universität innsbruck
Universitäts- und Landesbibliothek Tirol

Universitäts- und Landesbibliothek Tirol

Ueber den Nachweis von Saponinen und anderen hämolytisch wirkenden Substanzen mit Hilfe der Blutgelatine

Riedl, Erna

[1930]

urn:nbn:at:at-ubi:2-2808

AUS DEM PHARMAKOGNOSTISCHEN INSTITUT DER UNIVERSITAET

INNSBRUCK.

Ueber den Nachweis von Saponinen und anderen hämolytisch wirkenden Substanzen mit Hilfe der Blutgelatine .

D i s s e r t a t i o n

von

Erna R i e d l .

UB INNSBRUCK
+C196958306

Ueber den Nachweis von Kornrade in Mehl und Brot.

Der Nachweis von Kornrade in Mehl wird bekanntlich durch die mikroskopischen Untersuchung und durch die Untersuchung auf Saponin geführt. Die mikroskopische Feststellung der charakteristischen Bestandteile der Samenschale ist zweifellos der einfachste und sicherste Nachweis. Ist das Mehl jedoch fein und die Menge der Kornrade eine geringe, so wird die mikroskopische Untersuchung schwierig und unsicher . In diesen Fällen wird an Stelle der mikrsokppischen Untersuchung oder zu ihrer Bestätigung der Nachweis des in der Kornrade enthaltenen Saponins herangezogen. (König,Abderhalden).

Das Kornradesaponin wird dabei aus dem Mehl in verschiedener Weise extrahiert oder isoliert, und dann mit Hilfe von Farbenreaktionen oder durch die Hämolysewirkung identifiziert. (König,Abderhalden,Okolow.) Im folgenden sollen nun zwei neue Verfahren beschrieben werden, mit denen sich der Nachweis von Kornrade im Mehl und Brot einfacher, empfindlicher und sicherer gestalten lässt, als dies nach den meisten der bisher üblichen Arbeitsweisen möglich war , Das eine Verfahren stellt eine

wesentliche Verbesserung des Saponinnachweises in Mehl dar, und erlaubt das Saponin in Mehl noch bei einer sehr grossen Verdünnung mit Sicherheit aufzufinden. Man muss sich aber auch bei diesem Verfahren genau so wie bei den bisher üblichen bewusst bleiben, dass man dadurch nur Saponin aber nicht Kornrade festgestellt hat. Allerdings treten die anderen Saponinhaltigen Ausreuter im Mehl an Häufigkeit und Menge hinter der Kornrade stark zurück, so dass im allgemeinen der Schluss vom Saponin auf Kornrade bei Mehluntersuchungen berechtigt ist. Das zweite Verfahren lässt neben dem sehr einfachen Nachweis des Saponins auch Teilchen des Samens mikroskopisch erkennen.

Die Isolierung und der Nachweis des Saponins erfolgt mit Hilfe der Kapillaranalyse im wesentlichen in der Weise, wie sie von Kofler, Fischer und Neweselny beschrieben wurden. Man kapillarisiert das in wässerige Lösung gebrachte Saponin mit einem Streifen Filtrierpapier, der in seinem unteren Teile an einer verengten Stelle eine Schranke von Cholesterin besitzt. Beim Aufsteigen der Flüssigkeit bleibt das Saponin an der Cholesterinschranke hängen, verbindet sich mit dem Cholesterin und kann nach Sprengung dieser Verbindung mit Xylol mit Hilfe von Blutgelatine nachgewiesen werden.

Man verfährt dabei in folgender Weise. 5g des zu untersuchenden Mehles werden mit 2o ccm Wasser versetzt und unter mehrmaligem Aufschütteln 5 - 2o Stunden stehen gelassen am besten im warmen Zimmer. In den meisten Fällen, wird man mit 6 Stunden das Auslangen finden, nur bei den stärksten Verdünnungen ist eine länger dauernde Maceration nötig; In diesem Falle kann auch statt reinem Wasser eine o,1 %ige Nipaginlösung verwendet werden, um ein Verderben der Mehlaufschwemmung zu vermeiden. Nach dem Filtrieren durch den Schleimfilter wird die meist noch trübe Flüssigkeit scharf zentrifugiert und lo ccm der überstehenden leidlich klaren Flüssigkeit erhalten. Es befindet sich darinnen ⅓ des Saponins aus 5g Mehl. Diese loccm werden in ein lo cm hohes und 4 cm weites zylindrisches Glas-gefäss gebracht. Ein 2o cm langer und 3 cm breiter Filtrierpapierstreifen wird an einem Ende auf o,8 bis 1 cm verengt in der Weise, dass die verengte Stelle 5 cm lang ist. Durch vorsichtiges Auftropfen von o,o5 - o.1 ccm einer 1%igen alkoholischen oder ätherischen Cholesterinlösung mit Hilfe einer ausgezogenen Pipette wird an dieser Stelle im Papier eine Cholesterinschranke erzeugt, die 3 cm vom Ende des Streifens entfernt, nicht breiter als o,7cm sein darf. Die so vorbehandelten Streifen werden in das zylindrische Glasgefäss gehängt , so dass das Ende der

verengten Partie bis auf den Grund des Glases in die Flüssigkeit eintaucht. Bedeckt wird das Gefäss mit 2 Objektträgern, so dass nur ein schmaler Spalt zwischen ihnen bleibt, durch den der Streifen herausragt. Be - quehmer ist eine Kunde mit einem 3 cm langen Spalt versehene Glasplatte, zu verwenden . Ist die Flüssigkeit aufgesaugt, was meist nach etwa 24 Stunden der Fall ist, dann wird der Streifen, auf 2 - 3 Stunden in destilliertes Wasser gehängt, wodurch die Cholesterinschranke gründlich durch das nachsaugende Wasser gewaschen wird. Es werden hiebei Verunreinigungen und was besonders wichtig ist, eventuell vorhandene hämolytische Stoffe, welche keine Saponine sind und sich daher nicht an Cholesterin binden, entfernt. Das in der Schranke gebundene Saponin wird durch das Waschen nicht tangiert, da das Cholesterid in Wasser unlöslich ist. Nach Trocknung des Streifens wird das schmale Stück abgeschnitten, 2 Stunden in möglichst wenig Xylol gekocht und in Aether gründlich ge - waschen. Nach Vertreibung des Aethers wird der Streifen in Blutgelatine gelegt. Die Herstellung der Blutgelatine und das Einlegen der Streifen geschieht in derselben Weise, wie es in der oben erwähnten Arbeit (Kofler , Fischer und Newesely) beschrieben wurde. Der dort er -

wähnte Zusatz von Phasphatpuffergemischen zur Gelatine ist bei den hier vorliegenden Untersuchungen nicht nötig, da beim Agrostemmasaponin der Einfluss der Wasserstoffionenkonzentration auf die Hämolyse ein geringfügiger ist. Da nun durch das Kochen mit Xylol das Saponin aus der Verbindung wieder in Freiheit gesetzt ist , kann es also in der Blutgelatine wirken. Man kann daher jenach der Menge des vorhandenen Saponins sofort oder erst nach Stunden eine Blutkörperchenfreie Zone , den hämolytischen Hof , gerade am Beginn der Cholesterinschranke makroskopisch feststellen . Dieser Hof zeigt meist die Form eines Halbkreisses. Mit Hilfe dieser Methoden gelang es mir Kornrade im Mehl in einer Verdünnung von 1:17.ooo nachzuweisen . Bei dieser Verdünnung war der Hof erst nach 2o Stunden sichtbar . Bei einer Verdünnung von 1:1o.ooo nach ca. 15 Stunden , bei 1:2.5oo nach einer halben Stunde . Durch Herstellung von Testmischungen und eventueller Verdünnung des zu untersuchenden Mehls, lässt sich eine annähernd quantitative Schätzung durchführen .

Im Brot könnte der Nachweis in derselben Weise erfolgen, da aber ein wässeriger Auszug des Brotes im Streifen schlecht steigt, ist es besser wenn man das

feingepulverte Brot (lo g) mit einer Alkohol-Chloroform-Mischung (2:1) dreimal je ¼ Stunde lang am Rückflusskühler extrahiert, die vereinigten Filtrate zur Trockene verdampft, den Rückstand in heissem Wasser löst und wie üblich kapillarisiert , Der Nachweis gelang hier bis zu einer Verdünnung von 1:8oo, die Hämolyse war nach 12 Stunden erkennbar.

