HOKKAIDO UNIVERSITY

| | |
|---|---|
| Title | Zur Analyse der Salzwirkung auf die pflanzlichen Protoplasten |
| Author(s) | SAKAMURA, Tetsu |
| Citation | Journal of the Faculty of Science, Hokkaido Imperial University. Ser. 5, Botany, 3(4), 101-119 |
| Issue Date | 1934 |
| Doc URL | https://hdl.handle.net/2115/26233 |
| Type | departmental bulletin paper |
| File Information | 3(4)_P101-119.pdf |

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

# Zur Analyse der Salzwirkung auf die pflanzlichen Protoplasten

Von

TETSU SAKAMURA

Mit 2 Textfiguren

Es ist zulässig, für die Salzwirkung auf die Protoplasten, gestützt auf einen zugrunde liegenden kolloidchemischen Vorgang, eine Erklärung zu versuchen, woran natürlich die dissoziierten Ionen teilnehmen können. In der Kolloidchemie wird z. B. einer Kolloidsubstanz im Reagenzglas eine Salzlösung zugesetzt und die gleichmässig im Kolloid erfolgte Zustandsänderung untersucht. Aber bei der Salzwirkung auf das Protoplasma sind die Sachverhältnisse noch viel komplizierter, da die Wirkung ungleichzeitig und verschiedenartig je nach der Partie oder den Elementen des Protoplasmas ausgeübt wird. Aus dem erwähnten Grunde wäre es nicht zulässig, das ganze Protoplasma einheitlich zu behandeln. Die Salzwirkungen wären daher dahin zu deuten, dass ihnen wenigstens zweierlei Vorgänge zugrunde liegen:

1. Die Ionenwirkung auf die Plasmaoberfläche, welche die Durchlässigkeit für wirkende sowie andere Ionen beherrscht.

2. Die intrazellulare Wirkung der eingedrungenen Salze. Diese wird daher in erster Linie durch die Permeabilität für die Salze bedingt.

Im ersten Falle dissoziiert ein starkes Salz in der Lösung vollständig in Ionen, und diese wirken zum grössten Teil im aktiven Zustande. Das Kation und Anion wirken gleichmässig häufig auf die Plasmaoberfläche, aber die überwiegende Rolle entweder jenes oder dieses Ions wird durch die Eigenschaft des Protoplasmas oder des Ions bedingt. Im zweiten Fall dringen aber der Kationen- und Anionenanteil meistens nicht in äquivalenter Menge in die Zelle ein, und hierbei wird ungleich starkes Durchdringen entweder der Säure oder der Base angenommen, die durch die Membranhydrolyse des Salzes entstehen können. Mit gleichem Erfolge stellt sich aber eine andere Möglichkeit ein, dass nämlich ungleichmässiges

Journal of the Faculty of Science, Hokkaido Imperial University, Ser. V, Vol. III, No. 4, 1934.

Eindringen des Kations und Anions stattfindet, während H- und OH-Ionen aus den Zellen heraustreten. Der doppelte Ionenaustausch mit anderen Kationen bzw. Anionen als H- bzw. OH-Ionen sei hierbei ausser Acht gelassen.

Die Kationen oder Anionen, die in äquivalenter Menge in die Zelle eingedrungen sind, wirken nun wieder als Salz oder dissoziierte Ionen, während dagegen überschüssiger Anteil der Säure oder Base eine ganz andere Rolle spielt. Aus dieser Erwägung geht hervor, dass die Salzwirkung unter Umständen, gestützt auf die Ergebnisse der Versuche über die Säure- bzw. Basenwirkung, möglicherweise erklärt werden dürfte, obwohl es schwer zu entscheiden ist, ob diese Wirkung auf Moleküle oder dissoziierten H-Ionen zurückgeführt werden kann.

In meiner früheren Arbeit (1933) habe ich die Salzwirkung auf *Spirogyra*-Zellen untersucht und verschiedene durch die Schädigung hervorgerufene Abnormitäten der Protoplasten mitgeteilt. In vorliegender Arbeit wurde die Salzwirkung wieder mit diesem Versuchsmaterial und zwar von dem oben erwähnten Gesichtspunkt des ungleichen Durchdringens des Anionen- oder Kationenanteils aus untersucht.

Zur Herstellung der Präparate wurden Objekt- und Deckgläser von LEITZ gebraucht, die sich praktisch als alkalienfrei erwiesen haben. Die Pflanze ist identisch mit derjenigen, die von mir seit langem benutzt worden ist, und die Zellfäden wurden einen Tag im Laboratorium gehalten, um sie in den Hungerzustand überzuführen. In den Tabellen und Erklärungen der folgenden Versuche möchte ich der Einfachheit halber die verschiedenen schädlichen Abnormitäten des Protoplasmas mit nachstehenden Zeichen veranschaulichen:

*T* .....Chloroplastentrennung
*P'* .....Plasmaquellung
*P''* .....Plasmakoagulation
*P+* .....Plasmakoagulation nach der Quellung
*C'* .....Chloroplastenquellung
*C''* .....Chloroplastenkoagulation
*C+* .....Chloroplastenkoagulation nach der Quellung
*C°* .....Tropfiger Zerfall der Chloroplasten.
Der kleine Buchstabe bedeutet „schwach". Z.B. „t" bedeutet schwache Chloroplastentrennung.

## Alkalienwirkung

Die Pflanzenobjekte wurden direkt in einem Lösungstropfen auf den mit zur Stütze dienenden feinen Glasfäden versehenen Objektträger übertragen und nach dem Auflegen des Deckglases der Beobachtung unter-

worfen. Wir führen hier die Ergebnisse der Beobachtung bis nach 30 Minuten an.

## Versuch 1.

NaOH(n/20) 14/IX 1932 19°C.

Sofortige *C'* und *P'*. Gerbstoffniederschlag in Vakuolen. Vakuolenkontraktion; kontrahierte Vakuole zerfällt in zwei Teile. Cytoplasmareste bleiben teilweise an der inneren Oberfläche der Zellmembran liegen. Auch DE VRIES (1899) hat eine ähnliche Vakuolenkontraktion an der mit einer 20%igen KOH-Lösung behandelten *Spirogyra nitida* beobachtet. Die Quellung des Chloroplasten schreitet weiter fort, und sie erfüllt den Zellraum. Dieser Quellungsprozess soll unten beim Versuch mit einer n/50 Lösung noch ausführlicher geschildert werden. Der Kern quillt sofort auf, platzt und verschwindet.

