

1891. 72

BOTANISCHES INSTITUT
der k.k. Universität.

J. N^o 10 2 84

B

C 92/14

ÜBER DIE FORMEN DER BAKTEROIDEN

BEI DEN

EINZELNEN SPEZIES DER LEGUMINOSEN.

INAUGURAL-DISSERTATION,

DER

PHILOSOPHISCHEN FAKULTÄT ZU LEIPZIG

ZUR

ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE

VORGELEGT VON

DIETRICH MORCK.

LEIPZIG, 1891.

AKADEMISCHE BUCHHANDLUNG (W. FABER).

BOTANISCHES MUSEUM
der k. k. Universität.

J. N^o 11284

B

C 92/14

ÜBER DIE FORMEN DER BAKTEROIDEN

BEI DEN

EINZELNEN SPEZIES DER LEGUMINOSEN.

INAUGURAL-DISSERTATION,

DER

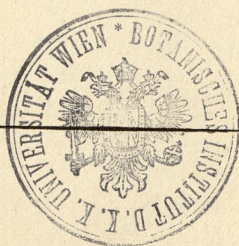
PHILOSOPHISCHEN FAKULTÄT ZU LEIPZIG

ZUR

ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE

VORGELEGT VON

DIETRICH MORCK.



LEIPZIG, 1891.

AKADEMISCHE BUCHHANDLUNG (W. FABER).

ÜBER DIE FORMEN DER BAKTERIEN

BEI DEN

EINZELNEN SPEZIES DER LEGUMINOSEN.

INANGURAL-DISSERTATION

VON

PHILOSOPHISCHEN FAKULTÄT ZU LEIPZIG

FÜR

ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE

VORGETRAGEN VON

DIETRICH MORCK.

LEIPZIG, 1861.

AKADEMISCHE BUCHHANDLUNG (W. FLEISCHER)

1
Seiner lieben Tante und Pflegemutter,

Frau **Caroline Jucho,**
geb. Morck,

in kindlicher Liebe und Dankbarkeit

gewidmet vom

Verfasser.

In neuerer Zeit ist wiederholt durch viele Forscher darauf hingewiesen worden, welche grosse Bedeutung die Wurzelknöllchen der Leguminosen für das Wachstum der Pflanzen haben. Es ist allseitig ihr günstiger Einfluss konstatiert und hervorgehoben, dass der eiweissartige Inhalt der Knöllchen der Pflanze in hohem Masse zu gute kommt.¹⁾ In diesen Anschwellungen der Wurzel finden sich mikroskopisch kleine Gebilde, welche man Bakteroiden genannt hat. Diese sind theils von kokkenartiger Form, theils einfache Stäbchen, theils von Y- oder T-artiger Form. Nachdem von verschiedenen Gelehrten nachgewiesen worden ist, dass besagte Bakteroiden sowohl bei den einzelnen Arten der Hülsenfrüchte eine abweichende Gestalt besitzen, als auch in einer und derselben Pflanze in den Formen eine Abwechselung zeigen, so scheint es von grossem Interesse zu sein, eine genaue Untersuchung über die Formen der Bakteroiden bei den einzelnen Spezies der Leguminosen und über deren Veränderung in derselben Spezies anzustellen. Die in den Knöllchenzellen mancher Pflanzen neben den Bakteroiden vorkommenden Fäden können hierbei nicht unberücksichtigt bleiben, weil sie mancherlei Beziehungen zu den Bakteroiden aufweisen.

Zuerst hat sich Woronin²⁾ im Jahre 1866 mit den Bakteroiden genauer beschäftigt. Ohne auf seine Untersuchungen näher einzugehen, theile ich in Bezug auf die nachfolgende Arbeit nur mit, dass er jene kleinen Gebilde für „Bakterien“ hält und ihnen die Bildung der Knöllchen zuschreibt.

Eriksson³⁾ spricht sie ebenfalls als bakterienartige Organismen

1) Besonders bemerkenswert ist die in jüngster Zeit erschienene Schrift von Frank, welche in umfassender Weise die Knöllchenbildung und ihre Vorteile zur Darstellung bringt. „Über die Pilzsymbiose der Leguminosen“, von Dr. B. Frank. Berlin, Parey 1890.

2) Über die bei der Schwarzerle (*Alnus glutinosa*) und der gewöhnlichen Gartenlupine (*Lupinus mutabilis*) auftretenden Wurzelanschwellungen. 1866.

3) Studier öfver leguminosernas rotknölar. Akademisk Afhandling. 1874.

an. Dieser Forscher bemerkt neben ihnen zuerst eigentümliche Fäden, welche er für Pilzhypphen ansieht. Diese Fäden, welche er „Hyphenpilz“ nennt, scheinen ihm die Ursache der Knöllchenbildung zu sein.

De Vries¹⁾ hält die „Bakterien“ für nebensächlich. Er sagt, die Knöllchen seien „adventive Wurzelzweige mit beschränktem Längenwachstum“, in welche die „Bakterien und Hypphen“ erst nachträglich eindringen. Obwohl er die Knöllchen sowohl für Eiweisspeicher, als auch besonders für Eiweissbildner ansieht, lässt er es doch ganz ausser acht, dass gerade die Bakteroiden die Hauptträger des Eiweisses der Knöllchen sind.

Prillieux²⁾ hat nachgewiesen, dass die Beweglichkeit der „Bakterien“ nicht als Grund für ihre Pilznatur genannt werden könne, sondern dass dieselbe vielmehr Molekularbewegung sei. Die Bakteroiden entwickeln sich nach ihm aus den im Bakteroidengewebe befindlichen Fäden, welche er als „Plasmodienstränge“ bezeichnet; er will sogar die „Bakterien“ aus diesen haben hervorgehen sehen. Die Fäden wie die Knöllchen sind ihm pathologische Erscheinungen.

Frank³⁾ unterschied in seiner ersten Arbeit über diesen Gegenstand in den Zellen des inneren Parenchyms der Knöllchen die oben genannten „Hypphen und die bakterienartigen Körperchen“, welche letztere er „Sprosszellen“ nennt. Die Spitze der Knöllchen zeigt ein Meristemgewebe, welches wie bei den Vegetationspunkten der Pflanzen aus rundlichen dünnwandigen Zellen besteht; in diesen liegen die „Hypphen“ am zahlreichsten. Die neben diesen vorhandenen „Sprosszellen“ haben stets eine molekulare Bewegung. Sie entwickeln sich aus den Fäden in der Weise, dass letztere allmählich dünner werden und schliesslich in die „Sprosszellen“ zerfallen.

Kny⁴⁾ nennt die Fäden Plasmodienstränge; die „Bakterien“, meint er, seien die Ursache der Knöllchenbildung.

1) Wachstumsgeschichte des roten Klees. Landwirtsch. Jahrb. 6. 1. 1877.

2) Sur la nature et sur la cause de la formation des tubercules, qui naissent sur les racines de légumineuses. Bull. soc. bot. de France 1879.

3) Über die Parasiten in den Wurzelanschwellungen der Papilionaceen. Bot. Zeit. 1879.

4) Zu dem Aufsatze des Herrn Prof. B. Frank „Über die Parasiten in den Wurzelanschwellungen der Papilionaceen.“ Bot. Zeit. 1879.

Schindler¹⁾ hält die Knöllchen für Pilzgallen, aber mit der Modifikation, dass das Vorkommen der „Pilze“ in den Knöllchen als eine Art Symbiose aufzufassen sei. Er sagt (1885): „Ich behaupte, dass die Wurzelknöllchen die Orte der Neubildung von Eiweiss sind.“ Er scheint also die Symbiose zu der Eiweissbildung direkt in Beziehung zu setzen.

Brunchorst²⁾ geht bei seinen Untersuchungen von der bis dahin meistens vertretenen Ansicht aus, dass die Knöllchen pilzlicher Natur seien. Aber er findet bald, dass er es hier mit einem normalen Organe der Pflanze zu thun hat. Die von Schindler 1884 aufgestellte Symbiosetheorie scheint ihm nicht begründet. Er sucht dann darzuthun, dass es sich bei den bakterienartigen Körperchen nicht um eine pilzliche Natur handle. Durch diese Auffassung werde auch die Schwierigkeit gehoben, dass „ein Parasit konstant als das einzige Eiweiss in einem eiweissbildenden Organe einer höheren Pflanze auftritt.“ Brunchorst schlägt vor, die kleinen Körperchen, welche er nicht für Bakterien hält, wegen ihrer Ähnlichkeit mit diesen „Bakteroiden“ zu nennen, ein Name, der seitdem im Gebrauch geblieben ist.

In der Auseinandersetzung über die Entwicklung der Bakteroiden erklärt der betreffende Verfasser, dass diese für natürliche Plasmagebilde der Pflanze selbst zu halten seien; er verwirft aber die von andern aufgestellte Behauptung, dass sie von den Plasmodiensträngen abstammen; diese Behauptung werde durch das Fehlen der Stränge bei manchen Pflanzen hinfällig gemacht. Die Stäbchen werden dann genauer beschrieben, und es wird betont, dass bei den verschiedenen Spezies auch eine Verschiedenheit der Formen auftritt, ja dass sogar bei einer und derselben Pflanze verschiedene Formen erscheinen. Die Knöllchen sind nach Brunchorsts Ansicht normale Organe, welche Eiweisssubstanz aufspeichern, aber nicht zugleich Eiweiss bilden.

Hellriegel³⁾ tritt dafür ein, dass die Bakteroiden Organismen

1) Zur Kenntniss der Wurzelknöllchen der Papilionaceen. Bot. Centralblatt. 1884. — Über die biologische Bedeutung der Wurzelknöllchen bei den Papilionaceen. Journ. f. Landwirtsch. 1885.

2) Über die Knöllchen an den Leguminosenwurzeln. Berichte der deutsch. bot. Gesellsch. 1885, III, 7.

3) Dieser hat seine Versuche zur Ermittlung der Stickstoffquellen, die der Pflanze zu Gebote stehen, veröffentlicht in dem „Tageblatt der Naturforscher-Versammlung in Berlin“ 1886.

sind und daher auch im Boden sich finden müssen, von dem aus sie in die Knöllchen gelangen. Die bisher noch ungelöste Frage über die Assimilation des elementaren Stickstoffs der „Atmosphäre“ glaubt er dadurch gefördert zu haben, dass er die Knöllchen als die Organe bezeichnet, in welchen die Assimilation des Stickstoffs durch Vermittelung der in ihnen enthaltenen „Mikroorganismen“ stattfindet.

Tschirch¹⁾ liess im folgenden Jahre 1887 eine grössere Arbeit über die Wurzelknöllchen der Leguminosen erscheinen.

Er schliesst sich der Ansicht Brunchorst's an, dass die Bakteroiden keine Organismen sind, und führt gegen ihre Bakteriennatur besonders an, dass die Korkhülle der Knöllchen ein Eindringen nicht ermögliche, und andererseits ihre künstliche Zucht noch nicht ausgeführt sei. Dass der Inhalt nicht Bakterien, sondern „geformte Eiweisskörper“ sei, wie es Brunchorst ausgesprochen hat, dafür zeuge auch der Vorgang der Auflösung und gerade die Auflösung zu einer bestimmten Zeit, nämlich zur Zeit der Samenbildung. Dieser Vorgang wird besonders in Bezug auf die einjährigen Pflanzen auch von praktischen Landwirten bestätigt. Ausserdem spricht gegen die pilzliche Natur der Umstand, dass die Sprosszellen in derselben Pflanze ungleiche Formen haben. Auch aus einem Bodenextrakt seien sie nicht zu kultivieren.

Des weiteren lässt sich dann Tschirch über die Widerstandsfähigkeit der Bakteroiden aus. In verschiedenen Reagentien, wie Salzsäure, Essigsäure, Salpetersäure, Ammoniak, Speichel nehmen sie keine Veränderung an. Verdünnte Kalilauge verwandelt sie in eine „durchsichtige Gallerte“. Sie sind wegen ihres geringen Gehalts an Schwefel und ihres hohen Gehalts an Phosphorsäure wahrscheinlich zu den Kaseinen zu rechnen.

Während in den Knöllchen bei keiner Leguminose die Bakteroiden fehlen, kann von den Plasmodiumsträngen nicht dasselbe behauptet werden. In der äusseren Rinde kommen letztere nie vor. Es sei nicht unwahrscheinlich, meint Tschirch, dass die Fäden sich auflösen, dann das Plasma sich differenziere und die Bakteroiden bilde, dass also das „Fadenstadium ein Vorläuferstadium zur Bakteroidenbildung“ sei, welches aber unter Umständen fehlen könne. Er sieht die Fäden ebenfalls als nicht von pilzlicher

1) Beiträge zur Kenntnis der Wurzelknöllchen der Leguminosen. Berlin. Gebrüder Borntraeger. 1887.

Natur an. Den Ursprung der Stränge erklärt er nach der von ihm aufgeworfenen Frage: „Da man ein unsichtbares Plasmodium in den Zellen als Vorstufe der Fäden annehmen müsste, wie soll dies in die Zellen gelangen?“ in der Weise, dass man die Fäden als Bildungen der Zelle selbst auffasse. Hervorgehoben wird noch, dass die Fäden in demselben Masse verschwinden, als die Bakteroiden sich vermehren. Bei der Besprechung der schnellen Entleerung der Knöllchen stellt er die Meinung auf, dass die Kleinheit der Bakteroiden dieselbe begünstige, dass die Bakteroiden in der sich in den Knöllchen vorfindenden Gestalt auch in die Pflanze bezüglich deren Wurzel übergehen.

Vuillemin.¹⁾ In einer 1888 erschienenen Arbeit dieses Forschers werden die Bakteroiden als einfache Differenzierungen des Plasmas bezeichnet, und die pilzfadenartigen Bildungen als der fremde Organismus erklärt. Bei allen Leguminosen, auch wo die Fäden nicht zu sehen sind, nimmt er den „Pilz“ an.

Beyerink²⁾ jedoch sieht die „Schleimfäden“ nicht für den Pilz an, sondern für Überbleibsel der Kerntonnen, welche nach der Zellteilung nicht vollständig zu dem Kern zurückkehren; der Pilz sei, meint er, in den Bakteroiden zu suchen. Diese entstünden aus kleinen Körperchen, welche sich im Plasma des Knöllchen-Meristems fänden und „Bakterien“ darstellten. Letztere seien aus dem Boden in die Wurzeln eingedrungen. Deshalb hält er die Bakteroiden für geformte „Eiweisskörperchen, welche die Pflanze zum Zwecke lokaler Eiweissanhäufung aus *Bacillus radicicola* züchtet, also Organe des pflanzlichen Protoplasmas, entstanden aus eingewanderten Bakterien“. Auch wird erwähnt, dass die Bakteroiden nicht allein in den Zellen des Knöllchens vorkommen, sondern auch in den gewöhnlichen Wurzelzellen.

Prazmowski³⁾ wendet sich besonders der Untersuchung der Fäden zu. Während er anfangs (1888) dieselben für ein Plasmodium ansieht, erfüllt mit sehr kleinen stäbchenförmigen Körperchen, bezeichnet er sie später (1889) als „hyphenähnliche Schläuche, die mit Bakterien dicht erfüllt sind“. Die Bakterien-schläuche, welche schon in den Wurzelhaaren ihren Anfang nehmen, lösen

1) Annales de la science agronom. franc. et étrang. Nancy 1888.

2) Bot. Zeit. 1888. Nr. 46—50.