Diese Art der Extraktion ist natürlich auch für Mehl anwendbar , die Empfindlichkeit des Nachweises ist nahezu dieselbe, wie bei der oben beschriebenen Extraktion mit Wasser.

Wenn der Gehalt des Mehles an Kornrade o,o5 - o.1% übersteigt, dann kann auch das zweite oben angedeutete Verfahren angewendet werden . Dieses Verfahren ist einfach und eindeutig, nicht nur für Saponin überhaupt, sondern für Kornrade als solche . Der Nachweis beruht auf das mit Hilfe der Hämolyse makroskopisch sichtbar gemachte Agrostemmateilchen im Mehl .

Ausgehend von der Erwägung das jedes im Mehl vorhandene Kornradeteilchen (in der Hauptsache der Embryo) Kraft seines hochwirksamen Saponins einen starken hämolytischen Hof hervorrufen müsste , wurde folgende Versuchsanordnung getroffen: 2 ccm verflüssigte Blutgelatine (mit etwa lo% Blut) werden auf einer Glasplatte

Format 9 x 12 in der Mitte ausgegossen. Diese Glas - platte liegt auf einer Kühlvorrichtung . Hierauf wird eine gewogene Menge des zu untersuchenden Mehls (o,o1 - 0,o2g) mit Hilfe einer Spachtel oder eines Siebes möglichst rasch auf der Gelatine verteilt, durch Umrühren mit der Spachtel schnell eine gleichmässige Verteilung des Mehles bewerkstelligt und die halb - flüssige Masse mit einer möglichst dünnen Glasplatte 9 x 12 bedeckt, Es wird somit der Zwischenraum zwischen beiden Platten gerade von der mit Mehl vermischten Blutgelatine ausgefüllt, die alsbald erstarrt. Nach ca. einer halben bis 1 Stunde wird die Platte in durchfal - lendem Licht mit freiem Auge oder mit der Lupe sorg - fältig durchgemustert. Bei Anwesenheit von Agrostemma kann man nun eine Anzahl von blutkörperchenfreien kreis - runden Stellen erkennen, welche meist den Durchmesser von 1 mm haben. Hervorgerufen werden diese Höfe jeweils durch in Mehl vorhandene Kornradeteilchen aus welchen das Saponin herausdifundiert ist und auf dem Wege durch die Gelatine Blutkörperchen gelöst hat . Sieht man das Präperat unter dem Mikroskop an, so kann man bei allen Höfen und das ist ausschlaggebend im Zentrum derselben irgendein Fragment des Samens sehen. Immer sind es die mit Aleuronkörnern und Fett erfüllten Zellen des Embryos und manchmal

Zellen des Endosperms mit den charakteristischen Stärkeschollen. Selten Teile der Samenschale. Es enthält nämlich der Embryo fast das ganze Saponin des Samens das Endosperm sehr wenig und es rufen daher nur die Zellen des Embryos die zu beobachtenden hämolytischen Höfe hervor. Durch diese wird also der Beobachter auf Agrostemmateilchen hingewiesen , die er dann mikroskopisch betrachten kann. Der vermehrte Blutzusatz zu der Gelatine (früher waren es 3%) hat darin seinen Grund, dass nämlich der Kontrast zwischen dem hämolytischen Hof und seiner Umgebung vermehrt wird, da die Blutkörperchen enger beisammen sind. Die Anzahl grosser Höfe ist abhängig von der Menge der vorhandenen Kornrade und von der Teilchengrösse des Mahlproduktes. Enthält das Mehl o,1% Kornrade so sind bei dieser Versuchsanordnung unter Verwendung von o,o5g Nullermehl va 6 Höfe sichtbar. Bei o,o25% sind es 3-4 Höfe. Es ist somit auch hier die Möglichkeit einer quantitativen Schätzung mit Hilfe von Testmischungen möglich.

Beim Brot ist dieses Verfahren nicht anwendbar. Wenigstens liess sich bei einem Brot das Kornrade im Verhältnis 1:8oo enthielt kein einziger hämolytischer Hof erkennen. Dies ist vermutlich auf zwei

verschiedene Ursachen zurückzuführen.

1.) wird nach den Angaben von Lehmann und Mori ein Teil des Agrostemmasaponins beim Brotbacken entgiftet. In Uebereinstimmung damit konnte ich bei der Untersuchung des Brotes mit Kapillaranalyse erst in einer Verdünnung von 1:8oo ein sicher positives Resultat erhalten, während in Mehl der Nachweis wie oben angegeben noch in einer Verdünnung von 1:17.ooo gelingt. Dies spricht auch dafür, dass wenigstens ein Teil des Saponins bei der Brotbereitung zerstört wurde.

2.) ist es sehr wahrscheinlich, dass das Saponin bei der Brotbereitung aus den Kornradeteilchen herausgelöst und in Brot verteilt wird, und infolgedessen an keiner Stelle mehr die zur Hervorrufung eines hämolytischen Hofes erforderliche Konzentration erreicht. Als Beweis für diese Vermutung dient folgende Tatsache. Im Brot waren einzelne Samenschalenteilchen mit anhaftendem Embryo makroskopisch zu erkennen. Diese wurden isoliert und in Blutgelatine gebracht. Es zeigte sich nun, dass nur wenige Partikelchen hämolytisch wirkten . Diese Hämolysewirkung war ausserdem sehr geringfügig und schwächer wie sonst.

Es lässt sich also mit dieser Methode leicht ein ziemlich eindeutiger Nachweis von Agrostemma im Mehl er -

bringen da bei Beachtung der im Innern des hämolytischen Hofes befindlichen Zellfragmente eventuell auch andere Ausreutersamen erkannt werden können.Dazu ist diese Arbeitsweise sehr einfach und in kürzester Zeit durchführbar.

Zusammenfassung.

Zum Nachweis von Kornrade in Mehl und Brot wird ein Verfahren beschrieben,dass auf der Isolierung des Saponins durch die Kapillarisation mit einem Filtrierpapierstreifen beruht,welcher eine Cholesterinschranke zum Auffangen des Saponins besitzt. Das dort zurückgehaltene Saponin wird durch Kochen mit Xylol in Freiheit gesetzt und mit Hilfe der Blutgelatine nachgewiesen.Es lässt sich bei dieser Methode Kornrade in Mehl noch in einer Verdünnung von 1:17.ooo nachweisen.

Für etwas höhere Konzentrationen empfiehlt sich ein noch einfacheres Verfahren,beruhend auf den mit Hilfe der Hämolyse makroskopisch sichtbar gemachten Agrostemmateilchen. Das zu untersuchende Mehl wird einfach mit Blutgelatine vermengt zwischen zwei Glasplatten ausgegossen und die entstehender hämolytischen Höfe beobachtet. Im Innern derselben sind die Zellfragmente der Kornrade sichtbar. Die Empfindlichkeit des Nachweises reicht mindestens bis zu o,o5% . Die quantitative Schätzung ist möglich.

L i t e r a t u r .

1.) J.König, Chemie d,Nahrungs-und Genussmittel Band III 2.Teil,Berlin,Springer 1914

2.) E.Abderhalden, Handbuch d,biolog.Arbeitsmethoden Abt.IV. Teil8,I.Urban u,Schwarzenberg 1923.

3.) Okolow, Zeitschr. für Untersuchung der Lebensmittel 55,157

4.) L.Kofler, R.Fischer, und H.Newesely , Arch. d.Pharm. u. Berichte d.D, Pharm.Ges. 1929.685, Heft 9.

5.) R.Fischer, Pharm.Monatshefte,9.1.1928.

6.) Lehmann und Mori Arch.f.Hygiene 9,247,(1889) zit. n. Kruskal Arbeiten d.Pharmakol.Instit,zu Dorpat. VI,S 89,(1891)

Nachweis von hämolytisch wirkenden Stoffen in Pilzen.