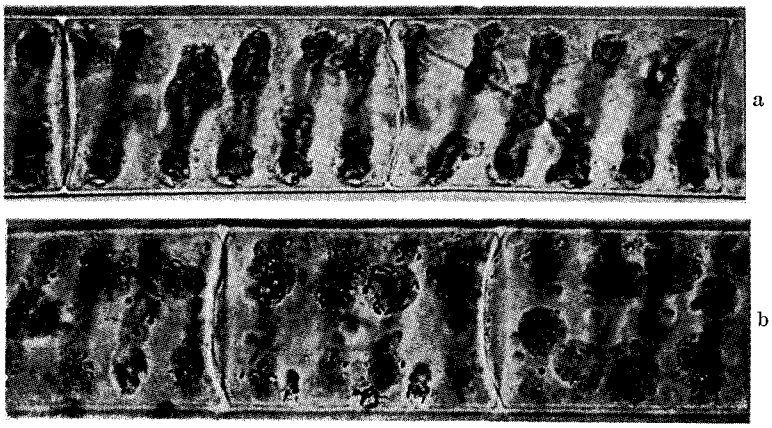
Hierbei sei auf die notwendige Vorsicht beim Versuche mit der Alkalienlösung hingewiesen. Ohne besondere Einrichtung ist es unvermeidlich, dass während des Versuches $CO_2$ sich aus der Luft in die Lösung löst und mit der Base verbindet. In einer n/50 NaOH-Lösung geht die abnorme Quellung der Chloroplasten ohne Gebrauch des Deckglases viel langsamer vor sich als mit dem Deckglas. Denselben Unterschied kann man auch beim Gebrauch des Deckglases zwischen Verfahren ohne und mit Anhauch bemerken. Diese Entkräftung der Alkalienwirkung ist der Rolle von mit Alkalien verbundener $CO_2$ zuzuschreiben. Jedenfalls ist es schwer, mit einer freien Alkalienlösung einen fortdauernden Versuch auszuführen.

## Versuch 2.

NaOH(n/50) 14/IX 1932 19°C.

Sofort beginnt schwache Chloroplastentrennung. Zitternd bewegtes Fadenziehen zwischen den abgetrennten Chloroplastenlappen und der Zellmembran. Schwache Plasmaquellung. Bei der Chloroplastenquellung bemerkt man zweierlei auffällige Figuren, einmal die Schichtenbildung (Fig. 1a) und zweitens das Auftreten lichtbrechender Körperchen in den aufgequollenen Chloroplasten (Fig. 1b), und diese kommen in Gestalt von ziemlich grossen Klumpen auch an der inneren Oberfläche der

Fig. 1.



Zellmembran vor. Diese Figuren können als identisch mit den Myelinfiguren aufgefasst werden, die vor kurzem von WEBER (1933) und MENKE (1934) an den gequollenen Chloroplasten von *Spirogyra* und anderen Pflanzen gefunden worden sind. Die Myelinfiguren sollen nach diesen Autoren durch die Entmischung der lipoiden Phase der Chloroplasten entstehen. Aehnliche Figuren kann man auch bei der Behandlung von Lezithin mit einer NaOH-Lösung bemerken. Die Schichtung in meinem Material ist eher sehr ähnlich derjenigen, welche GICKLHORN (1932) durch die Behandlung des Zellsaftes von *Allium cepa* mit Cu-Acetat gewonnen hat.

### Versuch 3.

NaOH(n/100, n/200) 15/IX 1932 19°C.

normal.

### Versuch 4.

$Ca(OH)_2$(n/10) 15/IX 1932 19°C.

*T*, *C'* (nicht so stark wie bei NaOH). Gerbstoffniederschlag. Der Kern quillt auf und platzt.

### Versuch 5.

$Ca(OH)_2$(n/500) 15/IX 1932 19°C.

normal.

Aus den obigen Versuchen ist es im allgemeinen ersichtlich, dass NaOH mehr oder weniger stark verflüssigend auf die Protoplasten wirkt und sofort die Chloroplastentrennung hervorruft. Die starke Chloroplastenquellung, begleitend die Entmischung der Lipoide und die Bildung der Myelinfiguren, tritt als eine besondere Erscheinung bei der Alkalienwirkung auf. $Ca(OH)_2$ wirkt gleicherweise auf die Protoplasten wie NaOH, aber in einigermassen geringerem Grade. Um weiter zu sehen, ob ein Antagonismus zwischen Na und Ca selbst in so hoher Alkalinität erkennbar sei oder nicht, wurde folgender Versuch angestellt.

### Versuch 6.

$NaOH + Ca(OH)_2$ 15/IX 1932 19°C.

| | | |
|---|---|---|
| NaOH(n/10) | 4 ccm | NaOH .....n/50 |
| $Ca(OH)_2$(n/100) | 5 ccm | $Ca(OH)_2$ .....n/400 |
| $H_2O$ | 1 ccm | |

| | |
|---|---|
| nach 5 Minuten | *T* |
| „ 30 Minuten | *T*, Kern quillt auf |
| „ 40 Minuten | *T*, *C'* (Schichtenbildung), Kern quillt auf, Gerbstoffniederschlag |

Verglichen mit dem Ergebnis der blossen NaOH-Wirkung, bemerkt man bei diesem Gemische keinen merklichen Unterschied davon. Aus diesen Ergebnissen kann man sagen, dass in hoher Alkalinität, wo Kationen oft

mit OH′ zusammen in Gestalt von Ionenpaaren vorkommen dürften, ein Antagonismus zwischen Na (vielleicht auch K) und Ca schwer zu erkennen ist. Dies scheint dafür zu sprechen, dass die Gegenwirkung zwischen Na und Ca einen Ionenantagonismus bedeutet, von dem bei Ionenpaaren (Kationen mit OH′) keine Rede ist.

## Säurewirkung

Versuch 7.

HCl 13/IX 1932 19°C.

| | pH | nach 10 Minuten | nach 30 Minuten | nach 1 Stunde |
|---|---|---|---|---|
| n/100000 | 4.8 | normal | normal | normal |
| n/50000 | 4.5 | normal | normal | normal |
| n/10000 | 3.8 | normal | normal | normal |
| n/5000 | 3.4 | normal | normal, *c′* | normal, *c′* |
| n/1000 | 3.0 | normal, *t* | *T*, normal, *c′* | *T*, *T*(*c′*), normal |
| n/500 | 2.6 | normal, *t* | *T*, norm., *c′*, *T*(*C*+) | *T*, *T*(*c′*), norm., *C*+ |
| n/100 | 2.0 | *C*+, *P″* | *C*+, *P″* | *C*+, *P″* |

Versuch 8.

$H_2SO_4$ 15/IX 1932 19°C.

| | pH | nach 10 Minuten | nach 30 Minuten | nach 1 Stunde |
|---|---|---|---|---|
| n/50000 | 4.6 | normal | normal | normal |
| n/10000 | 3.6 | normal, *t* | normal, *t* | normal, *t* |
| n/500 | 2.6 | normal, *T* | *T* | *T*, *C″*, *C*+ |
| n/100 | 2.0 | *C*+, *C″*, *P″* | *C*+, *C″*, *P″* | *C*+, *C″*, *C*°, *P″* |

Versuch 9.

