.** Neue Käferarten von den Balearen Oct. 1914
- E. Estreicher.** Über die Kälteresistenz u. den Kältetod der Samen Oct. 1914
- S. Jeleńska-Macieszyna.** Über die Frequenz der Aktionsströme in
willkürlich kontrahierten Muskeln Oct. 1914
- K. Rouppert.** Beitrag zur Kenntnis der pflanzlichen Brennhaare Oct. 1914
- VI. Kulezyński.** Fragmenta arachnologica, X Nov.—Déc. 1914
- St. Sumiński.** Untersuchungen über die Entwicklung der Behaarung
bei der weißen Maus (*Mus musculus* var. *alba*) Nov.—Déc. 1914
- J. Nowak.** Über d. Loben der oberkretazischen Ammoniten Janv.—Févr. 1915
- A. J. Żmuda.** Die polnischen *Alchemilla*-Arten Janv.—Févr. 1915
- A. J. Żmuda.** Über die polnischen *Helianthemum*-Arten Janv.—Févr. 1915
- A. Macieszyna.** Brown-Séquard'sche Meerschweinchen-Epilepsie Janv.—Févr. 1915
- M. Siedlecki.** Lymphatische Gefäße der fliegenden Drachen Janv.—Févr. 1915
- WI. Szafer.** Anatomische Studien über javanische Pilzgallen, I Mars—Avril 1915
- A. Wierzejski.** Entwicklung der Gemmulae der Spongilliden und
des Schwammes aus dem Gemmulis Mars—Avril 1915

TABLE DES MATIÈRES.

Mai 1915.

	Page
A. WIĘRZEJSKI. Beobachtungen über die Entwicklung der Gemmulae der Spongilliden und des Schwammes aus den Gemmulis (Schluß)	65
Wł. SZAFER. Anatomische Studien über javanische Pilzgallen, II	80
F. ROGOZIŃSKI. Beiträge zur Biochemie des Phosphors	87
K. KLECKI. Über mechanische Erscheinungen in der Gewebeskultur außerhalb des Organismus	99

Le »*Bulletin International*« de l'Académie des Sciences de Cracovie (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) contient les travaux qui se rapportent aux Sciences Biologiques. Les abonnements sont annuels et partent de janvier. Prix pour un an (dix numéros): Série A ... 8 K; Série B ... 10 K.

Les livraisons du »*Bulletin International*« se vendent aussi séparément.

Adresser les demandes à la Librairie »Spółka Wydawnicza Polska«
Rynek Gł., Cracovie (Autriche).

Prix 2 K.