Es ist bekannt, dass in einigen Pilzen stark hämolytisch wirkende Substanzen vorkommen z.B. im Knollenblätterpilz. Die Hämolysewirkung wurde schon wiederholt zur Unterscheidung einzelner Pilze herangezogen,wobei man vor allem hoffte eine einfache Unterscheidungsmöglichkeit zwischen giftigen und essbaren Pilzen zu finden .

Die Hämolyseversuche wurden bisher in der Regel so durch geführt,dass man wässerige kochsalzhaltige Auszüge aus den betreffenden Pilzen herstellte und unter Zusatz von Blut auf Hämolyse prüfte . Die dunkle Farbe der Auszüge und die mit dem Blut häufig auftretenden Fällungen wirkten dabei sehr störend. Zu praktisch brauchbaren Ergebnissen haben diese Versuche bisher noch nicht geführt.

Esschien daher nicht aussichtslos mit Hilfe der Blutgelatine,bei der diese Schwierigkeiten wegfallen besser zum Ziel zu kommen. Diese Methode ist zweifellos empfindlicher und hat auch den Vorteil, dass nur kleine Mengen Untersuchungsmaterial notwendig sind.

Zu den nachstehenden Versuchen wurden hauptsächlich getrocknete Schwämme verwendet. Eine Ausnahme war Hypholoma fasciculare von dem auch frische Exemplare vorlagen

Es zeigte sich dabei, dass die getrockneten Exemplare des Pilzes schwächer hämolytisch wirkten , als die frischen. Aus einer Arbeit von Friedberger und Brossa geht hervor, dass die Pilzhämolysine sich gegen verschiedene Blutsorten auch verschieden verhalten. Bei meinen Versuchen habe ich ausschliesslich defibriniertes Rinderblut verwendet.

Um gleichzeitig eine Lokalisierung der Pilzhämolysine durchführen zu können wurden aus verschiedenen Teilen der Pilze Schnitte hergestellt und diese in ungefähr 3%iger Blutgelatine eingelegt. Die verwendete Gelatine war 8%ig und hatte eine Wasserstoffionenkonzentration von $p_H = 7.4$ Die Präparate wurden gleichzeitig mit einer Schale voll Wasser auf Kühlplatten gebracht und mit einer Glasglocke überdeckt, um sie in Wasserdampf gesättigter Atmosphäre zu halten, denn erst nach vielen Stunden konnte der Auftritt der hämolytischen Höfe beobachtet werden. Es ergaben sich dabei folgende Resultate.

Clavaria aurea Goldgelber Korallenpilz	+	◎	
Clavaria flava Gelblicher Korallenpilz	+	◎	nach 24 Stunden schwache Schwärze
Clavaria botrytis rötlicher Korallenpilz		◎	
Sparassis crispa Krause Glucke	+	◎	nach 24 Stunden schwache Schwärze
Calocera viscosa Klebriger Hörnling	+		deutliche Schwärze
Polyporus ovinus Schafeuter	+		schwache Schwärze
Polyporus confluens Semmelpilz	+	◎	deutliche Schwärze
Pholiota mutabilis Stockschwämmchen	+		nach 1 Stunde deutliche Schwärze
Armillaria mellea Hallimasch	+		schwache Schwärze
Lepiota procera Parasolschwamm	+		schwache Schwärze
Lactaria deliciosa Echter Reizker	+		schwache Schwärze
Lactaria vellerea wolliger Milchling			
Amanita muscaria Fliegenpilz	+		schwache Schwärze in den Lamellen
Hypholoma fasciculare büscheliger Schwefelkopf	+		deutliche Schwärze
Boletus bovinus Kuhpilz	Spur		
Russula alutacea Ledertäubling	(Spur)		
Paxillus atrotomentosus Sammtfuss Krämpling			
Boletus edulis Steinpilz	Spur		nach 48 Stunden schwache Schwärze in den Lamellen
Boletus luteus Butterpilz			
Boletus scaber Birkenpilz		◎	
Psalliota arvensis Schafchampignon	+		deutliche Schwärze
Psalliota campestris Wiesenchampignon	+	◎	schwache Schwärze
Boletus rufus Rothäuptchen			

Tricholoma terreus Erdritterling	+	◎	
Tricholoma rutilans rötlicher Ritterpilz		◎	
Tricholoma personatum lilastieliger Ritterpilz	+	◎	
Russula emetica Speiteufel	+		
Hydnum imbricatum Habichtspilz		◎	
Scleroderma vulgare Kartoffelbovist		◎	
Russula foetens Stinktäubling	+		
Amanitopsis vaginata Scheidenpilz		◎	
Gomphidius glutinosus Kuhmaul	(+)	◎	
Boletus suptomentosus Ziegenlippe		◎	
Lactarius volemus Brätling			
Cantharellus cibarius Pfifferling			
Polyporus perennis Dauer-Porling			
Riesenrötling			
Weisser Baumschwamm	+		
Grauer Baumschwamm			
Panterwulstling	+	◎	
Rhodosporus Prunulus Pflaumen-räsling	+	◎	
Paxillus involutus Kahler Krämpling	+	◎	
Lauchschwindling	(+)	◎	
Hydnum reparedum Rehpilz		◎	
Speisetäubling			
Inoloma traganus Lila Dickfüss			

Lycoperdon gemmatum Warzen Stäubling		
Hygrophorus ceracens Wachsgelber Säftling	(+)	◎
Lactaria torminosa Giftreizger		
Maronenröhrling		◎
Gebrechlicher Täubling	+	

Aus der Tabelle ergibt sich , dass bei viel mehr Pilzen Hämolyse eintrat als man erwartet hatte, In den meisten Fällen tritt sie aber erst nach 12 - 24 Stunden auf und zwar ist in der Zeitdauer kein Unterschied zwischen giftigen und essbaren Pilzen zu bemerken. Die kürzeste von mir beobachtete Zeit bis zur Hämolyseauftritt hatte sogar ein essbarer Schwamm und zwar Pholiota mutabilis mit einer Stunde ,

Auch in der Grösse der Höfe die nach Ablauf einer bestimmten Zeit festgestellt wurde ist kein Unterschied zu sehen. Bei jungen Schwämmen trat die Hämolyse früher auf als bei alten ,doch wurde der Umfang des Hofes bei den alten Schwämmen bedeutend grösser die Methode der Blutgelatine ermöglichte eine Lokalisierung der Pilzhämolysine. Die Hämolyse tritt nämlich bei den meisten Pilzen zuerst und am deutlichsten in den Sporenträgern

(Lamellen,Röhrchen,Stacheln) auf. Dies liess sich auch bei Amanita muscaria beobachten, der in keinem Teil mit Ausnahme der Lamellen (und da auch nur schwach) Hämolyse zeigte, Speziell wurde von diesem Pilz die Oberhaut untersucht , doch auch sie wirkte nicht hämolytisch. Aus den vorliegenden Versuchen ergibt sich ,dass die Giftigkeit der Schwämme und die Pilzhämolysine in keinem nachweisbaren Zusammenhang stehen. Bei der Untersuchung zeigten einige Schwämme eigentümliche in der Blutgelatine noch nicht beobachtete Ringbildungen , die manchmal gleichzeitig mit den Hämolysehöfen ,manchmal für sich allein auftraten .

Der Schwammschnitt ist von einer verdichteten Schichte umgeben in welcher die Blutkörperchen intensiver gefärbt sind, und dichter beieinander liegen, (ohne aber die für die Agglutination charakteristische Zusammenballung zu zeigen). Sie liegen auch in einer anderen Höhe als die unveränderten Blutkörperchen ausserhalb der Verdichtungszone. An der Berührungszone entsteht (vielleicht durch den Höhenunterschied) ein halb durchsichtiger Ring , in dem sich vereinzelte Blutkörperchen befinden .

In der Verdichtungszone befinden sich bei einigen Pilzen ausserdem noch ringförmig (konzentrisch) gelagerte sekundäre Verdichtungen , doch sind die Blut-

körperchen dieser Zone alle in gleicher Höhe.