$HNO_3$ 15/IX 1932 19°C.

| | pH | nach 10 Minuten | nach 30 Minuten | nach 1 Stunde |
|---|---|---|---|---|
| n/100000 | 5.4 | normal | normal | normal |
| n/50000 | 4.6 | normal | normal | normal |
| n/10000 | 3.8 | normal | normal | normal |
| n/5000 | 3.5 | normal | normal, *T* | *T*, normal, c′ |
| n/1000 | 2.9 | normal, *t* | *T*, *c′*, normal | *T*, *C′*, *T*(*C′*), normal |
| n/500 | 2.7 | normal, *T* | *T*, *c′*, *C*+, normal | *T*, *C′*, *T*(*C*+) |
| n/100 | 2.0 | *C*+, *P″* | *C*+, *P″* | *C*+, *P″* |

Versuch 10.
$H_3PO_4$ 23/V 1932 17°C.

| | pH | nach 1 Stunde |
|---|---|---|
| 4n/100000 | 4.7 | normal |
| 8n/100000 | 4.5 | normal |
| n/10000 | 4.2 | normal, *c'* |
| 2n/10000 | 3.9 | normal, *c'*, *T* |
| 3n/10000 | 3.7 | normal, *c'*, *T* |

Die Wirkung der Säure auf die Organismen ist nicht eindeutig. Ausser H-Ionen, müssen ihre Moleküle und Anionen zweifellos als wirksam in Betracht gezogen werden. In höheren Aciditäten begleitet die Steigung der $C_H$ gleichzeitig die Vermehrung der Säuremoleküle. Es ist daher schwierig, in solchem Falle die Wirkung der H-Ionen und Säuremoleküle bei einzelnen Säuren auseinanderzusetzen. Trotzdem wäre nicht unwahrscheinlich anzunehmen, dass bei den stark dissoziierbaren anorganischen Säuren die Säurewirkung hauptsächlich den H-Ionen zuzuschreiben sei, weil aus den obigen Versuchen mit verschiedenen anorganischen Säuren von gleichem pH-Wert gleiches Ergebnis erfolgt.

In höheren Aciditäten tritt die Koagulation des Cytoplasmas und des Chloroplasten sofort ein, während in etwas niedrigeren Aciditäten die schwache Chloroplastenquellung oder Cytoplasmaverflüssigung stattfindet, welche letztere die Chloroplastentrennung verursacht. Die Chloroplastenquellung kommt nur in beschränktem Masse zum Vorschein, nämlich nicht so stark wie bei der Alkalienwirkung. Man bemerkt oft sofortige Koagulation nach der anfänglichen Quellung.

Die heutige physikalische Chemie lehrt uns die totale Dissoziation der starken Elektrolyten, und man nimmt an, dass in deren Lösung irgend eine Molekülart praktisch überhaupt nicht vorhanden sei, die dissoziierten Kation und Anion aber je in einfach molarer Konzentration. Die dissoziierten Ionen verhalten sich aber nicht gleichmässig, weil sie zum Teil im inaktiven Zustande vorhanden sind. Diejenigen Ionen, die durch die gegenseitige elektrische Kraft beeinflusst werden, nähern sich dem elektroneutralen Zustande. Solche Ionen möchten wir bequemlichkeitshalber als „gebundenes Ionenpaar" bezeichnen. Es bietet sich manchmal die Gelegenheit, wo die gebundenen Ionenpaare durch die Membranhydrolyse bei der Permeabilitätserscheinung des Protoplasmas entstehen. Da es kaum möglich ist, eine deutliche Grenzlinie zwischen starken und schwachen

Elektrolyten zur Unterscheidung zu ziehen und ein allmählicher Uebergang vom Molekül zum gebundenen Ionenpaar anzunehmen ist, so ist es nicht unwahrscheinlich, dass bei der Penetration in die Zelle diese beiden Arten Teilnehmer sehr ähnlich sich verhalten. Wenn man die Permeabilität der lebenden Zellen einerseits nur für undissoziierte Moleküle und nicht für Ionen oder anderseits für undissoziierte Moleküle und gebundene Ionenpaare annimmt, so scheint es, als ob der sachliche Gegensatz in der Auffassung nicht sehr wesentlich zu sein brauche, wie STERN (1933, S. 245) sagt.

Es ist heute eine bekannte Tatsache, dass bei der Einwirkung der schwachen Säure auf die Zelle ihre Moleküle die Hauptrolle spielen, während die H-Ionen und Säureanionen von geringerer Bedeutung sind, weil jene sehr leicht in die Zelle eindringen können. Im Gegensatz dazu kommen bei der starken Säure die H-Ionen in den Vordergrund und wirken die Ionenpaare nur unter bestimmten Bedingungen, so z. B. in Gestalt von gebundenen Ionenpaaren intrazellular nach ihrem Eindringen.

Was oben in Bezug auf die starken und schwachen Säuren gesagt wurde, gilt auch für die Basen.

Zum Vergleich mit der Wirkung der starken Säuren wurden Versuche gleicherweise mit schwachen Säuren angestellt, unter denen aber nur Essigsäure hier in Betracht kommt.

Versuch 11.

Essigsäure 5/IX 1932 19°C.

| | pH | nach 5 Minuten | nach 30 Minuten | nach 1 Stunde | nach 3 Stunden |
|---|---|---|---|---|---|
| n/100 | 3.0 | *P″, C″* | *P″, C″* | *P″, C″* | *P″, C″* |
| n/1000 | 3.6 | fast normal | fast normal | normal, *T, C°* | *T, C+, C°* |
| n/10000 | 4.2 | normal | normal | fast normal | fast normal |
| n/100000 | 5.8 | normal | normal | normal | normal |

Versuch 12.

Essigsäure 5/IX 1932 19°C.

| | pH | nach 5 Minuten | nach 2 Stunden |
|---|---|---|---|
| 0.008n | 3.1 | *P″, C″* | *P″, C″* |
| 0.005n | 3.2 | *P″, C″* | *P″, C″* |
| 0.003n | 3.4 | normal, *P″, C″* | scheinbar normal, *P″, C″* |
| 0.002n | 3.5 | normal, *p″, C″* | scheinbar normal, *P″, C″* |

Aus diesen Versuchen ergibt sich, dass Essigsäure in höherer Konzentration koaglierend auf die Protoplasten wirkt, in niederen Konzentrationen dagegen verflüssigend, woraus die Chloroplastentrennung erfolgt. Da in obigen Versuchen die Konzentrationsdifferenz zwischen nacheinander folgenden Lösungen ziemlich gross ist, ist es schwierig den Unterschied der schädlichen Wirkungen der Säuremoleküle je nach der Konzentration genau zu ersehen. Wie aber in anderen Versuchen, wo die Menge der Säuremoleküle mit kleinen Differenzen verschieden genommen wurde, ersichtlich ist, findet die Chloroplastentrennung in der niedrigsten Konzentration statt. In der gesteigerten Konzentration wird die Chloroplastentrennung nicht mehr ersehen, weil die Elastizität des Chlorophyllbandes durch ihre schwache Quellung vermindert wird. In der noch mehr gesteigerten Konzentration geschehen die stärkere Chloroplastenquellung und ferner Koagulation.