3) Botan. Centralblatt. Nr. 46—48. 1888. Bulletin der Akademie der Wissenschaften in Krakau. Juni 1889. — Die Wurzelknöllchen der Erbse. Landwirtsch. Versuchsstationen XXXVII. 3 u. 4. XXXVIII. 1. 1890.

sich in den Knöllchen auf und erfüllen die Zellen mit den Bakterien; hierauf werden diese innerhalb des Plasmas zu den typischen Bakteroiden. Er bestätigt die schon vor ihm gemachte Beobachtung, dass die alten Bakteroiden in den Knöllchen durch die Pflanzen aufgelöst werden. Die Frage, ob die Bakterien in den verschiedenen Leguminosenarten einer einzigen Spezies angehören, lässt er unentschieden.

Frank.¹⁾ Dieser Forscher hat durch seine Untersuchungen in das Wesen der Fäden und der Bakteroiden bedeutende Klarheit gebracht. Er hat nachgewiesen, dass es bei den Leguminosen zwei Arten der Infektion giebt, entsprechend dem Vorhandensein der Fäden in den Knöllchen und ihrem Nichtvorhandensein. Die eine Art ist die vermittelt eines Infektionsfadens. Nach genauen Beobachtungen sind die aufeinander folgenden Stadien der Infektion diese. Man findet den Mikroorganismus in Form von Bakterien oder Kokken ausserhalb des Wurzelhaares, besonders an der Spitze desselben; von hier aus kann man ihn in's Innere des Haares verfolgen, indem zugleich von ihm ein Faden ausgeht, der sich bis zu den Rindenzellen fortsetzt, und in welchem die Bakterien in die Rindenzellen geleitet werden. Hier entstehen die ersten Anlagen des Knöllchens, die Zellen erhalten eine grosse Fähigkeit, sich zu teilen, und bald ist der Anfang des Knöllchens als Anschwellung zu erkennen.

Die zweite Art der Infektion geschieht ohne Fäden in der Weise, dass — besonders ist dies bei *Lupinus* und *Phaseolus* beobachtet worden — das Mikrob direkt in die unmittelbar unter der Epidermis liegenden, oft selbständig an die Oberfläche hervorstwachsenden Rindenzellen eintritt, also ohne Bildung eines Infektionsfadens, und die Infektion nnd mit ihr die Anschwellung hervorbringt.

In den infizierten Zellen geht der Faden ohne Grenze in den plasmatischen Inhalt derselben über; weil nun letzterer aus einem Gemenge von Plasma und Pilzzellen besteht, nennt Frank dieses Plasma „Mykoplasma“. Durch Behandlung mit Kali verschwindet dieses „Mykoplasma“, und kleine mikrokokkusartige Körperchen, welche den Bakterien im Zustande des Eindringens ähnlich sind, bleiben zurück.

1) Über die Pilzsymbiose der Leguminosen. Berichte der deutsch. bot. Gesellsch. VII, 8. 1889. — Über die Pilzsymbiose der Leguminosen. Berlin. Parey. 1890.

Die Fäden werden so gedeutet, dass sie bei den betreffenden Pflanzen als Bildungen der Zellen selbst dazu dienen, die Mikroben in die Zellen der wachsenden Knöllchen einzuleiten. Es wird also in Abrede gestellt, dass jene Fäden „Pilzfäden“ seien, vielmehr seien sie Bildungen des Plasmas der Nährpflanzen. Es steht also fest, dass ein mikrokokkusartiges Mikrob in alle Leguminosen eindringt, einestheils durch Fäden, andernteils unmittelbar. Dieses Mikrob findet sich bei der Untersuchung der Bakteroiden in diesen eingeschlossen wieder in einer Anzahl von zwei, drei, vier oder mehreren; die Bakteroiden selbst aber sind aus der Differenzierung des Plasmas hervorgegangen. Also sind „die Bakteroiden Eiweissgebilde der Leguminosen, die von ihnen zuerst erzeugt und dann wieder aufgelöst werden, in denen aber ein mikrokokkusartiges Mikrob eingeschlossen ist.“ Diese Erklärung wird gestützt durch verschiedene Versuche, bei denen Frank die künstliche Züchtung der Bakteroiden vollständig gelungen ist. Da mir solche Kulturen in gütigster Weise von Herrn Professor Dr. Frank behufs Untersuchung zur Verfügung gestellt wurden, fand ich auch die weiteren Angaben bestätigt, dass sich in der Gelatine bei der Entwicklung und Vermehrung der Schwärmer niemals die gegabelten und sonstwie getheilten Formen herausbildeten, welche den Pflanzen eigentümlich sind, sondern stets waren nur einfache Stäbchen von 1—3 μ Länge zu erkennen.

Im verflossenen Jahre hat Frank eine grosse Arbeit erscheinen lassen ebenfalls unter dem Titel: „Über die Pilzsymbiose der Leguminosen.“ In diesem Werk hat er alles, was bis jetzt über die Wurzelknöllchen der Leguminosen bekannt ist, ausführlich behandelt und aufs genaueste einer Besprechung unterzogen. Was ich bezüglich meines Themas aus der vorigen Schrift Frank's angeführt habe, ist hier nochmals mit klaren Beweisen genauer dargelegt, und neue Resultate sind bekannt gegeben. Ich habe noch folgendes daraus hervorzuheben. Die schon 1889 von Frank gemachte Beobachtung, dass die Bakteroiden nicht allein in Knöllchen und Wurzeln zu finden seien, sondern auch in den oberirdischen Pflanzenteilen, wird aufs neue bekräftigt. Das in den Bakteroiden eingeschlossene Mikrob, *Rhizobium leguminosarum*, wird als ein Spaltpilz bezeichnet, der in allen natürlichen Erdböden vorhanden ist. Durch besondere Ausscheidungen der Pflanze wird er von dieser aufgenommen, und durch Stränge, welche aus dem Protoplasma der Wurzelzellen gebildet werden, findet das *Rhizobium*

seine Fortleitung in das Innere der Pflanze. Es entstehen an der Wurzel Neubildungen in Form von Knöllchen, in welchen sich das Rhizobium ausserordentlich vermehrt, wobei das Mykoplasma sich in zahllose eigentümliche aus Eiweiss bestehende Formelemente, Bakteroiden, differenziert, in denen vorzugsweise die Kokken des Rhizobiums eingebettet sind.“ Am Ende der Vegetation tritt ein Zerfall der in den Bakteroiden angehäuften Eiweissmengen ein, und diese werden von der Pflanze resorbiert, während die Kokken unverändert zurückbleiben und beim Zerfall des Knöllchens wieder in den Erdboden gelangen. Die Verschiedenheit in den Formen der Bakteroiden bei einer und derselben Pflanze führt der Verfasser ebenfalls an.

Nachdem im vorstehenden mitgeteilt ist, was bisher über die Bakteroiden und die oft neben ihnen vorkommenden Fäden bekannt war, können wir unserer eigentlichen Aufgabe näher treten; diese besteht darin, genau festzustellen, einerseits, in welcher Form die Bakteroiden bei den Pflanzen verschiedener Spezies vorkommen, andererseits, inwieweit eine Abänderung der Form sich in einer und derselben Pflanze zu erkennen giebt, da bisher über diese Punkte keine allgemein umfassenden Forschungen gemacht worden sind. Die Untersuchungen über die Gestaltungsverhältnisse dieser Gebilde sind bis zu dem Stadium geführt worden, wo die im Knöllchen lagernden Eiweissstoffe durch Resorption zur Verwendung kommen, wo also der Inhalt der Knöllchenzellen verschwindet. Man hat angenommen, dass jede Leguminose ihre eigene Pilzspezies besitze, die im Boden schon vorhanden sein müsse. Ohne in dieser Sache eine Entscheidung treffen zu wollen, muss ich doch betonen, dass es ebenso wahrscheinlich ist, dass im Boden nur eine einzige Art des Rhizobiums vorhanden ist, aber Bakteroiden dort nicht vorkommen, sondern erst in ihren charakteristischen Formen von den betreffenden Pflanzenarten gebildet werden, nachdem das Rhizobium in diese eingedrungen ist.

Behufs Verständnisses des Folgenden müssen zuvor noch einige allgemeine Bemerkungen Platz finden. Ich möchte an zwei Beispielen (*Pisum* und *Trifolium*) die allgemeine Organisation eines Knöllchens mit besonderer Rücksicht auf das Auftreten der Bakteroiden beschreiben. Die Fig. 1 der Tafel I zeigt uns den Quer-

schnitt eines jungen Knöllchens von *Pisum sativum*. Die durch das Knöllchen gesprengte Epidermis der Wurzel ist noch in einzelnen Bruchstücken *a* am Rande des Schnittes sichtbar. Das Rindenparenchym ist durch zwei Reihen flach gedrückter Zellen *b* von den Bakteroidengewebe *c* getrennt. In der Figur erscheint rechts vom Bakteroidengewebe und ausserhalb desselben liegend ein Fibrovasalstrang *d*, durch den die wachsenden Partien des Knöllchens ihre Nahrungszufuhr erhalten. Diese Stränge zweigen (Fig. 2. Taf. I) von dem Wurzelstrang ab und verlaufen in dem Knöllchen zwischen dem Rindenparenchym und dem Bakteroidengewebe, wie aus dem peripherischen Längsschnitt näher (Fig. 2. Taf. I) zu ersehen ist, und endigen an den am stärksten wachsenden Teilen des Knöllchens, in dem Meristem bei *b* Fig. 3. Diese letztere Figur zeigt auch deutlich die durch das Knöllchen gesprengte Wurzelrinde *a*, an welcher auch die Wurzelhaare haften, durch welche sich auf den ersten Blick die Wurzel von dem Knöllchen charakteristisch unterscheidet. Den inneren Bau des Knöllchens macht uns der Längsschnitt eines Knöllchens von *Trifolium pratense* deutlicher (Taf. I. Fig. 4). Die Fibrovasalstränge *a* gehen von dem Wurzelstrang *b* aus, nehmen ihren Weg ausserhalb des Bakteroidengewebes *c* und hören auf im Meristem *d*. Letzteres unterscheidet sich von dem übrigen Gewebe sofort durch seine viel hellere Färbung. Die Zellen sind rundlich, während die des älteren Bakteroidengewebes *c* durch enge Lagerung schon eine etwas kantige Form bekommen haben. Das Bakteroidengewebe besitzt im allgemeinen eine grau-grünliche Färbung. Jedoch ist das Meristem stets sehr hell, nach den älteren Partien fortschreitend erscheinen die Zellen grau-grünlich, weiter grünlich-braun, und die ältesten Teile braun.

In den hellen Teilen des Bakteroidengewebes geben sich die Formen der Bakteroiden oft leicht zu erkennen, weil die Anzahl dieser noch sehr gering ist; in älteren Zellen dagegen, welche reichlich mit Bakteroiden erfüllt sind, ist ein Erkennen der einzelnen Formen nicht möglich. Um diese zu finden, legt man einen Schnitt in einen auf dem Objektglase befindlichen Tropfen Wasser und hebt ihn kurz darauf wieder ab. Es sind durch diese Operation eine grosse Menge Bakteroiden in dem Wasser liegen geblieben und nun getrennt voneinander gut zu sehen. Sie haben stets eine bedeutende molekulare Bewegung; diese besteht in einem Hin- und Herwenden auf der Stelle und in einem Auf- und Nieder-

tauchen in der Flüssigkeit, alles mit grosser Schnelligkeit, wodurch das Ganze ein Bild des Zitterns hervorbringt. In Wasser erkennt man die Bakteroiden am deutlichsten. In Kalilauge werden die Bakteroiden oft etwas aufgehellert und weniger deutlich, aber nie habe ich sie durch dieselbe verschwinden sehen.

Man kann sie auch noch auf andere Weise durch die Methode der Tinktion, der Betrachtung unterziehen. Jedoch werden sie in Farbstofflösungen nicht deutlicher, da sie in lebendem Zustande nie eine Färbung annehmen; sind sie dagegen getötet, so färben sie sich leicht. Auf einem Deckgläschen wird ein Schnitt mit der Nadel ein paar Mal hin und her bewegt. Man lässt dann an der Luft trocknen und zieht das Gläschen behufs Tötung der Bakteroiden zwei oder drei Mal schnell durch die Flammen des Bunsenschen Brenners. Darauf wird ein Farbstoff zugesetzt, und es tritt eine schöne Färbung der kleinen Körperchen ein.

Was nun die Färbbarkeit anlangt, so sah ich keinen erheblichen Unterschied in der Färbung gegenüber anderen eiweissartigen Substanzen. Ich habe Färbungen versucht nach der Methode, wie sie Fraenkel¹⁾ angibt, mit Alaunkarmin, Gentianaviolett und Jodkaliumjod; es tritt durch diese Doppelfärbung bei den Bakterien eine gegen das Plasma verschiedene Färbung ein, bei den Bakteroiden war dieselbe nicht nachzuweisen. Zur Aufbewahrung der gefärbten Präparate können dieselben in Kanadabalsam eingeschlossen werden. Die beste und einfachste Methode aber, um die Bakteroiden zu färben und so aufzubewahren, ist die Zimmermann'sche durch Ammoniak-Fuchsin. Dies wird hergestellt, indem man Fuchsin in Alkohol auflöst und diese Lösung mit Ammoniak versetzt, bis sie gelblich-braun erscheint; eine solche Lösung hält sich, wenn der Stöpsel der Aufbewahrungsflasche gut schliesst, etwa 10 Tage. Die Deckgläschen erhalten nach dem Erhitzen, welches zugleich ein Befestigen der auf ihnen liegenden Bakteroiden bezweckt, einen Tropfen der Lösung, welche durch Verdunsten an der Luft bald eine dunklere Farbe annimmt. Hält man diese für dunkel genug, so spült man das Gläschen in Wasser ab und lässt an der Luft trocknen. Darauf wird durch das Mikroskop geprüft, ob die Färbung gelungen ist; ist sie zu dunkel, so spült man noch einmal in Wasser nach; ist sie zu hell, so lässt man einen Tropfen Ammoniak-Fuchsin

1) Grundriss der Bakterienkunde. Prof. Dr. Carl Fraenkel. 2. Aufl.

nochmals einige Sekunden einwirken. Nach dem Trocknen wird das Präparat in Kanadabalsam aufbewahrt. Nicht minder, als die Methode der Aufbewahrung von Präparaten, ist folgende zu empfehlen. Man bringt die Bakteroiden in das Tröpfchen Wasser auf dem Deckglas und lässt an der Luft trocknen. Ohne irgend eine weitere Behandlung und ohne Einbettung wird nun das Deckglas auf dem Objekträger mit Lack an den Seiten befestigt und verschlossen. Einen kleinen Vorzug hat diese Methode vor der Behandlung mit Ammoniak-Fuchsin; wenn nämlich auch durch Erhitzen die Bakteroiden nur sehr wenig einschrumpfen, so ist es doch angenehmer, sie in ihrer ganzen Grösse zu behalten. Letzteres ergibt das blosse Trocknen an der Luft; ausserdem behalten sie eine sehr starke Lichtbrechung, wodurch sie stets gut erkennbar bleiben. Derartig getrocknete Präparate habe ich schon mehrere Monate liegen, ohne dass sie sich verändert hätten.

Ferner ist noch das Verhalten der Bakteroiden gegen Säure zu erwähnen. Weder Schwefelsäure, noch Salpetersäure, noch Salzsäure oder Essigsäure bringen irgend eine Veränderung an ihnen hervor, auch nicht in ihrer Bewegung. Diese letztere lässt nicht allein in Säuren, sondern auch in Wasser in einiger Zeit nach und hört endlich ganz auf.