Um die Entstehung dieser Ringbildungen erklären zu können, wurden folgende Versuche gemacht:

I.) 1. Doppelte Gelatineschichte

Blutgelatine wurde auf 2 Objektträger gleichmässig aufgestrichen und auf der Kühlplatte halb erstarren gelassen. Dann wurde ein Schwammschnitt auf den einen Objektträger gelegt und mit dem anderen überdeckt. Nach 48 Stunden trat Ausbildung der Verdichtungszone ein.

2. Einfache Gelatineschichte.

Blutgelatine wurde auf einem Objektträger gleichmässig verteilt und auf der Kühlplatte halb erstarren gelassen. Dann wurde ein Schwammschnitt darauf gelegt und mit einem Deckglas überdeckt. Die Ausbildung der Verdichtungszone erfolgte nach ungefähr 48 Stunden .

II.) Schwammauzüge .

a) o.5g goldgelber Korallenpilz wurde mit 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung ungefähr 12 Stunden unter öfterem Schütteln extrahiert. Dann wurde das Filtrat mit der gleichen Menge einer Blutaufschwemmung versetzt ; Die Farbe schlägt schnell in braun um .

b) o.5g Erdritterling wurden mit 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung ungefähr 12 Stunden unter öfterem Schütteln

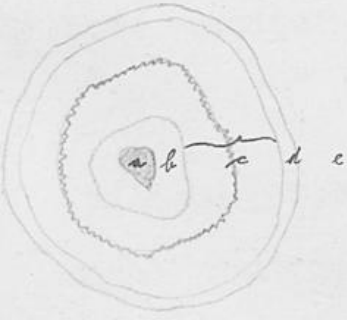
extrahiert . Das Filtrat wurde mit der gleichen Menge Blutaufschwemmung versetzt . Die Farbe schlägt in braun um und nach ungefähr 3 Stunden tritt Hämolyse ein .

III.) Schwammschnitte wurden in eine Blutlösung (ohne Gelatinezusatz) eingelegt. Nach kurzer Zeit während der das Präparat unter dem Mikroskop nicht verschoben werden darf , zeigt sich folgendes Bild:



Erdritterling.

a Schnitt, b Hämolytischer Hof , c unveränderte Blutschichte, d verdichtete Zone,e unveränderte Blutschichte .



Lilastieliger Ritterpilz.

a Schnitt, b hämolytischer Hof, c verdichtete Zone(Blutkörperchen sind stärker gefärbt, sie liegen alle in einer Höhe,sind aber zwei mal ringförmig in verschiedener Dichte angeordnet.) d halbdurchsichtige Zone (durch das Zusammentreffen von c und e.) e Blutkörperchen liegen in einer anderen Höhe als bei c , sie sind aber sonst normal.

IV.) Es wurden Schnitte durch Stoffe gemacht, bei denen eine ähnliche Ringbildung z.B. durch agglutinierend wirkende Substanzen erwartet wurde.

Semen Ricinus ---- zeigte nichts.

Gerbstoffdrogen Radix Tormentilla, Cortex Quercus zeigten nichts .

bestrahltes Cholesterin + Blutgelatine---nach 3 Stunden starke Hämolyse.

bestrahltes Cholesterin + Reisstärkegelatine ----- nichts

V.) Die Blutkörperchen in der Gelatine wurden durch Stärke ersetzt.

Schwammschnitt + Reisstärkegelatine pH = 7.4 ---- Verdichtungsring wie in der Blutgelatine .

(Eine Stärkekörnerfreie Zone , Verdichtungszone , eine Zone in der die Stärkekörner scheinbar in einer anderen Höhe liegen , dann normale Zone .)

Schwammschnitt + Kartoffelstärkegelatine ------ Verdichtungsring

(Eine ganz schmale Zone ohne Stärkekörner , Verdichtungs - zone, zweiter Stärkekörnerfreier Ring , aussen normal.)

Um etwas über die Eigenschaften der ring - bildenden Substanzen zu erfahren wurden nachstehende Versuche unternommen .

VI. Dialysierversuche ; Schnitte durch Schwämme wurden verschieden lange in Wasser , Alkohol und Aether gelegt, getrocknet, dann in Blut-(oder Reisgelatine)eingelegt. um zu sehen ob sich die wirksamen Substanzen der Pilze dadurch herauslösen lassen .

A Schnitte nach 3 Stunden Beobachtung

8 Std.ausgelaugt	H_2O	Alkohol	Aether
Blutgelatine	Hämolyse	Hämolyse	Hämolyse
Reisstärkegelatine	Stärkekörnerfreier Hof	Ringbildung	Ringbildung
26 Std.ausgelaugt	H_2O	Alkohol	Aether
Blutgelatine	-	Hämolyse	Hämolyse
Reisstärkegelatine	-	Ringbildung	Ringbildung

B Schnitte nach 24 Stunden beobachtet:

8 Std.ausgelaugt	H_2O	Alkohol	Aether
Blutgelatine	◎	◎	◎
Reisstärkegelatine	◎	◎	◎
26 Std.ausgelaugt	H_2O	Alkohol	Aether
Blutgelatine	◎	◎	◎
Reisstärkegelatine	◎	◎	◎

Die Ringe treten in Reisstärkegelatine früher auf und werden grösser als in Blutgelatine . Die Ringe der Schwammschnitte , welche man inAether gelegt hatte, werden bedeutend grösser als die von den Schwämmen ,welche man in Wasser legte aber auch grösser als von Schwämmen, die in Alkohol lagen und von frischen Schwämmen.

VII. Die Ringe bildende Substanz wird durch Erhitzen zerstört. Der bei 85° während zwei Stunden getrocknete Schwamm (Erdritterling) gibt mit Reisstärke- und Blut - gelatine eine Ringbildung .

Der bei loo° während 2 Stunden getrocknete Schwamm gibt weder mit Blut noch mit Reisstärkegelatine irgend - welche Reaktion.

VIII. Die Verdichtungsringe hatten eine gewisse Aehnlich - keit mit den sogenannten Liesegangschen Ringen. Um eine Diffusion festzustellen wurden folgende Versuche unter - nommen .

1.) Feste Blutgelatine wurde im Reagenzglas mit lo%igem Schwammauszug überschichtet, doch zeigte sich über Nacht keine Tiefenwirkung.

2.) Feste Reisstärkegelatine wurde im Reagenzglas mit einem lo%igen Schwammauszug überschichtet . Es bil - dete sich an der Grenzfläche eine durchsichtige Zone doch erfolgte keine weitere Tiefenwirkung .

IX. Ein kleines Stück eines Glycerin Suppositoriums wurde am Objektträger erhitzt ; bei 87° ist die Masse geschmolzen, dann wurde Reisstärke damit vermischt auf 75° abgekühlt, der Schwammschnitt eingelegt, doch zeigte sich über Nacht keinerlei Reaktion .

X. Opodeldock wurde am Wasserbade erhitzt, mit Stärke vermischt , dann ein Schwammschnitt eingelegt. Die Masse vertrocknet aber sehr schnell, bevor noch der Schwammschnitt wirken könnte.

XI. Kieselsäuregallerte: Die Masse wurde nach der Vorschrift von Ostwald hergestellt, doch nicht stehen gelassen bis sie zur Gallerte erstarrt, sondern noch im flüssigen Zustand mit Reisstärke vermischt, auf den Objektträger gebracht und mit den Schnitten belegt. Es zeigte sich auch über Nacht nichts.

XII. Agar: (Die Masse ist gut) .
o.5g Agar wird in 5o ccm physiologischer Kochsalzlösung in der Hitze gelöst, auskühlen gelassen und mit Blut versetzt . Die eingelegten Schwammschnitte zeigten Hämolyse , doch keine Ringbildung .

XIII. Schnitte von Erdritterling wurden zwei Stunden in Xylol gekocht; im Blutgelatine eingelegt, zeigte sich nach ungefähr 24 Stunden Hämolyse , doch keine Ringbildung.

XIV. a) Es wurde Gelatine mit Methylenblau gefärbt , und
b) Gelatine mit saurer Fuchsinlösung gefärbt.
Bei den beiden Präparaten zeigte sich um den Schwammschnitt herum eine Farbstofffreie Zone , in einiger Entfernung vom Schnitt eine Ringzone, die makroskopisch wie eine Verdichtung aussieht, mikroskopisch aber nicht erkennbar war.