## Salzwirkung

Nachdem die oben erwähnten Versuche mit freier Essigsäure ausgeführt worden waren, wurde die Wirkung ihres Salzes Acetat auf *Spirogyra* untersucht, um eine Erklärung der Salzwirkung von einem neuen Gesichtspunkt aus zu gewinnen. Wie schon erwähnt, ist es nicht mehr bezweifelt, dass schwache Säure (bzw. schwache Base) in Gestalt von Molekül verhältnismässig leicht in die pflanzliche sowie tierische Zelle eindringt und verschiedenartig, ja oft schädlich einwirkt. In dieser Beziehung sind zahlreiche organische Säuren in mässig starker Konzentration als schädlicher wirksam als starke anorganische Säuren bekannt. Bei einem Salz, das aus einer schwachen Säure und einer starken Base entsteht, findet eine ungleiche Penetration des Anionen- und Kationenanteils statt, nämlich leichtes Eindringen der überschüssigen Menge des Säureanteils. Wenn auch kein freies Säuremolekül in einer Lösung solches Salzes vorhanden ist, kann der Säureanteil in Gestalt von Molekül oder gebundem Ionenpaar verhältnismässig leicht eindringen, welch letzteres durch die Membranhydrolyse erzeugt wird. Wir sind aus dem oben Erwähnten nicht unberechtigt zur Annahme, dass die schädliche Wirkung des Salzes einer schwachen Säure auch durch die Durchdringungsfähigkeit des begleiteten Kationenanteils stark bedingt werde. In meiner früheren Mitteilung (1933) habe ich konstatiert, dass die Chloride der einwertigen Alkalikationen auf die *Spirogyra*-Zellen mehr oder weniger stark schädlich wirksam sind, während $CaCl_2$ auf dieselbe keine giftige Wirkung ausübt und die antagonistische Wirkung dieses Salzes gegen Kaliumsalze bewiesen

werden kann. Dies ist dahin zu deuten, dass Ca-Ionen die Plasmaoberfläche verfestigen und dadurch sich selbst und auch andere leicht penetrable Ionen am Eindringen verhindern, was den einwirkenden Salzen keine Gelegenheit gibt auf das Innenplasma schädlich zu wirken. Da der pH-Wert der verschiedenen Chloridlösungen dabei 5.4–5.8 beträgt, kommen die Kationen K, Na, Ca u. a. in Gestalt von Ionen vor und ist die Gelegenheit der Entstehung der gebundenen Ionenpaare, $K^{\cdot}$ mit $OH'$, $Na^{\cdot}$ mit $OH'$, $Ca^{\cdot\cdot}$ mit $OH'$ u. a., selbst durch die Membranhydrolyse sehr gering. Daraus folgt, dass die Wirkung dieser Salze hauptsächlich als Ionenwirkung zu deuten ist. Obwohl Ca-Salz in saurer Reaktion verfestigend und schützend auf das Protoplasma wirksam ist, würde es diese Wirkung in alkalischer Lösung einbüssen, indem nun die Wirkung des gebundenen Ionenpaares $Ca^{\cdot\cdot}$ mit $OH'$ in den Vordergrund treten würde. Dass $Ca(OH)_2$ ebenso stark wie andere Basen intrazellular schädlich wirkt, ist in den obigen Versuchen klar dargetan worden. Auch beim Ca-Salz einer schwachen Säure dürfte das Eindringen von Ca in der sauren Reaktion schwer vor sich gehen, hingegen dringt der Anionenanteil möglicherweise in Gestalt von freiem Molekül oder von leicht entstehendem gebundenen Ionenpaar durch, und würde die Schädigung innerhalb der Zelle hervorgerufen. Da die Kationen der Alkalisalze aber verflüssigend auf die Plasmaoberfläche wirken und leicht eindringen können (vielleicht samt $OH'$), ist die Vermutung nicht unmöglich, dass die Störung des Gleichgewichtes zwischen Säure und Base innerhalb der Zelle nicht so gross sei wie beim Ca-Salz, wenn auch das Protoplasma für den Säureanteil sehr durchlässig ist.

Die Lösung des Salzes der schwachen Säure reagiert in dem natürlichen Zustande meistens schwach alkalisch und sein Anionenanteil kommt immer in Gestalt von Ion vor. Dies ist der Fall z. B. bei verschiedenen Acetaten, deren Lösungen mehr oder weniger stark alkalisch reagieren, obwohl die pH-Werte je nach der Konzentration voneinander abweichen. In solcher Lösung bietet sich sehr wenig Gelegenheit zur Entstehung der Säuremoleküle oder der gebundenen Ionenpaare, welche durch die Membranhydrolyse ermöglicht wird und das Eindringen des Anionenanteils in die Zelle begünstigt. Im Gegensatz dazu vermehrt sich die Eintrittstendenz des Kationenanteils, indem die Begleitung von $OH'$ beim Eindringen dem Kation viel leichter gestattet wird als in einer schwach sauren Lösung. Nun beginnt die schädliche Wirkung des überschüssig eingedrungenen Kationenanteils. In diesem Sinne stellt sich das Eindringen des Anionen- und Kationenanteils eines Salzes, so z. B. von Acetat in

der Neutralität oder deren Nähe im Gleichgewichtszustand vor, es dringt nämlich irgend einer von Anionen- und Kationenanteilen nicht merklich überschüssig in die Zelle ein und tritt die Schädigung verhältnismässig schwach auf. Das ungleiche Durchdringen des Anionen- oder Kationenanteils wird, wenn es stattfindet, auch durch die dabei wirkenden Faktoren, so z. B. Protoplasmazustand, Konzentration der Lösung, Temperatur u. a. bedingt. Wenn die Plasmaschädigung durch das ungleiche Durchdringen des Anionen- und Kationenanteils verursacht wird, so muss die H-Ionenkonzentration in der Lösung immer als ein wichtiger Faktor in Betracht gezogen werden, die die Dissoziation der durch die Hydrolyse gebildeten Säure oder Base bedingt. Es unterliegt wohl keinem Zweifel, dass die $C_H$ andrerseits den Plasmazustand oder die Permeabilität für das gegebene Salz beeinflusst. Ohne Berücksichtigung davon wäre eine ausreichende Erklärung der Permeabilitätsmechanik unmöglich, was auseinanderzusetzen jedoch nicht der Hauptzweck vorliegender Untersuchungen ist. Nur die bekannten und bewiesenen Tatsachen, so z. B. dass Essigsäure in Gestalt des Moleküls leicht in die Zelle eindringen kann, werden hier zur Erklärung der Plasmaschädigung berücksichtigt, während die Erwägung über die Permeabilitätsmechanik in Bezug auf die Eigenschaften des Protoplasmas in vorliegender Mitteilung dahin gestellt bleibt.