Nach diesen Vorbemerkungen wollen wir nunmehr dazu übergehen, die Bakteroiden in ihrer Entwicklung bei verschiedenen Gattungen der Leguminosen genauer zu betrachten. Da es ausserdem für die Untersuchung der Bakteroiden von grosser Wichtigkeit ist, zu wissen, ob die betreffende Leguminosenart überhaupt Knöllchen besitzt, ebenso an welchen Stellen der Wurzel, und in welcher Grösse sie sich vorfinden, so werden auch die morphologischen Verhältnisse der Knöllchen in dem Folgenden gebührend berücksichtigt und eingehend besprochen werden.

Papilionaceae.

A. Phylobeae.

I. Sophoreae.

1. *Virgilia lutea*. Der Boden, auf dem die mir zur Verfügung stehenden Pflanzen gewachsen waren, war Sand mit starkem Humusgehalt. Von den etwa zwölf mit Vorsicht ausgegrabenen Exemplaren hatte kein einziges irgend eine Knöllchenbildung; die Pflanzen waren zwei- bis dreijährig und gut entwickelt. Es ist

anzunehmen, dass hier der Humusgehalt des Bodens der Knöllchenbildung ungünstig gewesen, wie ja auch Frank auf Humusboden schwächere Knöllchenbildung gefunden hat.

II. Loteae.

a. Genisteae.

2. *Genista anglica*. Die untersuchten Pflanzen waren einige Jahre alt. Die Knöllchen sassen nie an der Hauptwurzel oder an stärkeren Nebenwurzeln, sondern stets an dünnen Würzelchen, sehr oft an der Stelle, wo diese aus den grösseren Wurzeln entspringen. Die Grösse der Knöllchen beträgt etwas mehr, als einen Stecknadelknopf; es waren lauter diesjährige Knöllchen, aus früheren Jahrgängen waren keine zu entdecken. Macht man durch ein solches Knöllchen einen Längsschnitt, so erhält man ein Bild, in dem sehr verschiedene Formen von Bakteroiden vorkommen. Die wimmelnden Körperchen, die man hier erhält, stammen theils aus der Spitze des Knöllchens, theils aus der Mitte, theils aus der Basis desselben. Da wir nun für unsere Untersuchungen diese verschiedenen Formen auseinander halten müssen, so verfahren wir in der Weise, dass wir von der Spitze des Knöllchens aus nach seiner Basis zu succedane Querschnitte machen. Hierdurch erhalten wir in genauer Aufeinanderfolge die einzelnen und charakteristischen Formen der einzelnen Partien, sowie einen Überblick über ihr gegenseitiges Zahlenverhältnis.

Wir finden nun, dass in den jüngsten Theilen des Knöllchens dieser Pflanze wenig Bakteroiden vorhanden sind, in den älteren dagegen viele. Ihre Formen (Taf. I, Fig. 6) sind theils einfache, theils gegabelte Stäbchen. Charakteristisch aber ist bei ihnen die Verdickung an einem ihrer Enden. In der Figur sehen wir ausserdem einige Kugeln von $0,3-0,5 \mu$ Durchmesser. Dieselben halte ich für Kokken; sie sind stets am Vegetationspunkt des Knöllchens zu finden und treten zurück mit der fortschreitenden Ausbildung von Stäbchenformen; in den letzteren sind dann bei den meisten Pflanzen kleine Einschlüsse von gleicher Grösse, wie jene Kugeln, zu bemerken. Bei dieser Pflanze sind am Vegetationspunkt die kleinen Kugeln in nur geringer Zahl wahrzunehmen, dagegen im Verhältnis dazu viele Stäbchen; letztere lassen bei dieser Pflanze die kugeligen Einschlüsse nicht erkennen. Die Stäbchen haben eine Grösse von $1-3,5 \mu$. Die grösseren Formen kommen meistens in den mittleren Partien gut ausgebildeter Knöllchen oder bei

noch jungen Knöllchen in dem Teile des Bakteroidengewebes vor, welcher der Wurzel zugekehrt ist; in diesen Teilen des Knöllchens sind die Bakteroiden auch am zahlreichsten. Sind die Zellen des Bakteroidengewebes schon ältere, so sieht man die Stäbchen wieder in kürzerer Form und geringerer Zahl. Von den kürzeren Stäbchen bis zu $1,5\ \mu$ finden sich, wie auch bei der folgenden Pflanze, einige in den eigentlichen Wurzelzellen vor.

3. *Genista tinctoria*. Die Knöllchen waren an dieser mehrjährigen Pflanze wenig zahlreich, meist von gekrümmter länglicher Gestalt und etwa 5 mm hoch, die Verbindungsstelle zwischen Knöllchen und Wurzel war ziemlich breit. Ein Querschnitt durch den Vegetationspunkt des Knöllchens zeigt sehr wenig Bakteroiden, und zwar von $1,5\ \mu$ Länge; neben ihnen ist sehr viel körniges Plasma vorhanden. In den folgenden Schnitten nimmt die Menge dieses sehr ab, und die Zellen enthalten zugleich nur grosse Stäbchen von $2,5$ — $3\ \mu$ (Taf. I, Fig. 7 a) mit mehr oder weniger deutlichen Einschlüssen. Die Formen sind einfache, ungegabelte Stäbchen. In älteren Teilen des Knöllchens nehmen die einzelnen Stäbchen an Masse ab (Fig. 7, β u. γ), und auch ihre Zahl vermindert sich.

4. *Cytisus laburnum*. Die vorliegende Pflanze war einige Jahre alt; die Knöllchen waren in jungem Zustand klein und kugelförmig. Diese Gestalt behielten sie im weiteren Wachstum lange bei, und endlich nahmen sie bei einer Grösse von 2 mm ein etwas plattgedrücktes Aussehen an; vielfach sassen sie so dicht bei einander, dass sie eine Traubenform bildeten. Der Übergang vom Knöllchen zur Wurzel wird von einem ganz schmalen Teile hergestellt. — An dieser Pflanze sieht man beim ersten Querschnitt durch die jüngsten Gewebe des Knöllchens, dass in dem Meristem nichts als kleine Kugeln zu finden sind (Taf. I, Fig. 8 a). Allmählich treten in den folgenden Schnitten Stäbchen auf von etwa $1,2\ \mu$ (Fig. 8 b), welche sich nun schnell verlängern bis zu $2,4\ \mu$ (Fig. 8 c) und deutlich einzelne Einschlüsse zeigen. Es verdicken sich auch die Enden einzelner und beginnen sich zu gabeln; diese Gabelung schreitet mit dem Längenwachstum vorwärts (Fig. 8 d) welches letzteres bei etwa $3,5\ \mu$ (Fig. 8 d) aufhört; bald darauf verbreitern sich die Stäbchen und zeigen auch noch deutlich Einschlüsse (Fig. 8 e). Hier aber tritt ein neues Verhalten gegenüber Reagentien ein. Während an den Bakteroiden Fig. 8 a bis d durch Jod oder Anilinfarben keine Färbung hervorzubringen war, nehmen die Formen in Fig. 8 e so

wohl durch Jodkaliumjod eine schwache Gelbfärbung an, als auch eine Färbung durch Anilin, was auf eine in ihnen vorgegangene Veränderung hinweist. — Es wird hier nochmals hervorgehoben, dass diese Reaktionen an frischen in Wasser liegenden Schnitten gemacht wurden, die vorher keinerlei anderweitige Behandlung wie z. B. Erhitzung oder Tötung der Bakteroiden erfahren hatten. Wo letzteres vorgenommen wurde, ist es bei den betreffenden Pflanzen ausdrücklich gesagt. — Die folgenden Schnitte zeigen, wie die Stäbchen schwächer lichtbrechend erscheinen, aber dafür stark lichtbrechende Kugeln besitzen (Fig. 8f); diese unterscheiden sich aber von denen im Anfang (Fig. 8a) dadurch, dass sie erstens viel grösser sind, zweitens durch Jodkaliumjod eine intensive gelbe Färbung annehmen, in Wasser aber sind sie ganz farblos. Ebenso färben sich diese Kugeln sehr leicht durch Eosin, welches bei lebenden Bakteroiden nie eine Färbung hervorbringt. Das Jod deutet darauf hin, dass die Kugeln aus plasmatischer Substanz bestehen. In Fig. 8f sehen wir in einem Stäbchen bei *a* einen Einschluss, der eine längliche Form hat, im übrigen aber sich ebenso intensiv färbt, wie die Kugeln. Da nun ausserdem mit dem Grösserwerden der Kugeln bez. der länglichen Einschlüsse das Abnehmen der Helligkeit der übrigen Bakteroidensubstanz gleichen Schritt hält, so ist wohl als wahrscheinlich anzunehmen, dass sich die Substanz der Stäbchen in den Kugelformen konzentriert. Ob diese Kugeln nun als solche von der Pflanze resorbiert werden oder zu diesem Zweck noch in einen flüssigen Zustand übergehen, ist nicht zu entscheiden. Jedenfalls weisen die ferneren Querschnitte keine dieser Kugeln mehr auf, und die Zellen lassen an ihrer Stelle unförmige Stäbchen bis zu 8μ erkennen (Fig. 8g). Dieselben scheinen Überbleibsel derjenigen Bakteroidensubstanz zu sein, welche von den Kugeln nicht verbraucht und deshalb zurückgelassen wurde; vielleicht sind es mehrere lose zusammenhängende Körper, eine Färbung durch Jod oder Eosin tritt bei ihnen nicht ein. Ferner sehen wir hier auch als Einschlüsse die ehemaligen Kokken wieder, dieselben scheinen sich also noch in den Formen Fig. 8f aufgehalten zu haben oder vor der Konzentration der Stäbchensubstanz ausgewandert zu sein. Die unförmigen Stäbchen nun, Fig. 8g, legen sich allmählig zu mehreren an einander und ballen sich fest zusammen, sodass endlich nur viele Konglomerate, aber keine Stäbchen mehr zu sehen sind. Diese Massen färben sich durch Jod oder Eosin; aber bald verschwinden sie aus

den Zellen, und ihren Platz nehmen viele kleine Stäbchen von $1,5 \mu$ ein und neben ihnen zahlreiche Öltropfen. Letztere waren bisher im ganzen Knöllchen nicht zu sehen.

Was die Wurzel betrifft, so findet man dort sehr wenige Bakteroiden, und zwar von kleiner Form; Öltropfen oder die erwähnten Kugeln (Fig. 8f) sind nicht vorhanden.

β. Trifolieae.

5. *Medicago sativa*. Die untersuchte Pflanze besass eine starke, etwa 80 cm lange Wurzel, und die Knöllchen kamen bis 17 cm. unter der Erdoberfläche vor. Dieselben sind oval und mit einem schmalen Teil aufsitzend. Sie werden doppelt so gross, als die von *Trifolium pratense*. In späterer Zeit nehmen die Knöllchen beider Pflanzenarten eine grössere Längsstreckung bis zu 5 mm an. — Die Bakteroiden treten in den Zellen der Knöllchen von *Medicago sativa* sehr zahlreich auf. Sie sind in jüngeren Zellen Stäbchen bis zu 3μ , in älteren Teilen des Bakteroidengewebes werden sie sogar 7μ lang (Taf. II, Fig. 1a). In ihnen sind zahlreiche Einschlüsse sichtbar, welche dicht gelagert sind, sodass sie oft wie ein zusammenhängender heller Streifen erscheinen, eben so wie bei der folgenden Pflanze. In der Form der Stäbchen machen sich die einfachen Stäbchen als an einem Ende verdickte Keulen bemerkbar, die gegabelten als Y- und T-Formen. In alten Knöllchenpartien sind diese grossen Bakteroiden verschwunden, und nur kleine einfache Stäbchen zu sehen (Fig. 1b) mit einigen kleinen Kugeln. Letztere bleiben, nachdem auch die kleinen Stäbchen die Zellen verlassen haben, allein zurück. Es scheinen dieselben Kugeln zu sein, welche in den Stäbchen als Einschlüsse erkennbar waren.

6. *Medicago lupulina*. Die Knöllchen waren von derselben Gestalt, wie die von vorhergehender Pflanze, und nicht sehr zahlreich.

Ihr Inhalt zeigt in seiner Entwicklung eine Abweichung von derjenigen bei der vorigen Pflanze. An der Spitze des Knöllchens sind wenige kleine Bakteroiden, der grösste Teil des Zellinhalts besteht aus körnigem Plasma. Bald aber tritt dies an Menge sehr zurück, und die Zellen füllen sich mit zahlreichen Bakteroiden an, welche $2,4 \mu$ lang sind und später bis $4,5 \mu$ (Taf. II, Fig. 2a). Diese besitzen, wie die Stäbchen von *Medicago sativa*, viele kugelige Einschlüsse, jedoch wenig deutlich. Ihnen folgt eine grosse runde bez. ovale Form (Fig. 2b), welche teils einfach, teils doppelt konturiert erscheint. Der von der doppelten Kontur gebildete Rand

lässt anfangs eine im Verhältnis zur Mitte sehr starke Lichtbrechung erkennen, ohne aber eine Differenzierung zu zeigen. Diese tritt nachher auf, indem der vorher zusammenhängende Kranz von einzelnen kleinen Kugeln unterbrochen wird. Diese vermehren sich bald (Fig. 2c) und nehmen zum Teil eine grössere Form an. Je mehr ihre Masse zunimmt, desto mehr verschwindet der doppelt konturierte Ring (Fig. 2c), und desto mehr nimmt die Lichtbrechung des übrigen Körpers ab. Endlich fehlt die grosse runde Form in den Zellen ganz, und nur jene grossen Kugeln sind zu sehen (Fig. 2d), die meistens zu mehreren, wie sie sich ursprünglich ausgebildet haben, aneinander hängen. Ihr starkes Lichtbrechungsvermögen nimmt nach einigen Querschnitten schnell ab, und es scheint, dass sie von der Pflanze resorbiert werden. Endlich fehlen sie ganz, und es schwimmen viele kleine Kugeln in den Zellen umher, wahrscheinlich die ehemaligen Einschlüsse der Stäbchen (Fig. 2e).

7. *Trigonella foenum graecum*. Die Pflanze war gut entwickelt. Die Knöllchen waren in geringer Zahl, aber gut ausgebildet. Zuerst klein und oval wachsen sie auf ihrer breit aufsitzenden Basis sehr in die Länge. An ihrer Spitze teilen sie sich zuweilen und erscheinen etwas abgeplattet. — In dem Meristem des Knöllchens finden sich viele Plasmafäden und wenige Bakteroiden, in den älteren Zellen dagegen viele Bakterioden und wenig Plasmafäden. Dass von letzteren nicht etwa einige durch die Bakteroiden verdeckt wurden, davon habe ich mich durch Behandlung der Zellen mit Kalilauge überzeugt, welche die Fäden sehr schön zum Vorschein bringt. Fig. 3b ist eine Zellpartie aus der Mitte eines frischen und gut entwickelten Knöllchens; sie zeigt, dass in Zellen (α), welche grosse Fäden besitzen, wenig Bakteroiden vorhanden sind, während in solchen, wo die Fäden sehr zurück treten (β), die Bakteroiden fast die ganze Zelle einnehmen. Was die Stäbchen betrifft, so überwiegt die einfache ungegabelte Form, die Gabelung ist selten (Taf. II, Fig. 3a); die Einschlüsse sind zahlreich und deutlich zu erkennen. Die Grösse beträgt anfangs etwa 1,5 mm, später 3 bis 5,4 μ (Fig. 3a).