XV. Ein Schwammschnitt wurde auf den Objektträger gelegt, mit Gelatine überschichtet und auf die Kühlplatte gebracht. Die Gelatine wird fest, doch bildet sich über dem Schwamm ein Flüssigkeitstropfen aus.

Zusammenfassung:

I, Die Giftigkeit der Schwämme lässt sich auf Grund des hämolytischen Hofes nicht feststellen.

II. Die eigentümliche Ringbildung wird durch Verflüssigung der Gelatine hervorgerufen. Die verflüssigenden Stoffe in den Schwämmen sind thermolabil und werden durch Erhitzen auf 100° unwirksam gemacht . Auch durch Kochen mit Xylol werden sie zerstört , während die Pilzhämolysine dadurch nicht ihre Wirksamkeit verlieren .

Literatur :

Friedberger u.Brossa:XV Zeitschr.f.Immunitätsforschung

B.Galli Vallerio,u.M. Bornard XXV,Zeitschr.f.Immunitätsforschung

Ueber den Einfluss der Belichtung auf den Saponingehalt von Blättern.

Die pflanzenphysiologische Rolle der Saponine ist noch nicht geklärt. Waage betrachtete die Saponine als Endprodukte des pflanzlichen Stoffwechsels und gab an, dass ein Verbrauch von einmal gebildetem Saponin nicht nachweisbar sei. Gegen diese Ansicht, sprechen aber die von mir festgestellten Verhältnisse in den keimenden Saponinpflanzen, wo ich in einzelnen Fällen eine deutliche Abnahme von Saponin feststellen konnte. Darüber im nächsten Abschnitt meiner Arbeit ausführlicher.

Eine Reihe von Tatsachen sprechen dafür, dass den Saponinen eine Bedeutung als Reservestoffe zukommen kann, ohne dass allerdings diese Funktion bisher exakt bewiesen werden konnte. Für die Auffassung als Reserve - stoffe spricht die grosse Menge der Saponine in manchen Speicherorganen z.B. in Gypsophila - Wurzeln 2o%- . In Schnitten durch getrocknete Wurzeln von Gypsophila Pani - culata sieht man oft alle Parenchymzellen mit Saponin - klumpen erfüllt. Nach Kobert besteht eine Analogie mit der Stärke . Die primäre Bildung der Saponine erfolgt

in den Blättern , sie können aber sekundär überall abgelagert werden. Zum Zwecke des Transportes in die Speicherorgane werden die Saponine wahrscheinlich ebenso wie die Stärke in Verbindungen von geringerer Molekulargrösse umgewandelt und dann am Endpunkte des Transportes von Neuem aufgebaut. Dabei können Saponine entstehen, die denen der Blätter nicht identisch sind. So wurde in den Rosskastanienblättern bisher nur ein Saponin nachgewiesen, in den übrigen Teilen der Pflanze aber mehrere verschiedene . Die Saponine in den Blättern des Guajakbaumes sind nicht identisch mit denen der Rinde. Für diese Auffassung spricht auch das Vorkommen von saponinspaltenden Fermenten in Saponinpflanzen, Van der Haar hält es bei Polyscias für wahrscheinlich dass die Blätter des Baumes in denen er ein saponinspaltendes Enzym nachweisen konnte, morgens früh wenig und schwach wirkendes Saponin anthalten, abends viel Saponin mit starker Wirkung . Er fand dass Saponin aus Polysciasblättern , die zu verschiedenen Zeitpunkten oder von verschieden alten Exemplaren gesammelt waren, grosse Unterschiede in der hämolytischen Kraft zeigten.

Es bestand daher die Möglichkeit, dass die

Bildung des Saponins in Analogie mit der der Stärke durch die Wirkung des Lichtes beeinflusst würde . Da diese Auffassung der Saponine als Reservestoffe experimentell noch nicht bewiesen waren, wurden die nötigen Versuche geplant. Doch schon anfangs zeigte sich , dass ein deutlicher Einfluss des Lichtes auf den Saponingehalt der Pflanzen nicht nachgewiesen werden konnte. Da dies mit der herrschenden Ansicht in Widerspruch steht, erklären sich die so zahlreichen Versuche , die aber eindeutig ergaben, dass die Pflanzen weder durch das Sonnenlicht , noch durch die Bestrahlung mit der Quarzlampe zur Erhöhten Produktion von Saponin veranlasst werden .

Die Tag- und Nachtversuche wurden in folgender Weise durchgeführt. Am Abend eines Sonnentages wurden von bestimmten und zwar schwach hämolytisch wirkenden Pflanzen , die man mit einem Kennzeichen versah, vor Sonnenuntergang,um ungefähr sechs bis halbsieben Uhr Blätter gesammelt und in Aether gelegt. Am nächsten Morgen wurden vor Sonnenaufgang um ungefähr sechs Uhr von derselben Pflanze möglichst gleichgrosse, der Stellung am Stengel nach mit der Abendserie möglichst gleichwertige Blätter gesammelt und auch in Aether gelegt . Wenn sich der Unterschied durch das etwas frühere Einlegen

der Abendserie nach einigen Tagen ausgeglichen hatte, wurden sich entsprechende Schnitte (je aus der Spitze oder vom Blattgrund) von der Abend- und Morgenserie hergestellt und in Blutgelatine gelegt. Für jedes Blatt wurde die Wasserstoffionenkonzentration verwendet, in der die Hämolyse des betreffenden Saponins langsamer auftritt, da dadurch die Unterschiede noch deutlicher erkennbar geworden wären . Dann wurde die Zeit bis zu Hämolyseauftritt und die Grösse der Höfe nach einer bestimmten Zeitdauer festgestellt .

Die Versuche ergaben folgende Resultate :

Tag- und Nachtversuche .

Erklärung der Zeichen : A =Abendserie (die Schnitte wurden aus den am Abend eines Sonntages gepflückten Blättern hergestellt.) M = Morgenserie (Die Schnitte stammen von den nach Ablauf der Nacht gesammelten Blättern).

Dianthus deltoides.

Puffer 8.4

A	M
9 '	lo'
lo '	14' schwach
lo '	16'
lo ' schwach	17' schwach
17 "	18' "
17 ' "	19' "
17 ' "	19' "
18 ' "	19' "
19 ' "	2o' "
23 ' "	2o' "
23 ' "	23' Spur
25 ' "	3o' "

Dianthus arenarius.

Puffer 8.4

A	M
55'	4o'
55'	55'
1 Std.	55'
1.5o "	1.3oStd.
2 Std.	2 "
2 "	2 "

Dianthus (weissblühend Gartennelke.)

Puffer 7,4

A	M
lo'	lo'
lo'	lo'
12'	12'
12'	12' schwach
14' schwach	12' "
14' "	14' "
15' "	2o' "
17' "	2o' Spur
2o' "	23' schwach
2o' "	23' "
2o' "	28' "
27' Spur	3o' Spür
3o' "	3o' Spur

Bei Dianthus waren die Höfe der Abendserie etwas grösser als die der Morgenserie (Gesehen nach einer halben Stunde.)

Primula auricula.

Puffer 7.4

A	M
2' schwach |||	3' |||
3' " ||	3' |||
3' |||	3' |||
3' |||	3' |||
3' |||	3' |||
3' |||	3' |||
3' |||	3' |||
4' |||	4' |||
4' ||	4' |||
4' ||	4' ||
4' schwach ||	4' schwach |||
4' " ||	5' " ||

Aesculus hippocastanum .

Puffer 7.4

A	M
1 Std. schwach	1 Std.schwach
1 " "	1 " "
1 " "	1 " "
1 " "	1 " Spur
1 " Spur	1 " schwach
1 "	1 " "
-	1 " Schwach
4 " Spur	1.1o "
-	4 Std. Spur

Paeonia.

Puffer 8.4

A	M
Spur	Spur
"	"
-	"
-	"

14 weitere Präparate zeigten auch über Nacht weder bei A noch M Hämolyse.

Saponaria.