Versuch 13.

8/X 1932 17°C.

| | (1) ccm | (2) ccm | (3) ccm | (4) ccm |
|---|---|---|---|---|
| Na-Acetat (n/10) | 10 | 10 | 10 | 10 |
| HCl (n/100) | — | 2 | — | — |
| HCl (n/10) | — | — | 1 | 5 |
| $H_2O$ | 10 | 8 | 9 | 5 |
| pH | 7.4 | 6.2 | 5.4 | 4.8 |

| | (1) ccm | (2) ccm | (3) ccm | (4) ccm |
|---|---|---|---|---|
| Ca-Acetat (n/10) | 10 | 10 | 10 | 10 |
| NaOH (n/100) | 3.6 | 1 | — | — |
| HCl (n/100) | — | — | 5 | 4 |
| $H_2O$ | 6.4 | 9 | 5 | 6 |
| pH | 7.4 | 6.2 | 5.4 | 4.8 |

nach 30 Minuten

| | (1) | (2) | (3) | (4) |
|---|---|---|---|---|
| Na-Acetat | $T$, $C'$ normal | $T$, normal | $T$, normal, $C°$ | $P''$, $C''$ |
| Ca-Acetat | normal | normal, $T$ | $T$, normal | $C'$, $P''$, $C''$, $P$+[1] |

1) stärker geschädigt als bei Na-Acetat.

nach 1 Stunde

| | (1) | (2) | (3) | (4) |
|---|---|---|---|---|
| Na-Acetat | $T, C', (C')$ | $T, C'$, normal | $T, C°$ normal | $P'', C''$ |
| Ca-Acetat | normal | normal, $T$ | $T$, normal | $C+, P'', C'', P+$[2] |

Aus diesem Versuche ist es ersichtlich, dass, je höher die $C_H$ ist, desto stärker die schädliche Wirkung von Acetaten stattfindet. Besondere Anfmerksamkeit muss darauf gerichtet werden, dass in höherer $C_H$ Ca-Acetat schädlicher wirksam als Na-Acetat ist, und in niedriger $C_H$ ein umgekehrtes Verhältnis vorherrscht. Dies lässt sich, gestützt auf die oben erwähnten Annahmen, erklären. In höherer Acidität vermehrt sich die Menge der freien Essigsäure in molekularer Gestalt und dringt diese leicht in die Zelle ein, während $Ca^{\cdot\cdot}$ samt $OH'$ in der Aussenlösung zurückgelassen wird. Das umgekehrte Verhältnis gilt für die schwache alkalische Reaktion, und die Wirkung des Kationenanteils tritt nun in den Vordergrund. Da nicht mehr bezweifelt wird, dass das Protoplasma mehr durchlässig für Na als für Ca ist, lassen sich schwächere Giftwirkung von Na-Acetat als von Ca-Acetat in höherer Acidität und ein umgekehrtes Verhältnis in schwach alkalischer Lösung begreiflich machen. In einer Ca-Acetat-Lösung (n/20), deren pH-Wert 7.4 beträgt, tritt der Zustand der Schädigung erst nach einer lang dauernden Einwirkung auf, während bei $CaCl_2$ die schädliche Wirkung nie nachgewiesen werden kann. Ob diese schädliche Wirkung von Ca-Acetat auf das gebundene Ionenpaar $Ca^{\cdot\cdot}$ und $OH'$ oder auf die durch die Membranhydrolyse entstehende Essigsäure zurückzuführen ist, bedarf noch weiteren Beweises.

Aehnliche Versuche sind mit Acetatgemischen von verschiedenen pH-Werten im folgenden ausgeführt worden.

## Versuch 14.

Acetatgemisch (n/50) 7/VII 1933 21°C.

| pH | | nach 1 Stunde | nach 2½ Stunden |
|---|---|---|---|
| 6.2 | K-Acetat | normal | normal, $T$ |
| | Na-Acetat | $T$, normal | $T$, normal |
| | Ca-Acetat | $T$ | $T(c')$ |
| 5.7 | K-Acetat | normal, $t$ | normal, $t$ |
| | Na-Acetat | normal, $T$ | normal, $T(c')$ |
| | Ca-Acetat | $T, T(C')$ | $T, T(C')$ |

2) stärker geschädigt als bei Na-Acetat.

Versuch 15.

Acetatgemisch (n/50) 12/VII 1933 21°C.

| pH | | nach 30 Minuten | nach 1 Stunde |
|---|---|---|---|
| 6.2 | K-Acetat | normal | normal |
| | Na-Acetat | *T* | *T* |
| | $NH_4$-Acetat | *T*, normal, *c'* | *T*, *c'* |
| | Ca-Acetat | *T* | *T* |
| 5.6 | K-Acetat | normal | normal, *t* |
| | Na-Acetat | normal, *T*, *c'* | normal, *T*, *c'* |
| | $NH_4$-Acetat | normal, *T*, *c'* | normal, *T*, *C'* |
| | Ca-Acetat | normal, *T*, *T*(*c'*) | normal, *T*, *T*(*C'*) |
| 5.3 | K-Acetat | normal, *C'*, *C+*, *P''* | *C'*, *C+*, *P''*, normal |
| | Na-Acetat | *C*, *C+*, *P''*, normal, *T*(*C'*, *C+*) | *C' C+* |
| | $NH_4$-Acetat | *C+*, *P''* | *C+*, *P''* |
| | Ca-Acetat[1] | *C+*, *P''* | *C+*, *P''* |

Ueberblicken wir die angeführten Versuche, so kommen wir zu folgenden Schlüssen: Wie bei den vorhergehenden Versuchen lässt sich bemerken, dass die schädliche Wirkung der Acetate im allgemeinen in höherer Acidität auffällig ist. Das Mass der Schädigung in höherer Acidität ist wieder je nach der Art der begleitenden Kationen verschieden, nämlich in der Reihenfolge $K<Na<NH_4<Ca$, wenn der pH-Wert kleiner als 6.2 ist. Für die Permeabilität der pflanzlichen Zelle gilt die Kationenreihenfolge $K>Na>Ca$, und daraus kann man sagen, dass, je schwerer eindringend das begleitende Kation ist, desto schädlicher Acetat sich aufweist. Dieses Ergebnis scheint für die oben erwähnte Annahme zu sprechen, nämlich dass ungleiches Eindringen des Anionen- oder Kationenanteils die intrazellulare Schädigung verursacht. Gegen die Erwartung, dass oft dem $NH_4$ sich Gelegenheit bietet, in die Zelle in der Form von gebundenem Ionenpaar einzudringen, ruft $NH_4$-Acetat verhältnismässig starke Schädlichkeit hervor. Obwohl dies gegen die Annahme zu sprechen scheint, so lässt sich dieser Widerspruch vielleicht durch schwache Neutralisationskraft des Ammoniaks erklären.