8. *Melilotus officinalis*. Ein 2 $\frac{1}{2}$ Monate altes Pflänzchen zeigte einige sehr gut ausgebildete Knöllchen, welche sehr breit waren und an der Spitze fingerartige Fortsätze hatten. Diese Gestalt liess sich jedoch an einem anderen zweijährigen Exemplar nicht wahrnehmen. Vielmehr waren hier die jungen Knöllchen kleine

Ovale, welche sich später vergrösserten, aber nicht teilten. Die jüngsten Zellen des Knöllchens haben sehr wenig Stäbchen, meist noch kleine Kugeln (Taf. II, Fig. 4 a). Wenn die Stäbchen sich vermehren und grösser werden, besitzen sie oft eine etwas gekrümmte und an einer Seite verdickte Gestalt (Taf. II, Fig. 4 b); nachher (Fig. 4 c) gabeln sie sich zum Teil und werden gegen $5\ \mu$ lang. Die Einschlüsse sind auch bei ihnen gut zu sehen. In alten Zellen des Knöllchens treten die grossen Stäbchen zurück, bis zuletzt nur noch kleine Formen und reichliche Mengen von ehemaligen Einschlüssen übrig sind.

9. *Melilotus coerulea*. Das mir vorliegende Exemplar war noch jung, besass aber nicht, wie das $2\frac{1}{2}$ Monate alte von *Melil. offic.*, breite Knöllchen, sondern zahlreiche kleine kugelig geformte; dieselben sassen nie an der Hauptwurzel, sondern stets an den Nebenwurzeln. — Die Zellen des Knöllchens enthalten ähnliche Stäbchen, wie diejenigen der vorigen Pflanze. Nur werden sie etwas länger, $5,5\ \mu$ (Taf. II, Fig. 5), und haben selten gegabelte Form; ausserdem sind die Einschlüsse schwer zu erkennen.

10. *Trifolium pratense*. Des Rotklees geschah bereits Erwähnung in der Besprechung von *Medicago*. Die Knöllchen sind anfangs klein und werden nachher länglich.

Wir werden zunächst ein junges Knöllchen genauer untersuchen.

Es entstehen erst kleine einfache Stäbchen von $0,8\ \mu$, nachher viele gegabelte von $1-3\ \mu$ (Taf. II, Fig. 6 a) mit deutlichen Einschlüssen. Die Stäbchen verbreitern sich bedeutend und nehmen flaschenförmige Gestalt an (Taf. II, Fig. 6 b). Diese Form nimmt einen sehr grossen Teil des Bakteroidengewebes ein. Darauf erscheinen sie in etwas kürzerer bez. grösstenteils Kugel-Form (Fig. 6 c). Bald tritt eine doppelte Konturierung ein, und in dem von dieser gebildeten Kranze werden einzelne kleine Kugeln sichtbar (Fig. 6 d). Diese vermehren und vergrössern sich, so dass sie wie bei α zuweilen durch peripherische Lagerung sogar die Umrissform beeinflussen. Wie aus Fig. 6 e ersichtlich, verschwindet endlich die doppelte Kontur, und die die Kugeln umgebende Substanz wird heller; die Kugeln schwimmen schliesslich frei umher (Fig. 6 f). Die noch vorhandenen blassen Formen (Fig. 6 f, β) haben offenbar den grössten Teil ihrer Masse an jene Kugeln abgegeben; in ihnen sind noch einige kleine Kugeln zu sehen, die vielleicht Mikroben sind. Denn sie verhalten sich gegen Reagentien wie Bakteroiden, wogegen die

grossen Kugeln sowohl in freiem Zustande, als auch während ihres Aufenthalts in den grossen Formen durch Jodkaliumjod eine intensive Gelbfärbung annehmen. Als besondere Reaktion ist noch zu erwähnen, dass die Flaschenformen unter Fig. 6*b* durch Kalilauge nicht angegriffen werden, dagegen diejenigen unter Fig. 6*f*, β und die grossen blassen Kugelformen unter Fig. 6*e* schnell durch Kalilauge verschwinden; die neu gebildeten Kugeln bleiben erhalten. Später erscheinen langgestreckte schmale und sehr schwach lichtbrechende Formen (Fig. 6*g*), welche wohl die Überbleibsel und Abkömmlinge der ehemaligen Bakteroiden sind. Sie verschwinden bald wieder, und an ihre Stelle treten neue kleine Stäbchen.

Betrachten wir nun ein älteres Knöllchen, so sehen wir dieselbe Grösse der Stäbchen wie vorher, aber keine gegabelten, sondern nur einfache Formen (Taf. II, Fig. 7*d*). Diese verbreitern sich zuerst wenig (Fig. 7*b*) und weisen im Gegensatz zu den Flaschenformen in Fig. 6*b* zahlreiche Einschlüsse auf. Aber mit der Verbreiterung in Fig. 7*c* werden auch diese geringer an Zahl, bis auf der Übergangsstufe dieser Flaschenformen zur Kugelform (Fig. 7*d*) nur noch sehr wenige vorhanden sind. Dagegen treten in der nun folgenden Kugelform (Fig. 7*e*) grössere kugelige Einschlüsse auf, welche sich vermehren und vergrössern (Fig. 7*f* und *g*). Auffallend ist es, dass doppelte Konturen sich hier erst nach der Ausbildung der grossen Kugel-Einschlüsse zeigen (Fig. 7*g*, *h*). Bei vielen derselben ist klar zu sehen, dass dieselben durch kleine eng aneinanderliegende Kugeln gebildet werden. Jodkaliumjod, welches die grossen Kugel-Einschlüsse intensiv gelb färbt, bringt bei diesen kleinen Kugeln keine Färbung hervor. Ausserdem werden durch Kalilauge die Formen Fig. 7*b*—*f* nicht verändert, dagegen verschwinden die grossen runden Formen der Fig. 7*g*—*h* und es bleiben einesteils die grossen neugebildeten Kugeln Fig. 7*h* zurück, andernteils erscheinen durch diese selbe Kali-Behandlung eine grosse Anzahl von Bakteroiden-Stäbchen und Mikroben (Fig. 7*i*), die vorher nicht zu bemerken waren. Es scheint, dass dieselben in jenem erst dann, wenn die grossen runden Formen der Auflösung nahe sind, auftretenden Konturenkranz enthalten gewesen sind.

Was früher über die Plasmafäden erwähnt wurde, lässt sich auch bei dieser Pflanze sagen. In dem der Knöllchenspitze zu gelegenen Bakteroidengewebe sind viele Fäden und wenig Bakteroiden

zu beobachten. Erstere sind in diesen Teilen selten lang gestreckt, sondern kurz mit einem wulstigen Kopfe; letzterer nimmt, wie auch der Faden, durch Jodkaliumjod oder Millons Reagens keine Färbung an. Allmählich erscheint die Substanz des wulstigen Kopfes weniger homogen, zahlreiche kleine Punkte sind in seinem Innern zu bemerken, in dem eigentlichen Faden dagegen wenig oder gar keine. An der Stelle des Wulstes entsteht eine körnige Masse, welche leicht durch Jodkaliumjod eine starke Gelbfärbung und durch Millons Reagens eine Rosafärbung erfährt. Kurz nach dieser Erscheinung machen sich grosse Vermehrungen der Bakteroiden in den einzelnen Zellen bemerkbar, die Wulste sind zum grössten Teil verschwunden, die Fäden bleiben nicht mehr kurz, sondern strecken sich bedeutend in die Länge, und eine körnige Masse ist an ihnen nicht mehr zu sehen. Die beiden letzten Erscheinungen, Streckung der Fäden und Fehlen der Körnung, treten besonders in denjenigen älteren Zellen auf, welche sehr stark mit Bakteroiden erfüllt sind; die Fäden sind homogen und durch Jod nicht färbbar. Kommt dann die Zeit, wo sich aus den Bakteroiden jene unter Taf. II, Fig. 7g u. h beschriebenen Kugel-Einschlüsse ausscheiden, also zur Zeit der vollendeten Rückbildung der Bakteroiden, so werden die Fäden unscheinbar und verschwinden.

In den Geweben der Wurzel, oft weit entfernt von den Knöllchen, kommen kleine Stäbchen von Bakteroiden vor und eine grosse Menge der in den Knöllchen gebildeten grossen plasmatischen Kugeln (Taf. II, Fig. 7k), welche letztere hier ebenfalls durch Jod eine intensive Gelbfärbung annehmen.

11. Ein Exemplar von *Trifol. pratense*, welches auf Hochmoorboden gewachsen war, liess in seiner Knöllchenbildung und Bakteroidenentwicklung keinerlei Abweichung von der eben beschriebenen Pflanze erkennen.

12. *Trifolium alpestre*. An dieser Pflanze sassen die Knöllchen, welche in nur geringer Zahl vorhanden waren, bis zu 30 bis 40 cm tief unter der Bodenoberfläche, erreichten also die grösste Tiefe, welche ich inbezug auf Knöllchenbildung beobachtet habe.

Die Entwicklung der Bakteroiden ist ganz verschieden von derjenigen bei *Trif. prat.* Am Vegetationspunkt des Knöllchens treten sehr wenig einfache Stäbchen auf von 1—3 μ . Dieselben vermehren sich dann ganz bedeutend unter Beibehaltung ihrer Grösse (Taf. III, Fig. 1a). Später verbreitern sie sich (Fig. 1b)

und zeigen zwar Einschlüsse, aber sehr schwer erkennbare. Plötzlich ist diese Art Stäbchen verschwunden, und eine neue Form befindet sich in den Zellen, die fast rechteckig aussieht und um ein geringes kürzer (Fig. 1c) ist als die vorigen, aber etwas breiter. Sie färben sich durch Jodkaliumjod intensiv gelb, besondere Einschlüsse sind in ihnen nicht zu sehen.

Auf diese letzte Art von Stäbchen muss ich noch etwas näher eingehen. Ich fand sie auch bei *Trifolium incarnatum*, *Desmanthus virgatus* und *Neptunia oleracea*, stets in derselben Form und Grösse von etwa 2 μ . Bei *Trifolium incarnatum* waren sie nur in ganz alten Zellen, bei *Desmanthus* und *Neptunia* in dem mittleren Bakteroidengewebe kräftig entwickelter Knöllchen. In den beiden letzteren Arten überwogen sie weit die Zahl der Bakteroiden. Molekularbewegung zeigen sie niemals. Gegen Schwefelsäure und Kalilauge sind sie ebenso resistent, wie die Bakteroiden, durch Chlorzinkjod färben sie sich nicht. Auch in den Zellen der Wurzel waren sie bei den genannten Pflanzen anzutreffen, und zwar hatten sie bei *Trifolium incarnatum* fast die ganzen Zellen des Rindenparenchyms inne.

13. *Trifolium incarnatum*. Die Knöllchen hatten fast dieselbe Grösse wie bei *Trifolium pratense*, auch ihre Form weicht nicht ab; überhaupt zeigt sich in Form und Grösse der Knöllchen bei allen *Trifolium*-Arten eine grosse Übereinstimmung, was von dem Inhalt derselben, den Bakteroiden, nicht gesagt werden kann.

Die letzteren sind hier im allgemeinen grösser, als bei den vorigen *Trifolium*-Arten; im Durchschnitt erreichen sie 2,4—4,8 μ (Taf. III, Fig. 2a), eine gegabelte Form ist bei ihnen selten. Mit der folgenden keulenförmigen Verbreiterung, Fig. 2b, der Stäbchen beginnen Einschlüsse in ihnen sichtbar zu werden, welche in der folgenden (Fig. 2c) der Kugelgestalt sich nähernden Form noch deutlicher werden. Ist die Kugelform vorherrschend geworden (Fig. 2d), so tritt ohne vorherige doppelte Konturierung eine Vergrösserung der Einschlüsse ein. Befinden sich diese später in freiem Zustande in den Zellen (Fig. 2e), so hängen sie meistens zu zwei, drei, vier und mehreren aneinander. Sind diese Kugeln und mit ihnen die Hauptmasse der früheren Bakteroiden aus den Zellen verschwunden, so erscheinen wieder die bekannten kleinen (Fig. 2f) Stäbchen und Kugeln in geringer Anzahl, es bietet sich also in den ältesten Zellen des Bakteroidengewebes dasselbe Bild, wie in den jüngsten Zellen.

14. *Trifolium hybridum*. Die ausserordentlich zahlreichen Knöllchen fanden sich stets an den Nebenwurzeln, und zwar meist an der Stelle, wo dieselben eben aus der Hauptwurzel heraus-treten.

Die Formen und Entwicklung der Bakteroiden ist fast dieselbe, wie bei *Trifolium pratense*. Hervorzuheben ist, dass die in den Flaschen und in den grossen runden Formen sich entwickelnden Kugeln (Taf. III, Fig. 3a) so zahlreich auftreten, dass sie sich dicht aneinander lagern. In diesem zusammengepressten Zustande verharren sie auch, wenn ihre blasige Hülle verschwindet (Fig. 3b). So sind sie Stärkekörnern sehr ähnlich, nur dass sie durch Jodkaliumjod sich schön gelb färben.

15. *Trifolium repens*. Die Ausbildung der Kugel-Einschlüsse findet hier in derselben Weise statt, wie bei letztgenannter Pflanze (Taf. III, Fig. 3a u. b). Die Entwicklung der Bakteroiden in den ersten Stadien bei jungen Knöllchen scheint sehr schnell vor sich zu gehen; denn die Zwischenformen der Flaschen findet man nicht, sondern nach einer kleinen Anschwellung der Stäbchen treten sofort die runden Formen auf, wogegen bei älteren Knöllchen stets die schwach lichtbrechenden flaschenförmigen Körper mit einigen deutlichen kleinen Einschlüssen erkennbar sind. Im Gegensatz zu den anderen Arten von *Trifolium* werden diese Flaschen durch Kalilauge zerstört, und nur die kleinen Einschlüsse, jedenfalls das Mikrob, bleiben übrig.

16. *Lotus corniculatus*. Die Knöllchen von der Gestalt kleiner Kugeln sassen an den feinen Nebenwurzeln und waren ziemlich zahlreich. — Die Entwicklung der in ihnen befindlichen Bakteroiden geht sehr einfach vor sich. Zuerst sind kleine Stäbchen von 1—2,4 μ in geringer Zahl vorhanden; dieselben vermehren sich sehr stark und zeigen (Taf. III, Fig. 4) eine etwas gebogene Form, ja einige sind in Kreisform gekrümmt. Die kugelichen Einschlüsse sind deutlich zu sehen. Eine weitere Ausbildung der Bakteroiden habe ich nicht beobachtet.

17. *Lotus uliginosus*. Der untersuchte Pflanzenteil war ein Ausläufer einer Pflanze von echtem Moorboden. An den Knotenpunkten hatten sich kleine Wurzeln entwickelt, welche Knöllchen in grosser Menge trugen. Dieselben waren nicht rund, wie bei der vorigen Pflanze, sondern oben etwas abgeplattet, wodurch ihre Gestalt mehr eckig wurde. — Die Ausbildung der Bakteroiden ist insofern von *Lotus corniculatus* verschieden, als eine Biegung der

Stäbchen nicht vorkommt (Taf. III, Fig. 5); auch ist die Zahl der Einschlüsse gering, es sind deren fast regelmässig zwei, je einer an einem Ende. Die nur einfachen Stäbchen haben eine Grösse von $1-3,5\ \mu$.

18. *Tetragonolobus purpureus*. Die Knöllchen sassen traubenförmig an einer Stelle der zarten Hauptwurzel beisammen. Auf ihrer Oberfläche hatten sie einige Längsstreifen, welche von der Basis nach der Spitze des Knöllchens liefen. — Die Bakteroiden im Innern der Knöllchen sind Stäbchen, einfache oder gegabelte (Taf. III, Fig. 6). Die Mehrzahl zeigt das eine Ende verdickt und deutliche Einschlüsse. Die mit ihnen auftretenden Flaschenformen sind jedenfalls Weiterbildungen der Stäbchen. Die Grösse der Bakteroiden, welche die Zellen stets zahlreich erfüllen, beträgt anfangs $1-3\ \mu$, später $3-5,3\ \mu$ (Fig. 6).