Puffer 6.1	A	M
	19' schwach	14' schwach
	18'	15'
	21' "	14' "
	24' "	16'
	25' "	25'
	1o'	15'
	17' "	11' schwach
	18'	11 "
	29' Spur	15'
	11' schwach	1o'
	2o' "	22' schwach
	23'	29' Spur

Viola odorata.

Puffer 6.1	A	M
	3.3o Std.	3.3o Std.
	3.3o "	3.3o "
	3.3o "	3.3o "
	3.3o "	3,3o "
	3.3o "	4 "
	4 "	4 "
	4.3o "	4 "
	4.3o "	4 "

Rübe.

Puffer 6.1	A	M
	12 Schnitte zeigten über Nacht Hämolyse (Spur)	6 Std. "
		6 " "
		7 " "
		7 " "
		8 Schnitte zeigten über Nacht Hämolyse. "

Convallaria majalis.

Puffer 8.4

A	M
21' schwach	12' schwach
21' "	12' "
24' Spur	15' "
26' Spur	18' "
3o' Spur	19' Spur
3o' Spur	22' "
3o' "	25' "
3o' "	3o' "

Melandrium rubrum.

Puffer 6.1

A	M
4 Std. schwach	4 Std.
4 " "	4.3o " schwach
4.3o " "	4.3o " "
4.3o " "	4.3o " "
5.15 " Spur	4.4o " "
5.15 " "	4.4o " "
5.45 " "	5.15 " Spur
-	5.45 " "
6 " "	6 " "

Melandrium album.

Puffer 6.1

A	M
45' schwach	45' schwach
45' "	45' "
45' "	45' "
5o' "	5o' "
5o' Spur	5o' "
1 Std."	1 Std. schwach
1 " "	1 " Spur
1 " Spur	1 " "
1 " "	1 " "

Digitalis purpurea

Puffer 6.1

A	M
14' Hämolyse	13' Hämolyse
17' "	14' "
18' "	14' "
2o' "	15' "
22' schwach	17' "
22' "	17' "
23' "	22' "
24' "	22' Spur
24' Spur	26' Hämolyse
26'	3o'
3o' schwach	3o'
3o'	3o' Spur
42'	4o' "
42' Spur	4o' "
44' "	4o' "
45' "	42' "
45' "	43' "
1 Std."	45' "

Gypsophila acutifolia

Puffer 6.1

A M

Die Präparate zeigten keine Hämolyse. Auch in allen anderen Puffern untersucht fand ich in keinem Blattschnitt Hämolyse.

Um die Wirksamkeit der Bestrahlung feststellen zu können gab es noch eine zweite Möglichkeit und zwar die Bestrahlung der Pflanzen mit der Quarzlampe. Die Gewächse erleiden dabei aber leicht Schaden. Eine Bestrahlung über eine Stunde bringt die Blätter zum Verwelken , nur die Dianthusarten waren resistenter . Um eine Schädigung der Pflanzen zu vermeiden, wurde über sie als Schutz ein Kasten aus schwarzem Karton mit einem Regulierbaren Spalt gestülpt , durch den die Versuchsblätter herausgezogen werden konnten, so dass nur sie nicht aber die ganze Pflanze von den Strahlen der Quarzlampe getroffen wurden . Die Quarzlampe wurde auf eine Entfernung von 35 - 45 cm eingestellt. Blätter die gleich nach erfolgter Bestrahlung von der Pflanze abgepflückt wurden , wurden mit solchen verglichen , die ich von der unbestrahlten Pflanze und mehrere Stunden nach erfolgter Bestrahlung abgepflückt hatte . Die Blätter wurden nicht in Aether gelegt, sondern im frischen Zustand untersucht. Ebenso wie bei den Tag-und Nachtversuchen wurden schwach wirkende Saponinpflanzen verwendet und die Blätter in eine Blutgelatine eingelegt deren Wasserstoffionenkonzentration die Hämolysewirkung noch ausserdem verzögerte.

Dabei fand ich folgende Resultate :

Quarzlampenversuche :

Primula elatior.

Puffer 7.4

Unbestrahlt:		3/4 Std.lang bestrahlt.	
3'	III	3'	III
3'	III	3'	III
3'	II	3'	II
4'	II	3'	II
4'	II	3'	II
4'	II	3'	II
4'	II	4'	III
4'	I	5'	II
5'	II	5'	II
5'	II	5'	II
5'	I	6'	II
10'	I	11'	I

Blätter von der bestrahlten Pflanze 19 Stunden nach der Bestrahlung abgepflückt und untersucht:

3'	schwach III
3'	III
3'	III
4'	II
4'	II
4'	II
4'	II
6'	schwach II

Blätter von der bestrahlten Pflanze 24 Stunden nach der Bestrahlung abgepflückt und untersucht:

3'	III
4'	III
5'	III
6'	II
6'	II
11'	II
11'	II

Primula auricula.

Puffer 7.4

unbestrahlt	3/4 Std.lang bestrahlt.
3' III	3' III
4' II	3' II
4' II	3' II
5' II	3' II
1o' I	3' II

Blätter von der bestrahlten Pflanze 19 Stunden nach der Bestrahlung abgepflückt und untersucht:

3' III
3' III
3' III
3' III
3' III
3' III
3' III
4' III
4' III
4' III

Blätter von der bestrahlten Pflanze 24 Stunden nach der Bestrahlung abgepflückt und untersucht:

3' IIII
3' IIII
3' III
3' III
4' III
4' III
4' III
5' III

Dianthus.

Puffer 7.4

unbestrahlt	1 Std, lang bestrahlt.
1.3o St.	55' I
1.3o "	1.3oStd. I
2 "	2 "
2 "	
8 Blätter nach 2 Std.keine Hämolyse	9 Blätter nach 2 Std.keine Hämolyse.

Blätter von Dianthus 19 Stunden nach der Bestrahlung abgepflückt und untersucht :

	3o'
	3o'
	3o'
	35'
	5o'
	55'
	1 Std.
	1 "
	1.3o "
unbestrahlt	2 Std.lang bestrahlt
5o'schwach ‖	5o'schwach ‖
1.1o Std." ‖	5o' " ‖
1.3o " " ‖	1 Std." ‖
1.3o " " ‖	1. " ‖
2.3o " Spur	1.14 " " ‖
2.3o " "	1.15 " " ‖
2.3o " "	1.3o " " ‖
2.3o " "	2 " " ‖

Blätter 2o Stunden nach der Bestrahlung abgepflückt und untersucht .

	4o' ‖
	4o' ‖
	45' ‖
	1.3o Std. ‖
	1.3o " ‖
	2.3o " Spur
	2.3o " "
	2.3o " "

Efeu .

Puffer 1o	unbestrahlt	1 Std.lang bestrahlt.
	6' ‖‖	6' ‖‖
	6' ‖‖	6' ‖‖
	7' ‖‖	6' ‖‖
	7' ‖‖	7' ‖‖
	8' ‖‖	7' ‖‖
	8' ‖‖	8' ‖
	8' ‖	8' ‖
	9' ‖	1o' ‖

Blätter 19 Stunden nach der Bestrahlung abgepflückt und untersucht :

6' schwach ////
6' " ////
6' ///
7' ///
7' ///
7' ///
7' ///

Convallaria majalis.

Puffer 6.1

unbestrahlt		2 Std. bestrahlt	
6'	schwach ///	6'	//
6'	//	7'	//
7'	//	7'	/
7'	//	8'	//
8'	//	8½	/
9'	//	9'	/
9'	/	1o'	/
9'	/	11'	/
1o'	schwach //	11'	schwach /
11'	" /	15'	" /

Blätter 2o Stunden nach der Bestrahlung abgepflückt und untersucht :

8' /
8' /
8' /
1o' schwach /
1o' " /
11' " /
12' " /
14' " /
16' " /
25' Spur

Grösse der Hämolytischen Höfe gesehen nach einer halben Stunde .

Cyclamen persicum.

Puffer 1o

unbestrahlt	3/4 Std.bestrahlt.
2o'	13'
22' schwach	14'
22' "	22' schwach
45' Spur	38' "
48' "	4o' "

unbestrahlt	1 Std. bestrahlt
12'	12' schwach
12'	14' "
12'	14' "
15' schwach	15' "
15' "	15' "
15' "	15' "
2o' "	2o' "
2o' "	22' Spur
22' Spur	25' "

Blätter 5 Stunden nach der Bestrahlung abgepflückt in Aether gelegt , getrocknet und untersucht.