Bemerkenswert in den obigen Versuchen ist die Tatsache, dass in einer Lösung von pH 6.2 *Spirogyra*-Zellen etwas abnormer als bei pH 5.6 aussehen. Tatsächlich findet aber bei pH 5.6 eine fast unerkennbare schwache Chloroplastenquellung durch die Säurewirkung statt, und die

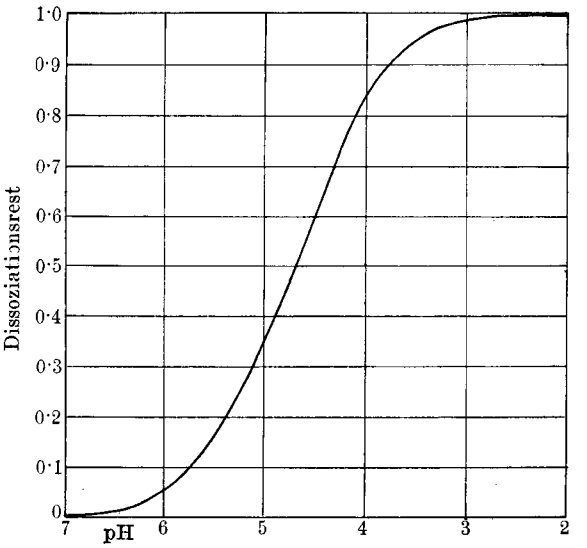
1) stärker geschädigt als bei $NH_4$-Acetat.

Elastizität des Chloroplasten ist dadurch schwach verloren gegangen, wobei keine Chloroplastentrennung erfolgt, während diese sonst schon bei pH 6.2 bemerkbar ist. Dieser Widerspruch wäre daher als nur scheinbar aufzufassen.

Ob analoge Auffassung der schädlichen Wirkung auch für die stark dissoziierbaren Salze giltig ist, lässt sich nicht sicher entscheiden. Da es aber, wie schon erwähnt, kaum möglich ist, die Elektrolyten klipp und klar in zwei Gruppen, stark und schwach dissoziierbare, einzuteilen, dürfte die oben erwähnte Erwägung auch bei anderen noch etwas stärker dissoziierbaren Salzen einigermassen in Betracht gezogen werden.

Die bisherigen Versuche sind unter der Annahme ausgeführt worden, dass die schädliche Wirkung der Essigsäure bzw. von Acetat hauptsächlich dem Säuremolekül zuzuschreiben sei. Nun möchten wir genauer entscheiden, ob dies tatsächlich der Fall ist oder daneben noch die $C_H$ als ein ebenso merklich wirksamer Faktor in Betracht gezogen werden muss. Die Menge des Essigsäuremoleküls bei verschiedenen pH-Werten, die eventuell durch Zusatz starker Säure reguliert werden, kann man nach der Formel des Dissoziationsrestes berechnen, und diese ist in Fig. 2 graphisch illustriert.

Fig. 2.




Hier ist es ersichtlich, dass im pH-Bereiche 6.2–4.5, wo die vorliegenden Versuche ausgeführt wurden, eine kleine Differenz des pH-Wertes einen ziemlich grossen Unterschied der Menge des Dissoziationsrestes d. h. des Säuremoleküls begleitet. Aus diesem Grunde ist es sehr notwendig, bei

derartigem Versuche Lösung mit exaktem und zwar beständigem pH-Wert herzustellen. Zu diesem Zwecke und gleichzeitig um die Molekülmenge der Essigsäure willkürlich regulieren zu können, wurden verschiedene Acetatgemische (n/50) verwendet.

| | (1) ccm | (2) ccm | (3) ccm | (4) ccm | (5) ccm |
|---|---|---|---|---|---|
| K- od. Na-Acetat(n/5) | 9.4 | 8.8 | 8.8 | 7.0 | 7.0 |
| Essigsäure(n/5) | 0.6 | 1.2 | 1.2 | 3.0 | 3.0 |
| KCl od. NaCl(n/5) | — | 10.4 | 0.8 | 12.2 | 2.6 |
| Verdünnt auf | 100 | 200 | 100 | 200 | 100 |
| pH | 5.8 | 5.4 | 5.4 | 4.9 | 4.9 |
| Konzentr. d. Essigsäure | n/50 | n/100 | n/50 | n/100 | n/50 |
| Mengenverhältnis des Essigsäuremoleküls | 1/4 | 1/4 | 1/2 | 1/2 | 1 |

Die totale Menge von K bzw. Na ist gleich bei allen Gemischen. Der pH-Wert dieser Gemische wird dank ihrer Pufferwirkung durch die ½ Verdünnung nicht merklich verändert.

Versuch 16.

Na-Acetat+NaCl 5/IX 1933 19°C.

| Nr. | pH | Konzentr. d. Essigsäure | Mengenverhältnis d. Säuremoleküls | Lösungsmenge (ccm) | nach 30 Minuten | nach 1 Stunde |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 5.8 | n/50 | 1/4 | 5 | *T*, normal | *T* |
| 2 | 5.4 | n/100 | 1/4 | 10 | normal, *T* | normal, *T* |
| 3 | 5.4 | n/50 | 1/2 | 5 | normal, *T*, *c'* | normal, *T*, *c'* |
| 4 | 4.9 | n/100 | 1/2 | 10 | normal, *T*, *T*(*C'*) | normal, *T*, *C'*, *C*+, *P''* |
| 5 | 4.9 | n/50 | 1 | 5 | *C*+, *P''* | *C*+, *P''* |

Versuch 17.