γ . Galegeae.

19. *Galega officinalis*. In sehr grosser Anzahl waren die Knöllchen vorhanden, sowohl an zarten, als starken Wurzelteilen, gewöhnlich zu mehreren bei einander sitzend, von runder oder länglich-runder Gestalt. In älterem bez. grösserem Zustande waren sie mit ihrer Längsseite der Wurzel etwas angelegt.

Ein Schnitt durch den Vegetationspunkt zeigt keine Bakteroiden, aber viele Plasmafäden (Taf. III, Fig. 7b). Die Grenzzen zwischen Rindenparenchym und Bakteroidengewebe bilden eine grosse Stärkemengen führende Schicht durch das ganze Knöllchen hindurch. Im Bakteroidengewebe kommt die Stärke wenig vor, soweit die Zellen noch im Wachstum begriffen sind, also in den jungen und mittleren Knöllchenpartieen; dagegen häuft sie sich sehr an in den alten, ausgewachsenen Zellen.

Bezüglich der Bakteroiden sehen wir, dass die jungen Zellen zuerst einige Stäbchen von $1\ \mu$ besitzen (Taf. III, Fig. 7a). Später treten einige wenige längere Formen hinzu bis zu $3\ \mu$, im allgemeinen aber bleibt die kürzere Form von $1\ \mu$ durch das ganze Knöllchen vorherrschend. Es findet also hier keine Umwandlung der Form statt. Neben ihnen und den Plasmafäden bewegen sich vielfach kleine Öltropfen (Taf. III, Fig. 7c u. d). In den einzelnen Zellen bilden sich die kleinen Stäbchen von $1\ \mu$ in sehr grosser Menge aus. Nimmt die Zahl der Bakteroiden ab, so schwinden auch zu gleicher Zeit die Plasmafäden. Die Ölkugeln nehmen nunmehr bedeutend an Ausdehnung zu (Fig. 7e) und er-

füllen fast die ganzen Zellen. Ausserdem befinden sich in diesen Zellen noch Stärkekörner.

Die Öltropfen, welche sich in den mit Stärke dichtgefüllten Grenzzellen zwischen Rindenparenchym und Bakteroidengewebe in ganz minimaler Menge finden, zeigen folgende Reaktionen. Durch Schwefelsäure habe ich nie eine Veränderung eintreten sehen, auch nicht ein Zusammenfliessen kleinerer Kugeln zu grösseren. Salpetersäure und Salzsäure bleiben wirkungslos. Da die grösseren Kugeln eine schwache doppelte Konturierung zeigen, so ist anzunehmen, dass sie eine Membran besitzen. Mit Eisenchlorid untersuchte ich sie auf Gerbsäure, sah aber keine Reaktionen. Überosmiumsäure färbt sie braun, also ein Zeichen, dass sie aus Öl bestehen. Kochender Alkohol bringt sie zum Verschwinden, ebenso Äther, aber nicht kalter Alkohol.

20. *Glycyrrhiza glabra*.

21. *Colutea arborescens*. Die untersuchten Pflanzen dieser Arten waren ältere, gut und kräftig entwickelte Exemplare, aber eine Knöllchenbildung wiesen sie nicht auf.

22. *Robinia pseud-Acacia*. Die Knöllchen an den Nebenwurzeln einer zweijährigen Pflanze waren klein, von ovaler Gestalt und wenig zahlreich; jedoch ist zu erwähnen, dass man selbst bei einjährigen Pflanzen oft sehr grosse Knöllchen findet. An einer grösseren Nebenwurzel von einem Baum waren meistens grosse Knöllchen zu sehen, aber häufig sind an älteren Wurzelteilen auch ganz kleine zu beobachten. Die grösseren Knöllchen waren länglich und zeigten in der Nähe ihrer Spitze oft eine Einschnürung, wahrscheinlich die Grenze zwischen dem vorjährigen und diesjährigen Knöllchenteil; die oberste Partie ist oft geteilt.

Die Bakteroiden sind einfache Stäbchen von $1-3\ \mu$ (Taf. III, Fig. 8), gegabelte sind selten. Die Grösse ändert sich nicht, sie wird beibehalten durch das ganze Knöllchen, in jungen und alten Zellen. Nur macht die geringe Anzahl in jungen Knöllchenteilen einen Unterschied gegen die grosse Anzahl in alten Teilen.

23. *Caragana frutescens*. Zur Untersuchung lag die Nebenwurzel eines Baumes vor. Die Knöllchen waren nicht sehr zahlreich und sassen immer an sehr zarten Würzelchen auf einem längeren oder kürzeren Stielchen. Die kugelige Form der jungen Knöllchen verwandelt sich später in eine ovale mit etwas ausgezogener Spitze. Diese enthält nichts, als das Meristym. Die

Fig. 5, Taf. I stellt einen Längsschnitt durch ein solches Knöllchen dar. Die Spitze lässt ein besonderes Rindenparenchym noch nicht erkennen und ist ungeschlossen von einer dünnen Epidermis. Der grösste Teil des Knöllchens wird von dem Bakteroidengewebe eingenommen. Während wir nun gewöhnlich nach der Spitze des Knöllchens das hellere Gewebe der jüngeren Zellen, nach der Basis das dunklere von Bakteroiden erfüllte Gewebe der älteren Zellen sahen, waren hier bei allen Knöllchen dunkle und helle Partien regellos verteilt; es enthielten nämlich die meisten Zellen auffallend wenige Bakteroiden, nur einzelne Partien, die dunklen, waren besonders stark von ihnen erfüllt. — Die Formen sind einfache Stäbchen (Taf. III, Fig. 9) von geringer Länge, $1-3,5\ \mu$. Charakteristisch sind Verdickungen in der Mitte und an den Enden, an letzteren oft kugelförmige Anschwellungen. — Sind schon in den Knöllchen wenig Bakteroiden, so sind in den Teilen der Wurzel nur schwer einige zu finden.

24. *Amorpha fruticosa*. Die Knöllchen sassen stets an den dünnsten Nebenwurzeln und zwar fast nur an denen, welche aus der Hauptwurzel, nicht aus grösseren Nebenwurzeln entsprangen. Sie sassen vielfach zu drei dicht aneinander, zuweilen zu vier und mehreren.

Schneidet man ein solches Knöllchen durch, so erweist es sich ausserordentlich weich. Dies rührt daher, dass die Zellen alle sehr gross und dünnwandig sind. Stärke ist in den Zellen überall nur sehr wenig vorhanden. Plasmafäden habe ich nicht gesehen, von Öl nur geringe Mengen in den jüngeren Partien. In dem jüngsten Gewebe sind keine Bakteroiden, in den älteren Zellen dagegen eine Unmenge derselben. Sie haben eine unregelmässig begrenzte Form (Taf. III, Fig. 10) und eine Länge von $1,6$ bis $4,8\ \mu$. Die Einschlüsse sind in vielen dicht, wie an einer Perlenschnur die Perlen, gelagert, häufig so dicht, dass die einzelnen Kügelchen nicht zu unterscheiden sind und sich durch die ganze Mitte des Stäbchens ein zusammenhängender, heller, stark lichtbrechender Streifen zieht. Die Zahl der Stäbchen bleibt in allen Zellen von der Spitze des Knöllchens bis zur Basis eine ganz bedeutende. Wenn ihre Menge abnimmt, erscheinen Bakteroiden von nur $1,5\ \mu$.

Die Wurzelzellen enthielten kleine, schwach lichtbrechende Bakteroiden von $2,4\ \mu$ in geringer Zahl. Stärke ist hier im Gegensatz zum Knöllchen reichlich vorhanden.

δ. Astragaleae.

25. *Astragalus cicer*. Die untersuchte Pflanze war mehrjährig und trug die wenigen Knöllchen nur an den Nebenwurzeln. Im älteren Zustand tritt an der Spitze der Knöllchen meistens eine Teilung ein. — Die Bakteroiden sind in Stäbchenform vorhanden (Taf. III, Fig. 11); anfangs in den jungen Zellen wenig vermehren sie sich in den älteren Zellen sehr. Ihre Länge bewegt sich zwischen 2,4—4,5 μ .

26. *Astragalus baeticus*. Hier befinden sich die Knöllchen an der zarten Hauptwurzel der nur einjährigen Pflanze; wie bei der vorigen Art, sind auch bei dieser nur wenig vorhanden.

Die Bakteroiden sind zuerst klein und einfache Stäbchen von 1,5 μ . Sie verlängern sich bis zu 3 μ (Taf. III, Fig. 12a) und nehmen eine verdickte Form an. Während in den eigentlichen Stäbchen Einschlüsse kaum zu bemerken waren, sieht man in den erweiterten Formen deren öfter; letztere Formen nehmen durch Jodkaliumjod keine Färbung an. — Die Plasmafäden treten in diesen Knöllchen in besonders grosser Zahl auf und sind sehr voluminös (Fig. 12b). Die zuerst hell und homogen erscheinenden Fäden beginnen nach und nach eine erst schwach, dann stark gekörnte Struktur anzunehmen. In letzterem Zustande werden sie durch Jodkaliumjod gelb, was bei den homogenen Fäden nie der Fall ist. In den Zellen sind bis zu diesem gekörnten Stadium der Fäden ausserordentlich wenig Bakteroiden wahrzunehmen. Wo diese sich aber mehren, und fast die ganzen Zellen erfüllen, sind die Plasmafäden zum grössten Teil verschwunden.

III. Hedysareae.

α. Coronilleae.

27. *Ornithopus perpusillus*. Das vorliegende Exemplar war vom Marschboden. Die Knöllchen sassen zahlreich an den Nebenwurzeln, wenig an der Hauptwurzel.

In den Zellen eines jungen Knöllchens erscheinen ausser kleinen Stäbchen von Bakteroiden viele runde körnige Gebilde von der Grösse eines Zellkernes, welche mit der Vermehrung der ersteren abnehmen; jene werden gleich näher beschrieben. Die Länge der Stäbchen, welche stets einfach, nie gegabelt sind, wächst bis zu 3—4,5 μ (Taf. IV, Fig. 1a). — Ähnlich ist das Bild in den jüngeren Teilen eines älteren Knöllchens. Jedoch findet sich hier ausserdem sehr viel Öl in Tropfen (Taf. IV, Fig. 1b). In den Zellen, in welchen die Ölkugeln an Zahl abnehmen, vermehren

sich jene vorher erwähnten runden körnigen Gebilde. Dieselben gleichen oft den Zellkernen, liegen aber zu mehreren in einer Zelle, haben keinen Kern in ihrer Mitte und färben sich durch Jodkaliumjod nicht so gelb, wie der Zellkern. Sie werden durch Kalilauge und Schwefelsäure nicht zerstört, noch sonst verändert; auf einem Deckgläschen erhitzt fallen sie in kleine Stäbchen auseinander. Zellen, welche sie und die Ölkugeln in grosser Zahl besitzen, haben wenig Bakteroiden; es scheinen dies also die eingewanderten Mikroben zu sein, welche sich zum Teil in Form rundlicher Kolonien entwickelt haben. Zellen, in welchen jene körnigen Gebilde fast nicht mehr wahrnehmbar sind, beherbergen sehr viele Bakteroiden; sie haben sich also hier in Bakteroiden umgewandelt. — Letztere nehmen in älteren Knöllchen bei ihrer Vermehrung gegabelte Formen an (Taf. IV, Fig. 1c), wobei sie die Länge $4,5 \mu$ nicht überschreiten. Bei ihrer Rückbildung erscheinen wieder kleine Stäbchen von $1,5 \mu$.

28. *Ornithopus sativus*. An einem drei Monat alten Pflänzchen waren die Knöllchen gut entwickelt, von ovaler bis runder Gestalt und auf der Oberfläche mit Kreisen gezeichnet, welche bei diesen Knöllchen sich nicht an der Spitze in einem Punkt vereinigten, sondern in einen Kreis einmündeten, der wie ein Kranz um die Knöllchenspitze lag.

Bei dieser Pflanze sehen wir in den Knöllchen kein Öl auftreten, auch keine Plasmafäden. Dagegen findet sich sowohl bei alten, als jungen Pflanzen in dem Meristem des Knöllchens viel körniges Plasma. In denselben Zellen sieht man neben dem Plasma sich viele Mikroben bewegen. Nach und nach wird in den einzelnen Zellen des körnigen Plasmas weniger, und Stäbchen von $1-3 \mu$ treten auf (Taf. IV, Fig. 2a). Ihre Formen sind dieselben, wie bei der vorigen Pflanze, einfache und gegabelte; später werden sie sehr breit, oft kugelförmig und lassen stark hervortretende Einschlüsse erkennen (Taf. IV, Fig. 2b).

β Onobrycheae.

29. *Onobrychis sativa*. Die untersuchte Pflanze war zweijährig und stand kurz vor der Blüte. Die ziemlich zahlreichen Knöllchen waren anfangs klein und oval, später vermehrten sie sich vielfach zu dichtgedrängter Traubenform.

Die Zellen haben im Durchschnitt sehr wenig Bakteroiden, und nur einige ältere Teile haben etwas mehr. Die Formen sind zuerst

einfache, teils gekrümmte, teils gerade Stäbchen, welche nachher etwas anschwellen und sich mitunter gabeln (Taf. IV, Fig. 3). Sie bleiben sehr klein, $0,6-1,6\ \mu$, und gehen am Schlusse der Entwicklung wieder in einfache Stäbchen über.

B. Sarcolobeae.

I. Viceae.

30. *Vicia villosa*. Hier fanden sich die Knöllchen stets an Haupt- und Nebenwurzeln, mit breiter Basis aufsitzend, ihre ursprünglich einfache, längliche Gestalt erscheint später geteilt. Diese Formen der Knöllchen waren mit einigen kleinen Unterschieden an allen untersuchten *Vicia*-Arten zu beobachten.

Die Bakteroiden sind in den jüngsten Knöllchenteilen Stäbchen von $0,8-2\ \mu$ (Taf. IV, Fig. 4a). Sie gabeln sich meistens an beiden Enden, und die ersten Gabeln gehen wieder in neue Gabelungen über (Taf. IV, Fig. 4b), wobei zugleich ihre Länge bis $4,5\ \mu$ zunimmt. In Verbindung mit dem Längenwachstum tritt auch eine Vermehrung derselben in den Zellen ein. Dann werden die Bakteroiden breiter und zeigen deutliche kugelige Einschlüsse (Fig. 4c); eine weitere Ausbildung dieser gegen Kalilauge widerstandsfähigen Formen habe ich nicht wahrgenommen.

31. *Vicia faba*. Die Knöllchenbildung wich von der vorigen insofern ab, als die mit breiter Basis der Wurzel aufsitzenden Knöllchen weniger in die Länge, als vielmehr in die Breite wuchsen. — Der Vegetationspunkt des Knöllchens zeigt einfache Stäbchen von $3\ \mu$; in älteren Zellen werden diese bis $5\ \mu$ (Taf. IV, Fig. 5). Die Gabelung tritt hier ebenfalls vielfach an beiden Enden auf. Die Einschlüsse der grossen Stäbchen sind nicht immer deutlich, sie werden aber besser sichtbar, wenn die Substanz der Stäbchen wieder abnimmt, womit gewöhnlich auch eine Verkürzung verbunden ist.

32. *Vicia sativa*. Die Ausbildung der Knöllchen glich der von *Vicia villosa*, doch war ihre Anzahl eine grössere. — Die Bakteroiden sind zuerst einfache Stäbchen, welche dann an den Enden anschwellen und sich zu gabeln beginnen, $1-2,5\ \mu$ (Taf. IV, Fig. 6a). Die Gabelung wiederholt sich, wenn die Stäbchen $2-4,5\ \mu$ lang geworden sind (Fig. 6b).