11'
12' schwach
12' "
14' "
14' "
14' "

Blätter 9 Stunden nach der Bestrahlung abgepflückt in Aether gelegt , getrocknet und untersucht.

12'
12'
12'
14' schwach
14' "
14' "

Zusammenfassung:

Um den Einfluss des Lichtes auf den Saponingehalt der Pflanzen festzustellen, wurden zahlreiche Versuche gemacht. Erschwerend wirkte dabei , dass die einzelnen Blätter der gleichen Pflanze im Saponingehalt grosse Unterschiede aufwiesen. Diese an und für sich interessante Beobachtung war aber für die geplanten Untersuchungen recht hinderlich und es mussten die Schwankungen genaue Beachtung finden. Doch zeigte sich eindeutig , dass weder durch das Sonnenlicht noch durch die Bestrahlung mit der Quarzlampe eine deutliche Zunahme an Saponin bei den Pflanzen nachgewiesen werden konnte.

Literatur:

L.Kofler, Die Saponine (1927)

Th. Waage, Pharm.Zentralh. 33,713 (1892)

A.W. van der Haar, Biochem. Zeitschr. 76,35o (1916)

Einfluss des Entwicklungsstadiums auf den Saponingehalt.

Um den Einfluss des Wachstums auf den Saponingehalt der Pflanzen festzustellen wurden nachstehende Versuche gemacht. Ich liess Samen von Saponin führenden Pflanzen zwischen feuchtem Filtrierpapier keimen und zwar in einer Porzellanschale , die mit einer Glasplatte bedeckt war und um sie vor dem Vertrocknen zu schützen . Keimlinge in verschiedenen Entwicklungsstadien in einer Grösse von 1 mm bis ungefähr 4 cm wurden unter den gleichen Bedingungen untersucht ; Die Schnitte wurden in dieselbe Blutgelatine eingelegt und die Zeiten bis zum Hämolyseauftritt von der kleinsten bis zur grössten Pflanze festgestellt und mit einander verglichen . Die Untersuchungen ergaben, folgende Resultate :

| Namen der Pflanze | Typus | Samen | | Keimlinge | | |

Namen der Pflanze	Typus		Samen		Keimlinge												ausgerechnete Pflanze
		Rot Rotyl			1 mm	2 mm	2 mm	3 mm	4 mm	5 cm	6 cm	6 cm					
Jandry	6·4	1' III	1' III	Embryo: 36'	Größe des Keimlings												
	7·4	2' II	3' II	Perisperm: –	Zeit bis zur Eintritt der Keimolyse im Kotyledo	5'	5'	5'	6'	4'	3'	3'	3'				
	8·4	5' I	5' I	Samenschale: –		III	III	III	III	III	III	III	III				
	10·	6' I	7' I	Früchtschale: 15'	in der Radicula	3'	3'	3'	4'	3'	3'	3'	3'				
				Pfeffer 7·4		II	III	III	III	III	III	III	III				
				Embryo: 33'	Größe des Keimlings	1 mm	2 mm	5 mm	1·1 cm	3·5 cm	4·5 cm	6 cm					
Juliane				Perisperm: –	Zeit bis zur Eintritt der Keimolyse im Kotyledo	–	4'	9'	4'	3'	3'	3'					
				Samenschale: –			II	II	II	III	III	III					
				Früchtschale: 11'	in der Radicula	4'	4'	5'	3'	3'	2'	2'					
				Pfeffer 7·4	Pfeffer 9·4	III	III	III	III	III	II	III					
		Rotyl		Embryo: 20'	Größe des Keimlings	1 mm	2 mm	5 mm	1·2 cm	4·3 cm	6 cm	8 cm	10 cm	14 cm	15 cm	16 cm	
Eskimo	6·4	3' III		Perisperm: –	Zeit bis zur Eintritt der Keimolyse im Kotyledo	11'	5'	3'	3'	3'	3'	3'	4'	4'	3'	3'	
	7·4	5' I		Samenschale: –		II	I	II	II	II	III	II	III	III	III		
	8·4	30'		Früchtschale: 10'	in der Radicula	5'	3'	3'	3'	3'	3'	3'	3'	3'	3'	3'	3'
	10·	–				II	II	III	III	III	III	IIII	IV	IV	IIII	III	IIII
				Pfeffer 6·4	Pfeffer 6·4												
		Rotyl		Embryo: 17'	Größe des Keimlings	2 mm	3 mm	5 mm	6 mm	1·5 cm	3·5 cm	3·7 cm	4·5 cm	5·3 cm			
Viktoria	6·4	6'		Perisperm: –	Zeit bis zur Eintritt der Keimolyse im Kotyledo	6'	6'	6'	5'	2'	2'	3'	2'	2'			
	7·4	15'		Samenschale: –		III	III	III	III	III	IV	III		III			
	8·4	30'		Früchtschale: 4'	in der Radicula	3'	3'	3'	3'	2'	2'	2'	2'	2'			
	10·	1 Keim				III	III	III	III	III	III	III	III	III			
				Pfeffer 6·4	Pfeffer 6·4												

Name der Pflanze	Typus	Samen		Keimlinge															ausgewachsene Pflanze	
Chenopodium quinoa	Rad. Kotyl. 6'1 5' 9' 7'4 9' 20' 8'4 8' 1 Blatt 10- 20' –	Embryo: 6'1 4' 7'4 10' 8'4 1 Blatt 10- 1'30 Blätter. Perisperm: – Samenschale: – Fruchtschale: –		Größe des Keimlings	1 mm	1 mm	1 mm	1 mm	5 mm	5 mm	5 mm	7 mm	4'5 cm	4'8 cm	4'7 cm	3'8 cm	5 cm	5'3 cm	6'5 cm	6'7 cm	6'1 7'4 8'4 10- Blatt Stengel über Mitte kein Hypokotyl. Wurzel 6'1 5' Hyp. II 7'4 15' Hyp. II 8'4 19' 1 10- 24' Typ.
				Zeit bis zum Eintritt der Keimlinge im Kotyledo	–	–	–	–	–	–	–	–	8' Hyp. 1	9' Hyp. 1	8' Hyp. 1	13' 1	9' 1	6' 1	5' II	4' II	
				in der Radicula	25' Hyp. 1	18' 1	23' Hyp. 1	21' 1	14' II	12' II	10' II	13' II	5' 1	6' 1	5' II	9' 1	6'	3' II	4' II	4' II	
				Größe des Keimlings	1 mm	1 mm	2 mm	1 cm	1'3 cm	5'2 cm	6'5 cm	8 cm	10 cm								Blatt: 6'1 7'4 8'4 10- über Mitte kein Hypokotyl.
Neuseeländer Spinat (Tetragonia expansa)	/	in allen Pflanzen untersucht. Kein Hypokotyl.		Radicula und Kotyledonen in allen Pflanzen untersucht zeigen kein Hypokotyl.																
Mesembryanthemum distallinum	/	in allen Pflanzen untersucht. Kein Hypokotyl.		Radicula und Kotyledonen in allen Pflanzen untersucht zeigen kein Hypokotyl.															Blatt Stengel 6'1 über Mitte 7'4 8'4 kein Hypokotyl. 10-	
Rheum Queen Victoria	/	in allen Pflanzen untersucht. Kein Hypokotyl.		Radicula und Kotyledonen in allen Pflanzen untersucht zeigen kein Hypokotyl.																
englischer Winterspinat	/	in allen Pflanzen untersucht. Kein Hypokotyl.		Radicula und Kotyledonen in allen Pflanzen untersucht zeigen kein Hypokotyl.																