K-Acetat+KCl 5/IX 1933 19°C.

| Nr. | pH | Konzentr. d. Essigsäure | Mengenverhältnis d. Säuremoleküls | Lösungsmenge (ccm) | nach 30 Minuten | nach 1 Stunde |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 5.8 | n/50 | 1/4 | 5 | normal, *T* | normal, *T* |
| 2 | 5.4 | n/100 | 1/4 | 10 | normal, *T* | *T*, normal |
| 3 | 5.4 | n/50 | 1/2 | 5 | normal, *T* | *c'* |
| 4 | 4.9 | n/100 | 1/2 | 10 | normal | *c'*, *T*(*c'*) |
| 5 | 4.9 | n/50 | 1 | 5 | *C*+, *P''* | *C*+, *P''* |

Aus diesen Versuchen ist es ersichtlich, dass die Wirkung der Essigsäure bzw. von Acetat bei sauerer Reaktion hauptsächlich dem Säuremolekül zuzuschreiben ist. Natürlich kommt auch die Wirkung der $C_H$ und der begleitenden Kationen zustande, aber diese tritt in den Hinter-

grund zurück, indem sie durch die hervorragende Rolle des Säuremoleküls bedeckt ist.

### Antagonismus von Ca gegen die Säurewirkung

Die antagonistische Wirkung von Ca gegen $C_H$ ist bis heute von einigen Autoren an verschiedenen pflanzlichen sowie tierischen Materialien untersucht worden. In einer früheren Mitteilung (1922) habe ich bei *Spirogyra* diese Erscheinung bewiesen. In vorliegender Arbeit wurde der Antagonismus von Ca gegen HCl wieder bei *Spirogyra* untersucht.

Versuch 18.

20/IX 1932 19°C.

| | | |
|---|---|---|
| HCl (n/100) | 2 ccm | HCl .....n/500 |
| $CaCl_2$ (0.075 mol) | 1 ccm | $CaCl_2$ ..... 0.0075 mol |
| $H_2O$ | 7 ccm | pH = 2.6 |
| HCl (n/100) | 2 ccm | HCl .....n/500 |
| $H_2O$ | 8 ccm | pH .....2.6 |

| | nach 30 Minuten | nach 2 Stunden |
|---|---|---|
| ohne Ca | stark $C'$ | $C', T(C'), P''$ |
| mit Ca | normal | $C', T(C'), P''$ |

Selbst in einer ziemlich hohen $C_H$ (pH = 2.6) kann man die antagonistische Wirkung von Ca gegen H-Ionen bemerken. Aber diese Wirkung dauert nicht so lang, und der schädliche Einfluss beginnt erst allmählich zu überwiegen. Bei etwas niedrigerer Konzentration von HCl, d. h. bei einem etwas grösseren pH-Wert 3.0 tritt die antagonistische Wirkung noch deutlicher auf und selbst nach 2½ Stunden dauerte diese ziemlich unverändert fort. Dieses Verhältnis ist im folgenden Versuche ersichtlich.

Versuch 19.

20/IX 1932 19°C.

| | | |
|---|---|---|
| HCl (n/500) | 2 ccm | HCl .....n/5000 |
| $CaCl_2$ (0.075 mol) | 1 ccm | $CaCl_2$ .....0.0075 mol |
| $H_2O$ | 7 ccm | pH = 3.0 |
| HCl (n/500) | 2 ccm | HCl .....n/5000 |
| $H_2O$ | 8 ccm | pH = 3.0 |

| | nach 30 Minuten | nach 1 Stunde | nach 1½ Stunden | nach 2 Stunden | nach 2½ Stunden |
|---|---|---|---|---|---|
| ohne Ca | normal | fast normal | $C'$ | stark $C', P''$, normal | $C', C+, T(C'), P''$ |
| mit Ca | normal | normal | normal | normal | norm., sehr schwach $c'$ |

In den obigen Versuchen ist die Wirkung von $CaCl_2$ gegen HCl als die Ionenwirkung aufzufassen; daher handelt es sich in diesem Falle um Ionenantagonismus. Wir wissen aber darüber noch wenig, ob das Ca-Salz der schädlichen Wirkung einer schwachen Säure, so z. B. der Essigsäure, antagonistisch entgegenwirken kann. Vor kurzem haben CHALKLEY und DANIEL (1934) konstatiert, dass Milchsäure und Brenztraubensäure in Gestalt von Molekül auf die Teilung des Cytoplasmas von *Amoeba* hemmend wirken und dass Ca gegen diesen Einfluss antagonistisch wirksam ist.

Die hervorragende Wirkung der Essigsäure in Gestalt von Molekül haben wir aus den bisher mit *Spirogyra* ausgeführten Versuchen klar kennen gelernt. Nun ist es sehr interessant, die genannte antagonistische Wirkung von Ca gegen Essigsäure bei *Spirogyra* zu untersuchen.

Dass $CaCl_2$ bei *Spirogyra* unschädlich ist und ausserdem der Giftigkeit von anderen Alkalichloriden antagonistisch entgegenwirken kann, wurde schon in meiner früheren Arbeit (1933) festgestellt. Wie aus den obigen Versuchen ersichtlich ist, weist sich Ca-Acetat in höheren Aciditäten ($pH<6.2$) nicht nur nicht unschädlich bei *Spirogyra* auf, sondern noch giftiger als K-Acetat oder als Na-Acetat. Schon aus diesem Verhältnisse kann man bis zum gewissen Grade vermuten, dass Ca der Giftigkeit der Essigsäure antagonistisch nicht entgegenwirken kann, sondern dass ihr Vorhandensein überschüssiges Eindringen der Essigsäure verursacht. Diese Vermutung ist im folgenden Versuche zunächst mit Gemischen von Essigsäure und $CaCl_2$ bestätigt.

Versuch 20.

8/IX 1933 19°C.

| | (1) | (2) |
|---|---|---|
| Essigsäure | 0.5 ccm | 0.5 ccm |
| $CaCl_2$ (m/10) | — | 2 |
| $H_2O$ | 49.5 | 47.5 |
| pH | 3.6 | 3.7 |
| Konzentration der Essigsäure | n/1000 | n/1000 |
| Konzentration von Ca | — | n/250 |

| | nach 30 Minuten | nach 1 Stunde |
|---|---|---|
| 1 (ohne Ca) | normal, $T$, $T(C')$, $T(C+)$ | $T$, $T(C+)$, $T(C')$ |
| 2 (mit Ca) | $T$, $T(C')$, $T(C+)$, normal | $T$, $T(C')$, $T(C+)$ |

Zusatz von $CaCl_2$ weist nicht nur keine antagonistische Wirkung auf, sondern verstärkt die Schädigung, was auf dieselbe Weise erklärt werden

kann wie beim Versuche mit Ca-Acetat. Verglichen mit der antagonistischen Wirkung von $CaCl_2$ gegen HCl, die sich selbst in so hoher $C_H$ wie bei pH 3.0 bemerken lässt, kann man eine auffällige Abweichung bei Essigsäure erkennen.