33. *Vicia Narbonensis*. Die sehr zahlreichen Knöllchen befanden sich besonders an der Hauptwurzel. — Die Ausbildung der Bakteroiden schliesst sich ganz der von *Vicia villosa* an (Taf. IV,

Fig. 4). Die kugeligen Einschlüsse in den breiten Formen nehmen an Lichtbrechung ab, und mit ihnen schwindet der Umriss des ganzen Stäbchens; an ihrer Statt bewegen sich in den Zellen wieder zahlreiche Stäbchen von geringer Länge (Taf. IV, Fig. 4a). — Bemerkenswert sind die ausserordentlichen Mengen von Bakteroiden in der Wurzel, vor allem in der Hauptwurzel; es sind einfache, nie gegabelte Stäbchen von $1-3,5\ \mu$.

34. *Lens esculenta* (Ervum lens). Die Pflanze schliesst sich in der äusseren Gestaltung ihrer Knöllchen *Vicia faba* an.

Die Zellen des Knöllchens sind mit vielen Plasmafäden versehen, besonders diejenigen, in denen die Bakteroiden in grösster Menge vorhanden sind. Die letzteren haben in jüngeren Teilen eine Grösse von $1-2,4\ \mu$ (Taf. IV, Fig. 7a). Mit ihrer weiteren Entwicklung ist eine Verlängerung und Verbreiterung zu gleicher Zeit verbunden (Fig. 7b). An ihrer Peripherie entsteht eine doppelte Kontur mit stärkerer Lichtbrechung, und in dieser peripherischen Schicht wird eine grosse Anzahl kleiner Kugeln sichtbar, an denen ich eine fernere Veränderung nicht beobachtet habe.

35. *Lathyrus sativus*. Die Knöllchen waren denen von *Vicia villosa* sehr ähnlich, jedoch waren sie zahlreicher und grösser ausgebildet; die Teilung an der Spitze war meistens schon weit vorgeschritten. Die Untersuchung beider Pflanzen fand zu fast gleicher Zeit statt. — Die Form, Grösse und Entwicklung der Bakteroiden war der von *Vicia villosa* ganz gleich (Taf. IV, Fig. 4). Die verbreiterten, mit deutlichen Einschlüssen versehenen Formen verschwinden nacher und ganz kleine Stäbchen treten wieder auf. — In der Wurzel sind viele Stäbchen anzutreffen und zwar ausser den zahlreichen einfachen auch einige gegabelte.

36. *Lathyrus silvestris*. An einer sehr langen Hauptwurzel waren nur sehr wenig kleine Nebenwürcelchen vorhanden. Diese trugen kleine, kaum bemerkbare kugelige Gebilde und in so geringer Zahl, dass ich an einer 50 cm langen Wurzel nur drei derselben fand.

Die Stäbchen der Bakteroiden verdicken sich bereits in sehr frühem Zustand, wenn sie $1-2\ \mu$ lang sind, an den Enden und in der Mitte (Taf. IV, Fig. 8a). Mit vorrückender Längsstreckung gabeln sie sich vielfach und werden schliesslich $4-5\ \mu$ lang (Fig. 8b).

37. *Lathyrus latifolius*. Das untersuchte mehrjährige Exemplar hatte wenige Knöllchen, die an der Nebenwurzel sassen, Sie

waren denen von *Vicia* gleich, nur manche waren zu höckerigen Konglomeraten angewachsen. — Die Zellen besitzen viele Plasmafäden. Die Bakteroiden sind an Form und Grösse denen von *Lathyrus silvestris* fast gleich (Taf. IV, Fig. 9). Charakteristisch sind diejenigen Gabelungen, welche im rechten Winkel vor sich gehen (Fig. 9a).

Ein anderes, ein zweijähriges Exemplar untersuchte ich, als der oberirdische Teil kein Wachstum mehr zu zeigen schien. Die Wurzel besass viele Knöllchen von der Form, wie bei *Vicia*. Von einigen war nur noch eine leere Schale vorhanden, viele waren gut ausgebildet, andere waren ganz neu. In älteren sich von Bakteroiden entleerenden Zellen eines Knöllchens fand ich viel Stärke, in jungen Zellen dagegen wenig, aber viel ölartige Kugeln, die mit Osmiumsäure braun wurden. Erhitzte man die Ölkugeln mit Jodkaliumjod, so blieben die einen unverändert, die anderen, besonders grösseren nahmen ein körniges Aussehen und eine schöne Gelbfärbung an. Wurde hierauf Kalilauge hinzugefügt und erhitzt, so verschwanden die gekörnten Kugeln, und die vorher unverändert gebliebenen zeigten auch jetzt keine Veränderung.

38. *Lathyrus tuberosus*. Die zahlreichen, nur an den Nebenzurzel sitzenden Knöllchen hatten das Aussehen derjenigen der *Vicia*-Arten.

Die Formen der Stäbchen sind denen von *Lathyrus silvestris* ähnlich, in der Grösse fast gleich, bis $4,2 \mu$ (Taf. IV, Fig. 10a). In älteren Zellen werden sie kleiner, ihre Umrisse verschwommen, und es hängen sich zwei oder mehrere fest aneinander (Fig. 10b). Die Einschlüsse, welche in den Stäbchen in geringer Zahl vorkommen, haben eine charakteristische Lage, entweder an den Endpunkten oder an einer Gabelungsstelle; Einschlüsse besitzen auch die in der Auflösung begriffenen Formen von Fig. 10b.

39. *Orobis vernus* (*Lathyrus vernus*). Die langen Nebenzurzel trugen ziemlich viele Knöllchen, welche im allgemeinen dem Typus der *Lathyrus*-Arten folgten.

Ein älteres Knöllchen zeigte, dass in seinen Zellen die vorhandenen Plasmafäden um so mehr zurücktraten, je mehr die Bakteroiden ihre Anzahl vergrösserten. Letztere waren von der Spitze des Knöllchens bis zur Basis an Form nicht verschieden (Taf. IV, Fig. 11) und überall $0,8-2,4 \mu$ lang.

Dagegen wies ein jüngeres Knöllchen bedeutende Abweichungen auf. Die erst einfachen kurzen Stäbchen (Taf. IV, Fig. 12a) nehmen

eine Länge von 3—4,5 μ an (Fig. 12b) und gabeln sich. Die Lagerung der Einschlüsse ist dieselbe, wie bei *Lathyrus tuberosus* (Taf. IV, Fig. 10a). Später werden sie breiter (Taf. IV, Fig. 12c) und erscheinen oft kreisrund. Zugleich treten in ihren periferischen Teilen kleine und grosse Kugel-Einschlüsse auf, welche nachher ohne Hüllen frei umherschwimmen (Taf. IV, Fig. 12d), zu zwei oder drei aneinanderhängend; Molekularbewegung ist bei diesen letzten nicht vorhanden. Hierauf lässt ihre sehr starke Lichtbrechung mehr und mehr nach, ihre Anzahl verringert sich, und kleine Stäbchen (Fig. 12e) treten wieder in den Zellen auf.

40. *Pisum sativum*. Auch hier trat eine Knöllchenbildung auf, wie bei den *Vicia*- und *Lathyrus*-Arten, jedoch waren die durch Teilungen entstandenen Einschnitte tiefer gehend.

In den Zellen der Knöllchen sind sehr viele Plasmafäden und grosse Mengen von Bakteroiden. Die jüngsten Gewebe haben kleine Stäbchen von 1—2 μ . Diese wachsen bis zu 3,8 μ (Taf. IV, Fig. 13a) und gabeln sich stets nur an einem der beiden Enden, und zwar oft noch ein zweites Mal. Diese Stäbchen verbreitern sich (Fig. 13b) und zeigen an ihren Enden grössere stark lichtbrechende Einschlüsse. Mit dem Verschwinden dieser Formen kommen wieder kleine Bakteroiden zum Vorschein (Fig. 13c).

II. Phaseoleae.

41. *Phaseolus vulgaris*.

42. *Phaseolus multiflorus*. Da die beiden Pflanzen in ihrer Knöllchenbildung und Bakteroidenentwicklung volle Übereinstimmung zeigten, kann ich sie zusammen abhandeln.

Die Knöllchen sassen nur an den Nebenwurzeln und waren von derselben Form, wie die bei *Ornithopus*, also auch mit jenen Längsstreifen versehen. — Die Bakteroiden sind von den jüngsten bis zu den ältesten Teilen des Bakteroidengewebes einfache Stäbchen (Taf. V, Fig. 1) von 1—3 μ . Die jüngeren Zellen unterscheiden sich von älteren nur durch die Anzahl der Stäbchen, welche in den letzteren in ausserordentlicher Menge vorhanden sind.

43. *Soja japonica*. An den Exemplaren, welche ich erhalten konnte, habe ich keine Knöllchen gefunden.

44. *Wistaria chinensis* (*Glycine chinensis*). Die mir vorliegenden Pflanzen waren mehrjährig, mit gut entwickelter Wurzel, aber ohne Knöllchen.

45. *Lupinus albus*. Es sind die Knöllchen der einjährigen

Lupinen genügend in ihrer äusseren Form bekannt, so dass ich nicht weiter darauf einzugehen brauche.

Zuerst untersuchte ich blühende Pflanzen. In ihren Knöllchen waren in grosser Menge lange Stäbchen von stets einfacher Form vertreten (Taf. V, Fig. 2b), deren Einschlüsse mit grösster Deutlichkeit zu unterscheiden waren. Sind diese 6—7 μ langen Stäbchen nicht mehr zu sehen, so bewegen sich in den Zellen kleine Stäbchen und eine Unzahl der ehemals eingeschlossenen Mikroben.

Ferner hatte ich mehrere Pflanzen, welche schon Samen trugen. An ihnen fanden sich alte und junge Knöllchen. Die Bakteroiden der jüngeren Knöllchen und der jüngeren Gewebe von älteren Knöllchen waren Stäbchen von 2—3 μ (Taf. V, Fig. 2a). Ihre Einschlüsse waren noch wenig zahlreich, auch sah man gegabelte Formen nicht selten. Zur Zeit dieser Formenbildung enthielt das angrenzende Rindenparenchym ein dichtes feinkörniges Protoplasma, welehes sich durch Jodkaliumjod braun-gelb färbte. Wenn sich das Bakteroidengewebe ausbreitet und sich die Bakteroiden bedeutend vermehren, tritt diese körnige Masse in dem Rindenparenchym in sehr verringerter Menge auf. Ausserdem erkennt man bei dieser Pflanze im Rindenparenchym zahlreiche Bakteroiden, die in dem in Wasser liegenden Schnitt nicht aus dem Bakteroidengewebe stammen können. Haben die Bakteroiden die Grösse von 6—7 μ (Taf. V, Fig. 2b) erreicht, so tritt allmählich ihre Rückbildung zum Zweck der Resorption ein, indem sie kürzer und schwächer lichtbrechend werden (Fig. 2c). Diese Form verwandelt sich in eine der rundlichen nahekommende (Fig. 2d und e). In diesen letzten Stadien erfahren sie durch Jodkaliumjod leicht Gelbfärbungen. Zugleich mit der Form Fig. 2e machen sich in den Zellen grosse Mengen von meist grösseren Ölkugeln bemerkbar. — In der Wurzel kamen sehr viele Stäbchen von Bakteroiden vor.

46. *Lupinus angustifolius*.

47. *Lupinus luteus* (Taf. V. Fig. 3).

48. *Lupinus hirsutus*. Alle drei Pflanzen stimmen in der Entwicklung der Bakteroiden von Anfang bis zu Ende mit der vorher beschriebenen von *Lupinus albus* überein.

Nur einige besondere Angaben sind noch zu machen. Die Grösse der Stäbchen von *Lupinus angustifolius* und *hirsutus* ist der von *Lupinus albus* gleich, dagegen erreicht die von *Lupinus*

luteus nur 4—5,5 μ und treten die Einschlüsse bei den Stäbchen dieser Pflanze weniger stark hervor. Noch eine andere Beobachtung, welche sich auf *Lupinus luteus* bezieht, gehört hierher.

In den jüngeren Geweben des Knöllchens besitzen die Bakteroidenzellen wenig Öl, die Zellen des Rindenparenchyms mehr; in älteren Geweben ist zur Zeit der grössten Bakteroidenmenge das Öl in den Zellen des Bakteroidengewebes nicht mehr vorhanden, und im Rindenparenchym ist es weniger geworden. Fängt die Auflösung der Stäbchen und die Abnahme ihrer Zahl an, so erscheinen im Rindenparenchym grosse Mengen von Öl und durch Jodkaliumjod gelb werdende plasmatische Körperchen, neben diesen liegen einzelne kugelige, gekörnte Massen von der Grösse des Zellkernes, welche sich ebenfalls durch Jodkaliumjod gelb färben. In den Bakteroidenzellen treten um diese Zeit kleine gekörnte plasmatische Konglomerate auf, welche schliesslich eine rundliche Form annehmen und sich durch Jodkaliumjod gelb färben. Kurz danach sieht man ausser ihnen wenige kleine Öltröpfchen, bald aber sehr viele grosse Ölkugeln. Von Bakteroiden sind nur noch ganz kleine Stäbchen zu erkennen.

49. *Lupinus polyphylus*. Die untersuchte Pflanze war ausge-reift, die Knöllchen waren gut ausgebildet.

Am Vegetationspunkt dieser Knöllchen finden sich kleine unförmige, plasmatische Gebilde, welche sich durch Jodkaliumjod schwach gelb färben, von 1—2 μ Durchmesser (Taf. V, Fig. 4a), und in ihnen zwei oder mehrere Einschlüsse. Es bilden sich Stäbchen von 1—2,4 μ (Fig. 4b), welche scharf die Einschlüsse hervortreten lassen; die Gabelform fehlt bei diesen. Sie verlängern sich bis zu 5,5—6,5 μ (Fig. 4c), wobei die Deutlichkeit der Einschlüsse etwas nachlässt. Die Grenzzellen zwischen Bakteroidengewebe und Rindenparenchym bergen sehr grosse Mengen Stärkekörner, während im Bakteroidengewebe nur wenige vorhanden sind. In letzteren sieht man auch einige Öltröpfchen. Dieselben vermehren sich, wenn die Rückbildung der Bakteroiden eintritt. Es nehmen dann die Stäbchen eine breitere und unregelmässige Form an, ähnlich der im Meristem, wobei ebenfalls einige Einschlüsse sichtbar sind (Fig. 4d); sind diese Formen verschwunden, werden wieder kleine Stäbchen in den älteren Zellen sichtbar (Fig. 4e).

50. *Lupinus perennis*. Zuerst nahm ich eine einjährige junge Pflanze, welche gute Knöllchen gebildet hatte. — Die Bakteroiden

in diesen sind anfangs $1-2\ \mu$, später bis $8\ \mu$ lange einfache Stäbchen. — Die mehrjährige Pflanze besass keine alten Knöllchen, sondern viele neue, welche alle noch ziemlich klein waren und der Wurzel nur an einer Seite anlagen. Die Bakteroiden dieser Knöllchen waren Stäbchen, welche eine Länge von nur $3,5\ \mu$ erreichten.

Caesalpinaceae.

51. *Haematoxylon campechianum*. Die Pflanze, aus dem botanischen Garten, war gut entwickelt, aber ohne Knöllchen.

52. *Tamarindus indica*. Dasselbe ist von dieser Pflanze zu sagen, von der ich mehrere Exemplare zur Untersuchung hatte. Auch diese waren aus dem botanischen Garten.