Namen der Pflanze	Typus	Samen		Keimlinge															mögliche Pflanze		
					1	1	1	1	1	1	2	2'1	2'1	2'2	2'3	2'6	2'8	3	3'5			
Amaranthus		Embryo: Rot Orge	Größe der Keimlinge		mm	mm	mm	mm	mm	mm	cm	cm	cm	cm	cm	cm	cm	cm	cm			
		6'1 5' Hyp II	Zeit bis zum Eintritt der Keimlage: im Kotyledo		–	–	–	–	–	–					11'	12'	11'	9'	10'			
atropurpureus	Rot Orge	9'4 –																				
	6'1 4' II 5' II	8'4 –																				
	2'4 44' –	10'– –																				
	8'4 – –	Perisperm: –	in der Radicula		5'	7'	6'	6'	10'	11'	12'	16'	16'	16'	29'	24'	26'	18'	18'			
	10'– – –	Samenschale: –			II	II	III	II	II	I	Hyp I	Hyp I	Hyp I	Hyp I	Kpr	Kpr	Kpr	Hyp I	Hyp I			
			pfeffer 9'4																			
Amaranthus		Embryo: Rot Orge	Größe der Keimlinge		1	2	2	1'5	2	3		1	1	1	1	2	2'2	3'1	3'2	6'1	Blatt 20'	Stengel 16'
		6'1 5' III I			mm	mm	mm	cm	cm	cm		mm	mm	mm	mm	cm	cm	cm	cm	9'4	–	5 Blätter
candatus		9'4 –	Zeit bis zum Eintritt der Keimlage: im Kotyledo		–	–	–					–	–	–	–	6' Hyp I	5' Hyp I	7' Hyp I	7' Hyp I	8'4	–	–
		8'4 –																		10'–		
		10'– –																			Wurzel	Knospe (c)
		Perisperm: –																		6'1	14'	16'
		Samenschale: –	in der Radicula		10'	10'	11'	20'	28'	35'		3'	4'	5'	4'	12'	17'	15'	20'	9'4	1'30 Blätter	2 Blätter
					III	III		I	I	Hyp I		III	II	II	II	I	Hyp I	Hyp I	Hyp I	8'4	–	–
			pfeffer 9'4																	10'–		
Amaranthus		Embryo: Rot Orge	Größe der Keimlinge		1	1	1	4	2'3	2'7	3'2	3'2	3'2	3'6		2	3	3'2	3'5			
		6'1 4' III Hyp II			mm	mm	mm	mm	cm	cm	cm	cm	cm	cm		mm	mm	cm	cm			
monstrosus		9'4 –	Zeit bis zum Eintritt der Keimlage: im Kotyledo		–	–	–	–								–	–					
		8'4 –																				
		10'– –																				
		Perisperm: –	in der Radicula		18'	10'	11'	10'	15'	20'	15'	16'	16'	17'		10'	12'	27'	30'			
		Samenschale: –			I	I	Hyp I	Hyp I	Kpr	Kpr	Kpr	Kpr	Hyp I	Hyp I		II	II	I	I			
			pfeffer 9'4																			
Amaranthus		Embryo: Rot Orge	Größe der Keimlinge		1	2	2	3	3	3'2												
		6'1 4' III Hyp II			mm	mm	mm	cm	cm	cm												
sanguineus		9'4 –	Zeit bis zum Eintritt der Keimlage im Kotyledo		–	–	–															
		8'4 –																				
		10'– –																				
		Perisperm: –	in der Radicula		4'	4'	5'	17'	18'	20'												
		Samenschale: –			III	III	III	I	II													
			pfeffer 9'4																			

Name der Pflanze	Typus	Samen		Keimlinge																ausgewachsene Pflanze
Verbascum		Embryo –	Größe des Keimlings	1 mm	1 mm	1 mm	1 cm	1 mm	1 mm	2 mm	8 mm	1 cm	1 cm	1 cm	1 cm	1,7 cm	1,9 cm	1,8 cm	1,8 cm	
olympicum		Nährgewebe –	Zeit bis zum Eintritt der Keimlage: im Kotyledo	–	–	–	–	–	–	–	–	5'1	5'1	5'1	5'1	3'8	4'1	3'1	3'	
		Samenschale: 6'1 + 7'4 + 8'4 + 10'– +	in der Radicula				Keine Fäulnisse				23'	22'1	28' Pilze	27'1	27'1	15'1	20'1	14'1	20'	
			Pfeffer 7'4																	
Verbascum		Embryo –	Größe des Keimlings	1 mm	1 mm	1 mm	1 cm	2 mm	6 mm	1,0 cm	1,2 cm	1,5 cm	1,5 cm	1,5 cm	1,5 cm	2,2 cm				
thapsicum		Nährgewebe –	Zeit bis zum Eintritt der Keimlage: im Kotyledo	–	–	–	–	–	4'1	5'11	5'11	4'1	4'11	3'11	4'11	3'11				
		Samenschale: 6'1 + 7'4 + 8'4 + 10'– +	in der Radicula				Keine Fäulnisse		–	22'	24'	30'	30'	21'	18'	10'				
			Pfeffer 7'4																	
strygallis		Embryo: 6'1 + (10')	Größe des Keimlings	1 mm	1 mm	1 mm	1 mm	2 mm	2 mm	2 mm	8 mm	1 cm	1,5 cm	1,9 cm	2,1 cm	2,3 cm	2,7 cm	3 cm	3,8 cm	
		Nährgewebe –	Zeit bis zum Eintritt der Keimlage im Kotyledo	–	–	–	–	–	–	–	Keine Fäulnisse									
cerulea		Samenschale –	in der Radicula	1' III	1' IV	1' III	1' IV	1' III	1' III	1' III	Keine Fäulnisse									
			Pfeffer 6'1																	
Dianthus	Kotyled 6'1 5' II Hyf III; 7'4 4' II; 8'4 7' III; 10'– 4' II	Embryo: 6'1 7' II; 7'4 5' III; 8'4 7' III; 10'– 4' II	Größe des Keimlings	1 mm	2 mm	3 mm	7 mm	1 cm	1 cm	1,2 cm	1,4 cm	1,9 cm	3,2 cm							Blatt: } in allen Pfeffern nach 12 Tagen Stengel: } keine Fäulnisse
		Nährgewebe: –	Zeit bis zum Eintritt der Keimlage im Kotyledo			3' III	3'	5' IV	6' V	7' IV	5' IV	4' IV	3' III							Blüte: ♀ 6' III; ♀ 20' Hyf I; ♂ 7' IV; ♂ 10' I
barbadicus		Samenschale –	in der Radicula	2' III	3' III	3' III	3'	6' II	4' IV	4' II	7' II	5' II	6' II							
			Pfeffer 7'4																	Pfeffer 6'1

Z u s a m m e n f a s s u n g;

Aus den vorliegenden Versuchen lassen sich folgende Schlüsse ziehen . Es gibt immer einzelne Keimlinge , die sich in eine allgemeine Regel nicht einfügen lassen, sie sind entweder stärker oder schwächer als der Durchschnitt der Pflanzen , was sich auch in einem verschieden raschen Wachstum äussert. Aber es ist doch möglich drei grosse Gruppen nach ihrem Verhalten zu unterscheiden.

Die erste Gruppe zeigt ein Gleichbleiben des Saponingehaltes. Grössere wie auch die kleinsten Keim - linge haben dieselbe Zeitdauer bis zu Hämolyseauftritt und ungefähr gleiche Grösse des Hofes (Spinatarten) .

Die zweite Gruppe scheint erst beim Wachsen Sa - ponin zu bilden; z.B. Verbascumarten zeigten in der Radicula bei 1mm Grösse keine oder nur ganz schwache Hämolyse , während bei Keimlingen von ungefähr 1 cm Länge das Saponin nach ca. einer halben Stunde Hämolyse her- vorruft.

Die dritte Gruppe , deren auffallendster Vertreter Anagallis coerulea darstellt, zeigt eine bei fortschrei - tendem Wachstum deutliche Abnahme des Saponingehaltes,

(z.B. auch die Amaranthus - Arten) .

Das Verhältnis zwischen dem Saponingehalt der Radicula und des Kotyledos ist für die einzelnen Fälle verschieden .(So zeigten die Spinatarten stärkere hämolytische Wirkung in der Radicula als im Keimblatt . Bei Dianthus und Verbascum - Arten war das gerade Gegenteil der Fall . Es war deutlich eine stärkere hämolytische Wirkung den Kotyledonen zu zuschreiben .)