Wir wenden uns nun der antagonistische Wirkung von $CaCl_2$ gegen Na-Acetat zu. In einer Na-Acetat-Lösung, welche durch Zusatz von HCl sauer gemacht ist, kommt Essigsäure mehr oder weniger in Gestalt von Molekül vor, daher kann $CaCl_2$ der Giftigkeit von Na-Acetat bzw. Essigsäure nicht antagonistisch entgegenwirken. Um diese theoretisch abgeleitete Vermutung nachzuweisen und zu untersuchen, wie Ca dem Na-Acetat in schwach alkalischer und sauerer Lösung entgegenwirkt, wurde folgender Versuch angestellt:

Versuch 21.

30/VIII 1932 22°C.

| | ccm | ccm | ccm | ccm |
|---|---|---|---|---|
| Na-Acetat (n/10) | 10 | 10 | 10 | 10 |
| HCl(n/100) | — | 1 | 6 | — |
| HCl(n/10) | — | — | — | 2 |
| $H_2O$ | 10 | 9 | 4 | 8 |
| pH | 7.4 | 6.6 | 5.7 | 5.1 |
| | | | | |
| Na-Acetat (n/10) | 10 | 10 | 10 | 10 |
| HCl(n/100) | — | 1 | 6 | — |
| HCl(n/10) | — | — | — | 2 |
| $CaCl_2$(m/10) | 0.4 | 0.4 | 0.4 | 0.4 |
| $H_2O$ | 3.6 | 8.6 | 3.6 | 7.6 |
| pH | 7.4 | 6.6 | 5.7 | 5.1 |

nach 1 Stunde

| PH | 7.4 | 6.6 | 5.7 | 5.1 |
|---|---|---|---|---|
| ohne Ca | *normal, T, T', T(C')* | *T, T(C')* | *P'', C+, T* | *P'' C+* |
| mit Ca | normal | *T* | *P'' C+* | *P'', C+*[1] |

In höherer $C_H$ war das Sachverhältnis, wie erwartet, ganz gleich dem Ergebnis des Versuchs mit Essigsäure, nämlich nicht nur kein Antagonismus, sondern es findet Verstärkung der Giftigkeit statt. Merkwürdig ist aber die Tatsache, dass Ca in schwach alkalischer und schwach saurer Lösung mehr oder weniger stark dem Na-Acetat antagonistisch entgegenwirkt. Dies scheint dafür zu sprechen, dass einerseits Ca in Gestalt von Ion der Giftigkeit des Na-Ions entgegenwirkt, und anderseits bei solcher

1) stärker als bei „ohne Ca".

$C_H$ die Wirkung des Essigsäuremoleküls nicht mehr so stark auftritt, wie in höherer $C_H$. Dass in noch höherer Alkalinität Ca aber nicht mehr gegen andere Kationen die antagonistische Rolle spielt, ist schon oben bewiesen worden.

Ueberblicken wir die mitgeteilten Versuchsergebnisse, so kommen wir zu folgenden wichtigen Schlüssen: Die antagonistische Wirkung, die durch das Ca-Ion gegen Na-Acetat getan wird, kommt nur gegen Ionen zur Geltung. Das Ca-Ion wirkt gegen die Giftigkeit der Ionen, aber verstärkt diejenige des Säuremoleküls. Die bisher festgestellte antagonistische Wirkung von Ca ist meistens als Ionenantagonismus zu betrachten, obwohl CHALKLEY und DANIEL (1934) einen Antagonismus von Ca gegen Säuremolekül festgestellt haben. Ob der aus den obigen Versuchen gezogene Schluss auch für anderen Versuchspflanzen und andere schwachen Säuren gültig sei, bedarf noch weiterer Untersuchungen. In biologischen Erscheinungen kommen aber viele organische Säuren und Basen zur Wirkung, deren Dissoziation durch die stärkeren Säuren (bzw. Basen) bedingt wird. Es ist selbstverständlich nicht richtig, anzunehmen, dass die Permeabilität des Protoplasmas für die Elektrolyten nur von deren Dissoziationszustande abhängig sei. Wenn dies aber bekanntlich der Fall ist, wie bei Essigsäure, ist es eine wichtige Anfgabe, die oben erwähnte Auffassung der Salzwirkung durch weitere Untersuchungen mit allgemeinen Gültigkeit zu bestätigen. Ob analoge Auffassung auch für starke Elektrolyten gültig sein kann, würde erst dann entschieden, nachdem diese Frage bei Gebrauch verschiedener schwachen Elektrolyten beantwortet worden ist.

## Zusammenfassung

1. Ausgehend von der Annahme, dass bestimmte Salzwirkungen auf das Protoplasma dem überschüssigen Eindringen des Säure- oder Basenanteils eines Salzes zuzuschreiben seien, wurde zunächst die Säure- und Basenwirkung auf *Spirogyra*-Zellen untersucht.

2. Diese Annahme fand eine experimentelle Bestätigung mit grosser Wahrscheinlichkeit, besonders bei den essigsauren Salzen.

3. Die schädliche Wirkung der Essigsäure, oder von Acetat in sauerer Reaktion, ist hauptsächlich auf die Rolle des Säuremoleküls zurückzuführen.

4. Zusammenkommen von Ca mit Essigsäure schwächt nicht die schädliche Wirkung der letzteren, sondern verstärkt sie eher.

5. Die antagonistische Wirkung von Ca-Salz gegen Essigsäure in Gestalt von Molekül kommt nicht zustande. Ca-Ionen wirken antago-

nistisch gegen die Giftigkeit anderen Ionen; es macht sich nämlich dabei nur der Ionenantagonismus geltend.

6. Diese ungünstige Rolle von Ca beim Zusammenkommen mit der Essigsäure könnte durch die oben erwähnte Annahme ungleichen Eindringens des Anionen- und Kationenanteils erklärt werden.

## Literaturverzeichnis

CHALKLEY, H. W. and DANIEL, G. E. (1934): The effect of certain chemicals upon the division of the cytoplasm in *Amoeba proteus*, with particular reference to salt antagonism and the interaction of salts and organic acids. Protoplasma, **21.**

DE VRIES, H. (1899): Ueber die Contraction der Chlorophyllbänder bei *Spirogyra*. Ber. d. d. Bot. Ges., **7.**

GICKLHORN, J. (1932): Interzelluläre Myelinfiguren und ähnliche Bildungen bei der reversiblen Entmischung des Protoplasmas. Protoplasma, **15.**

MENKE, W. (1934): Chloroplasten-Studien. Protoplasma, **21.**

SAKAMURA, T. (1922): Ueber die Selbstvergiftung der Spirogyren im destillierten Wasser. Bot. Mag. (Tokyo), **36.**

SAKAMURA, T. (1933): Beiträge zur Protoplasmaforschung an *Spirogyra*-Zellen. Journ. Fac. Science, Hokkaido Imp. Univ., Series V, **2.**

STERN, K. (1933): Pflanzenthermodynamik. Berlin.

WEBER, FR. (1933): Myelinfiguren und Sphärolithe aus Spirogyra-Chloroplasten. Protoplasma, **19.**