53. *Cassia marylandica*. Aus dem botanischen Garten, sowie die beiden folgenden Arten von *Cassia*. An der mehrjährigen Pflanze waren der Knöllchen sehr wenige, kleine, die schwer zu erkennen waren, da sie mit der Wurzelrinde ganz gleiche dunkle Färbung hatten. — Die Bakteroiden waren spärlich vertreten und klein, $1-2,4\ \mu$ (Taf. V, Fig. 5).

54. *Cassia spec.* Hier war eine sehr schöne Knöllchenbildung zu sehen; oft sassen zwei und mehrere dicht bei einander, die grösseren waren häufig schnabelförmig ausgewachsen, — In den jüngeren Zellen sind wenig Bakteroiden von $1,2\ \mu$, aber viel feinkörniges Plasma, welches sich durch Jodkaliumjod stark gelb färbt, Fäden sind nicht vorhanden. Besonders die jungen Zellen bergen jenes Plasma in reicher Menge, und in den älteren Zellen nimmt es noch etwa zwei drittel des Zellinhaltes ein; dabei sind die Bakteroiden gar nicht zahlreich. In diesen treten stets zwei Einschlüsse, an jedem Ende einer, ausserordentlich deutlich hervor; die Grösse der Stäbchen beträgt $2-3\ \mu$ (Taf. V, Fig. 6).

55. *Cassia levigata*. Die untersuchte Pflanze besass keine Knöllchen.

56. *Cercis siliquastrum*.

57. *Gymnocladus canadensis*.

58. *Gleditschia triacanthos*. Von *Cercis* und *Gymnocladus* habe ich 10—12 Exemplare untersucht, sämtlich zwei- bis dreijährige Pflanzen. Der Boden ihres Standortes war Sand mit etwas Humus. Von *Gleditschia* hatte ich ebenfalls zwei- bis dreijährige Stämmchen und ausserdem Wurzeln eines vieljährigen hohen Baumes. Jedoch habe ich bei keiner dieser drei Pflanzenarten irgend ein Knöllchen entdecken können.

Mimosaceae.

59. *Mimosa pudica*. Die betreffende Pflanze stammte aus dem hiesigen botanischen Garten, sie war kräftig gewachsen und besass eine reiche Wurzelbildung, aber keine Knöllchen,

60. *Mimosa acanthocarpa*. Die Knöllchen waren in geringer Zahl vorhanden, sie hatten im jugendlichen Zustand eine runde, in älterem eine etwas eckige Gestalt. Ausser diesen fand ich oft Verdickungen der Wurzeln, welche diese rund umgaben, fast wie die Knöllchen der Lupinen. An anderen Stellen hatten sich aus diesen Verdickungen vollständige Knöllchen entwickelt.

In den Verdickungen und an der Basis der aus diesen Verdickungen entstandenen Knöllchen waren körnige Plasmamassen enthalten, wie eben diese auch an den Vegetationspunkten der Knöllchen vorkommen. An dieser letzteren Stelle finden sich neben dem Plasma in den Zellen Bakteroiden, während diese in den vorhergenannten Verdickungen der Wurzel nicht auftreten. — Die Bakteroiden sind kleine ovale Formen (Taf. V, Fig. 7a) von $1,2\ \mu$, welche später in Stäbchenformen übergehen (Fig. 7b) und sich bis $2-3\ \mu$ verlängern. In dieser Grösse erscheinen sie ziemlich zahlreich, halten aber nicht lange stand, sondern bilden sich schnell wieder zurück, indem ihre Zahl und ihre Lichtbrechung bedeutend abnimmt.

61. *Acacia lophantha*. Der Wurzelteil war entnommen einem grossen Exemplar aus dem botanischen Garten. Die Knöllchen waren rund und auf der Oberfläche gekörnt. — Über die Formen der Bakteroiden ist nicht viel zu sagen. Die Stäbchen, bis $2,4-5,5\ \mu$ lang, sind nie gegabelt (Taf. V, Fig. 8). Bei der Rückbildung erscheinen wieder, wie bei fast allen untersuchten Pflanzen, ganz kleine Stäbchen.

62. *Acacia vera*. Von den Knöllchen der vorigen Art unterschieden sich diejenigen dieser Pflanze durch eine schmale, längliche Form. — Die Stäbchen in den Knöllchen waren hier ebenfalls einfache, aber nur $2-3\ \mu$ lang (Taf. V, Fig. 9). Bei ihrer Rückbildung treten viele Ölkugeln auf.

63. *Acacia heterophylla*. Bei dieser Pflanze waren die Knöllchen zahlreich; anfangs klein und kugelförmig wurden sie später grösser bis zu $12\ \text{mm}$ Längsaxe und birnenförmig, zuweilen auch noch an der Spitze etwas gezackt.

Ein junges Knöllchen hat folgende Beschaffenheit. An der Spitze befindet sich viel körniges Plasma und keine Spur von

Bakteroiden. Bald aber zeigen sich solche von $1-1,5\ \mu$, welche sich schnell vermehren und bis $4,5\ \mu$ vergrössern. Zwischen ihnen gelagert sind stets viele Ölkugeln; in einzelnen Zellen, welche noch keine Bakteroiden enthalten, lassen sich körnige Kugeln von der Grösse des Zellkerns erkennen, welche sich durch Jodkaliumjod gelb färben. —

In einem älteren Knöllchen verhielten sich die jungen Teile bezüglich ihres Inhalts ebenso, wie das eben beschriebene Knöllchen; dann aber werden die Stäbchen bis $6\ \mu$ lang (Taf. V, Fig. 10). Auch liegen zwischen den Stäbchen viele Ölkugeln, welche zu grossen Ölmassen anwachsen, wenn die Menge der Bakteroiden bedeutend abnimmt. Stärke ist nicht vorhanden. — In der Wurzel sind wenig, teils kleine, teils grosse Bakteroiden, Öl sehr wenig und sehr viel körniges Plasma.

64. *Desmanthus virgatus* (Wildenow). Es waren sehr viele Knöllchen vorhanden, welche zuerst als kleine Kugeln erschienen, dann aber langgestreckt und an der Spitze oft geteilt waren; sie sassen stets an den dünnsten Nebenwürzelchen.

Untersuchen wir ein junges Knöllchen. An seiner Spitze finden sich grosse Stäbchen bis $5\ \mu$ (Taf. V, Fig. 11), einfach oder gegabelt, mit sehr scharf hervortretenden Einschlüssen. Später vergrössern sie sich nicht mehr, sondern vermehren sich nur. Öl ist in diesen Zellen fast gar nicht zu bemerken. Werden die Zellen älter, so nimmt das vorher so sehr starke Lichtbrechungsvermögen der Stäbchen bedeutend ab (Taf. V, Fig. 12c), und ausserdem tritt eine Verkürzung ein. Allmählich treten ganz kleine Stäbchen auf (Fig. 12d), denen sehr verbreiterte Formen folgen (Fig. 12e). An diese schliessen sich kompakte Massen an (Fig. 12f), welche aus den vorigen zusammengeballt zu sein scheinen; sie sind farblos, färben sich aber durch Jodkaliumjod gelblich-braun. Um dieselbe Zeit machen sich in den Zellen viele Ölkugeln bemerkbar (Taf. V, Fig. 12g), von denen die grösseren mir eine doppelte Kontur oder eine Membran zu haben scheinen. Stärke ist in den Knöllchen dieser Pflanze nicht vorhanden.

Nun wollen wir zu einem älteren Knöllchen übergehen. Die Bakteroiden am Vegetationspunkt haben nur eine Grösse von $1,5\ \mu$ (Taf. V, Fig. 12a), und neben ihnen befinden sich in den Zellen sehr viele Öltropfen, was bei dem jungen Knöllchen, wo in den jüngsten Zellpartien die Bakteroiden sehr gross waren, nicht konstatiert werden konnte. Mit der vorwärts schreitenden Ver-

mehrung und Vergrößerung der Bakteroiden, welche hier erst in den älteren Zellen eine Länge von $5\ \mu$ erreichen (Taf. V, Fig. 12b), nimmt das Öl ab und verschwindet schliesslich. Die weitere Entwicklung der Bakteroiden geht in derselben Weise vor sich, wie in dem jungen Knöllchen, am Schlusse stellen sich wieder die Ölkugeln ein.

65. *Neptunia oleracea*. Die Knöllchen sassen meist dicht zusammen in Traubenform an den stärkeren Nebenwurzeln; es sind runde, mit schmaler Basis ansitzende Gebilde.

Die Bakteroiden sind in den jüngsten Zellen wenig zahlreich und $1,2\ \mu$ lang. Aber sie vermehren sich schnell und nehmen eine Grösse von $3\ \mu$ an (Taf. V, Fig. 13a und b), wobei sie sich gewöhnlich gabeln; ihre Einschlüsse sind sehr deutlich. Nachher verbreitern sich die Stäbchen und nehmen ovale und Kugel-Formen an. Die zwischen den doppelten Konturen zu sehenden Einschlüsse vergrössern sich nicht, sondern es tritt eine schwächere Lichtbrechung der ganzen Formen ein.

Die wichtigsten Resultate der vorstehenden Untersuchungen würden sich in folgenden Punkten zusammenfassen lassen. Wir haben gesehen, dass die Knöllchenbildung innerhalb der Ordnung der Leguminosen bei allen drei Familien der Papilionaceen, Caesalpinaceen und Mimosaceen vorkommt. In den einzelnen Familien tritt sie bei allen Gattungen und auch bei jeder Spezies auf, soweit dieselben untersucht sind; und zwar ist letzteres hier geschehen bei 65 Arten aus 38 Gattungen. Wo an einer Pflanze Knöllchen nicht zu konstatieren sind, ist dies auf das Fehlen der besonderen Bedingungen zurückzuführen, ohne deren Vorhandensein die Knöllchen nicht erscheinen; die Knöllchenbildung ist also bei allen Spezies der Leguminosen die Regel.

Was den Hauptbestandteil der Knöllchen betrifft, die Bakteroiden, so sind in den jüngsten Zellen des Knöllchens jene Gebilde nicht wahrzunehmen, sondern die Zelle zeigt ausser einer plasmatischen Substanz, welche in verschiedener Form vorhanden sein kann, nichts als zahlreiche kleine, kugelförmige Mikroben. Diese erfahren überall mit Hülfe der in den Zellen vorhandenen plasmatischen Substanz eine ansehnliche Vermehrung und eine Volumenvergrößerung in verschiedenem Grade. Dabei nehmen sie meist die Form von Stäbchen an, welche dann mehr oder weniger

noch an Länge und Dicke zunehmen, wobei sie oft verschiedene Gabelungen bekommen. Haben die Bakteroiden in ihrer Längenentwicklung und ihren Gabelungen ein gewisses Stadium erreicht, so tritt die Rückbildung zum Zwecke der Resorption ein. Dabei finden verschiedene Veränderungen sowohl in der Gestalt, als auch in dem substantiellen Verhalten statt, indem vielfach die Lichtbrechung schwächer wird, oder auch Partien dichter und mit Jodkaliumjod sich intensiv gelb färbender Substanz auftreten, worauf nun erst die eigentliche Resorption und der Verbrauch in der Pflanze erfolgt. — Sind die Bakteroiden aus den Zellen wieder verschwunden, so sieht man nur noch kleine Mikroben zurückgelassen; diese werden also von der Pflanze nicht resorbiert und kehren daher wieder beim Zerfall des alten Knöllchens in den Erdboden zurück.

12	II. Iotese.	
13	a. Genistese.	
14		1. Genista anglica
15		2. Linaria
16		3. Cytisus laburnum
17		
18	3. Trifoliese.	
19		4. Medicago sativa
20		5. Lophium
21		6. Trigonella foenum-graecum
22		7. Melilotus officinalis
23		8. Cicer
24		9. Trifolium pratense
25		10. (Moorbeet)
26		11. alpestris
27		12. inermatum
28		13. hybridum
29		14. repens
30		15. Lotus corniculatus
31		16. uliginosus
32		17. Tetraragolobus purpureus
33		
34	x. Galeese.	
35		18. Galega officinalis
36		19. Glycyrrhiza glabra
37		20. Colutea arborescens
38		21. Robinia pseudo-Acacia
39		22. Caragana frutescens
40		23. Anemone fruticosa

Verzeichnis der untersuchten Pflanzen.

Papilionaceae.

Seite

11

A. Phyllobeae.

I. Sophoreae.

11

- | | | |
|----|--------------------------|----|
| 1. | Virgilia lutea | 11 |
|----|--------------------------|----|

II. Loteae.

12

α. Genisteae.

12

- | | | |
|----|----------------------------|----|
| 2. | Genista anglica | 12 |
| 3. | „ tinctoria | 13 |
| 4. | Cytisus laburnum | 13 |

β. Trifolieae.

15

- | | | |
|-----|-------------------------------------|----|
| 5. | Medicago sativa | 15 |
| 6. | „ lupulina | 15 |
| 7. | Trigonella foenum graecum | 16 |
| 8. | Melilotus officinalis | 16 |
| 9. | „ coerulea | 17 |
| 10. | Trifolium pratense | 17 |
| 11. | „ „ (Moorboden) | 19 |
| 12. | „ alpestre | 19 |
| 13. | „ incarnatum | 20 |
| 14. | „ hybridum | 21 |
| 15. | „ repens | 21 |
| 16. | Lotus corniculatus | 21 |
| 17. | „ uliginosus | 21 |
| 18. | Tetragonolobus purpureus | 22 |

γ. Galegeae.

22

- | | | |
|-----|--------------------------------|----|
| 19. | Galega officinalis | 22 |
| 20. | Glycyrrhiza glabra | 23 |
| 21. | Colutea arborescens | 23 |
| 22. | Robinia pseud-Acacia | 23 |
| 23. | Caragana frutescens | 23 |
| 24. | Amorpha fruticosa | 24 |

	Seite
δ. Astragaleae.	25
25. Astragalus cicer	25
26. baeticus	25
III. Hedysareae.	25
α. Coronilleae.	25
27. Ornithopus perpusillus	25
28. " sativus	26
β. Onobrycheae.	26
29. Onobrychis sativa	26
B. Sarcolobeae.	27
I. Viceae.	27
30. Vicia villosa	27
31. " faba	27
32. " sativa	27
33. " Narbonensis	27
34. Lens esculenta (Ervum lens)	28
35. Lathyrus sativus	28
36. " silvestris	28
37. " latifolius	28
38. " tuberosus	29
39. Orobus vernus	29
40. Pisum sativum	30
II. Phaseoleae.	30
41. Phaseolus vulgaris	30
42. " multiflorus	30
43. Soja japonica	30
44. Wistaria chinensis (Glycine ch.)	30
45. Lupinus albus	30
46. " angustifolius	31
47. " luteus	31
48. " hirsutus	31
49. " polyphyllus	32
50. " perennis	32
Caesalpinaceae.	33
51. Haematoxylon campechianum	33
52. Tamarindus indica	33
53. Cassia marylandica	33
54. " spec.	33
55. " levigata	33

	Seite
56. <i>Cercis siliquastrum</i>	33
57. <i>Gymnocladus canadensis</i>	33
58. <i>Gleditschia triacanthos</i>	33

Mimosaceae. 34

59. <i>Mimosa pudica</i>	34
60. „ <i>acanthocarpa</i>	34
61. <i>Acacia lophanta</i>	34
62. „ <i>vera</i>	34
63. „ <i>heterophylla</i>	34
64. <i>Desmanthus virgatus</i>	35
65. <i>Neptunia oleracea</i>	36

Obenstehende Arbeit wurde im pflanzenphysiologischen Institute der Königlichen landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin ausgeführt. Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. A. B. Frank, verdanke ich nicht nur den Hinweis auf das vorliegende Thema, sondern auch freundlich gebotene Ratschläge und gütigst erteilte Belehrung bei der Ausführung der Arbeit. Ihm auch an dieser Stelle meinen innigsten Dank auszusprechen, ist mir ein dringendes Bedürfnis.

Vita.

Dietrich Morck, Sohn der Eheleute Landwirt Dietrich Morck und Friederike, geb. Schäfer, wurde geboren am 30. Dezember 1861 zu Wambel, Kreis Dortmund. Nach dem Tode meiner Eltern zog ich 1870 nach Dortmund und wurde hier bei einer Tante erzogen. Später trat ich in das Gymnasium genannter Stadt ein und absolvierte es Ostern 1884. Ich bezog nun die Universität Halle und liess mich bei der theologischen Fakultät einschreiben. Jedoch schon Ende des ersten Semesters musste ich wegen eines Augenleidens auf den Rat des Arztes mein Studium aufgeben. Ich wandte mich der praktischen Landwirtschaft zu und war in derselben 2 $\frac{1}{2}$ Jahre auf zwei verschiedenen Gütern thätig. Da nach Ablauf dieser Zeit eine Besserung meiner Augen eingetreten war, nahm ich Ostern 1888 das Studium wieder auf und hörte an der Königlichen Landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin; Herbst desselben Jahres liess ich mich an der Universität dieser Stadt immatrikulieren und widmete mich in diesem, wie in allen folgenden Semestern neben den landwirtschaftlichen Fächern auch den naturwissenschaftlichen. Von Ostern bis Michaelis 1889 studierte ich in Heidelberg, kehrte Anfang des Winter-Semesters nach Berlin zurück und blieb an der Universität daselbst bis Ostern 1891 immatrikuliert; während der letzten Semester betrieb ich besonders die naturwissenschaftlichen Disciplinen.

Mikroskopische Tafeln I—V.

Es ist zu bemerken, dass die Masse sämtlicher Zeichnungen im gegenseitigen Verhältnis stehen.

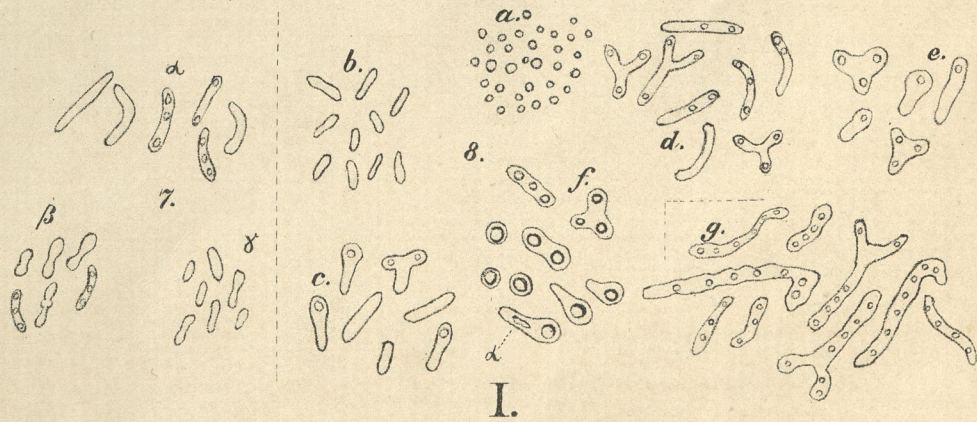
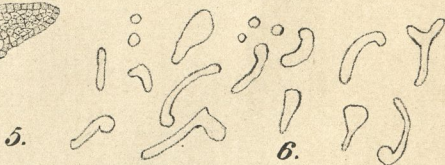
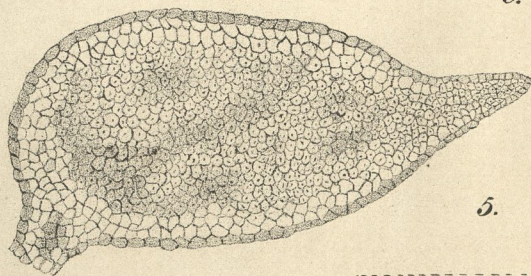
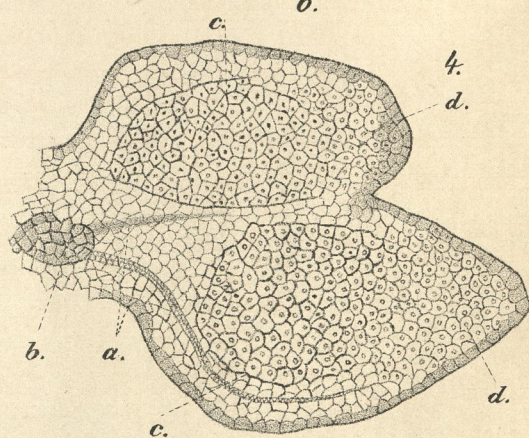
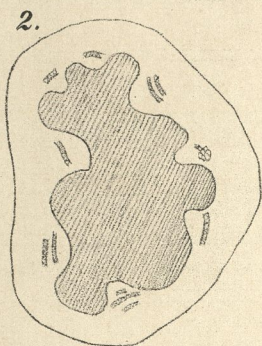
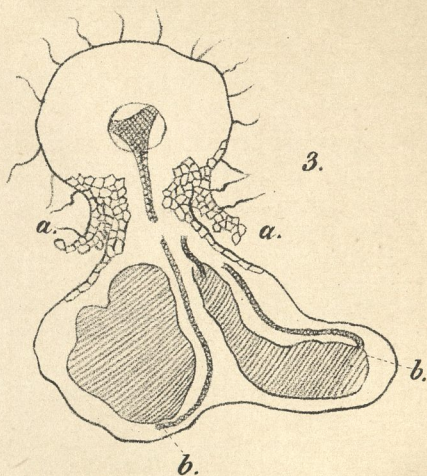
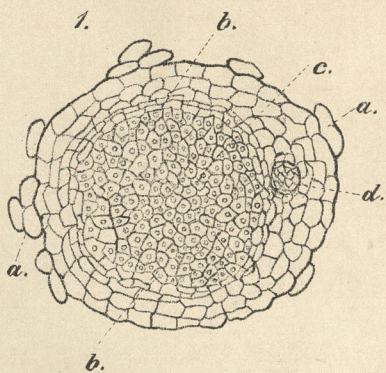
- I. 1. *Pisum sativum*. Querschnitt durch ein junges Knöllchen.
2. " " Querschnitt eines grösseren Knöllchens. Verlauf der Fibrovasalstränge.
3. " " Längsschnitt durch ein Knöllchen. Sprengung der Wurzelepidermis (a). Verlauf von Fibrovasalsträngen nach dem Vegetationspunkt des Knöllchens (b).
4. Längsschnitt durch ein Knöllchen von *Trifolium pratense*. Die Wurzel ist ein noch sehr zartes Nebenwurzeln.
5. Längsschnitt durch ein Knöllchen von *Caragana frutescens*.
6. Bakteroiden von *Genista anglica*.
7. " " " *tinctoria*; in aufsteigender Ordnung von jungen zu alten.
8. " " von *Cytisus laburnum*; in aufsteigender Ordnung.
- II. 1. Bakteroiden von *Medicago sativa*; } in aufsteigender Ordnung.
2. " " " *lupulina*; }
- 3a. " " *Trigonella foenum graecum*.
- 3b. Zellen aus dem Knöllchen (Bakteroidengewebe) von *Trigonella*.
4. Bakteroiden von *Melilotus officinalis*.
5. " " " *coerulea*.
6. Bakteroiden eines jungen Knöllchens von *Trifolium pratense*; }
7. Bakteroiden älterer Knöllchens von *Trifolium pratense*; } in aufsteigender Ordnung.
- III. 1. Bakteroiden von *Trifolium alpestre*.
2. " " " *incarnatum*.
3. " " " *hybridum* und *repens*.
4. " " *Lotus corniculatus*.
5. " " " *uliginosus*.
6. " " *Tetragonolobus purpureus*.
- 7a. Bakteroiden von *Galega officinalis*.
- 7b—e. Zellen aus dem Bakteroidengewebe von *Galega officinalis*.
8. Bakteroiden von *Robinia pseud-Acacia*.
9. " " *Caragana frutescens*.
10. " " *Amorpha fruticosa*.
11. " " *Astragalus cicer*.
- 12a. " " " *baeticus*.
- 12b. Zellen aus dem Bakteroidengewebe von *Astragalus baeticus*.

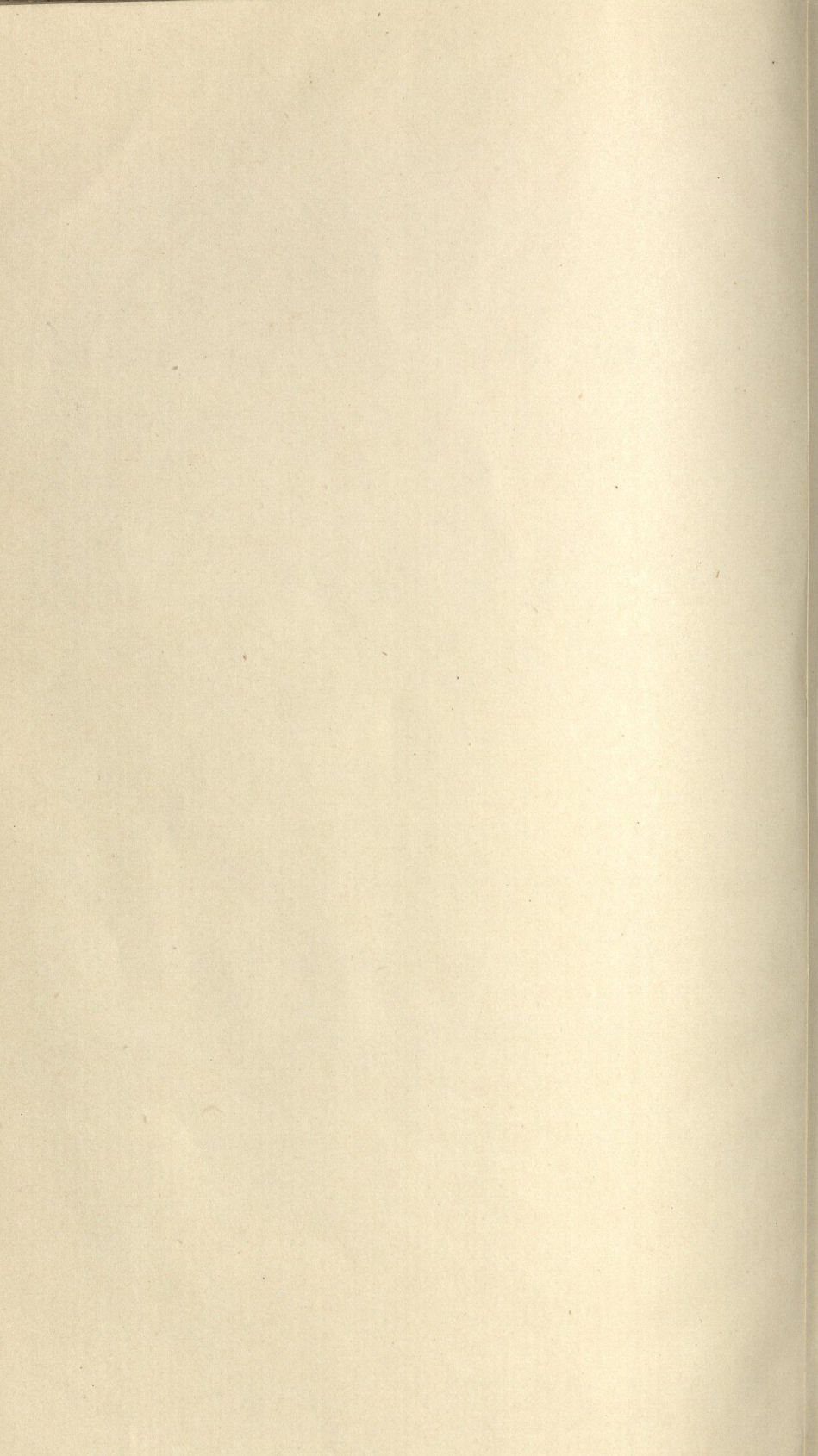
- IV. 1. *a* und *c*. Bakteroiden von *Ornithopus perpusillus*.
 1*b*. Zellen aus dem Bakteroidengewebe von *Ornithopus perpusillus*
 2. Bakteroiden von *Ornithopus sativus*.
 3. " " *Onobrychis sativa*.
 4. " " *Vicia villosa*.
 5. " " " *faba*.
 6. " " " *sativa*.
 7. Bakteroiden von *Lens esculenta* (*Ervum lens*).
 8. " " *Lathyrus silvestris*.
 9. " " " *latifolius*.
 10. " " " *tuberosus*.
 11. " " *Orobus vernus*. Altes Knöllchen.
 12. " " " " Junges "
 13. " " *Pisum sativum*.
 V. 1. Bakteroiden von *Phaseolus multiflorus*.
 2. " " *Lupinus albus*.
 3. " " " *luteus*.
 4. " " " *polyphyllus*.
 5. " " *Cassia marylandica*.
 6. " " " *spec.*
 7. " " *Mimosa acanthocarpa*.
 8. " " *Acacia lophanta*.
 9. " " " *vera*.
 10. " " " *heterophylla*.
 11. Bakteroiden von dem Vegetationspunkt eines jungen Knöllchens von *Desmanthus virgatus*.
 12. Bakteroiden eines älteren Knöllchens von derselben Pflanze.
 13. Bakteroiden von *Neptunia oleracea*.

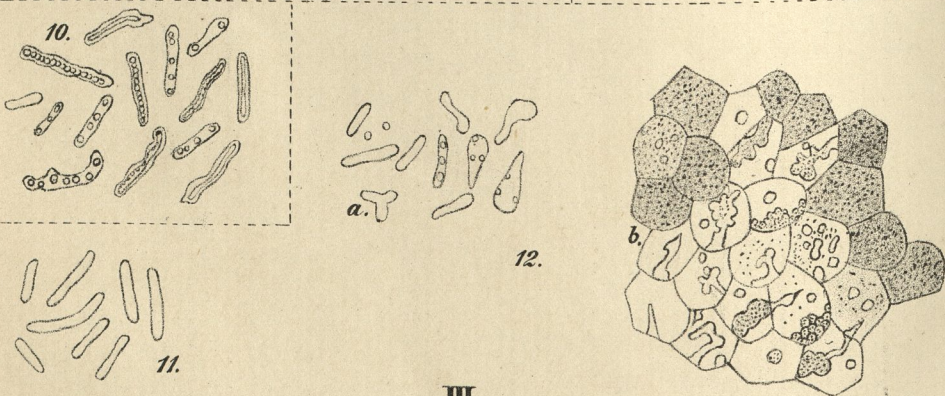
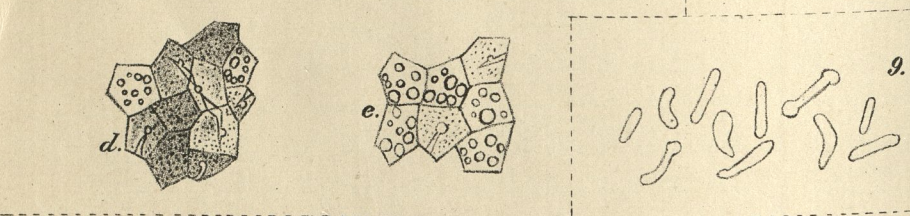
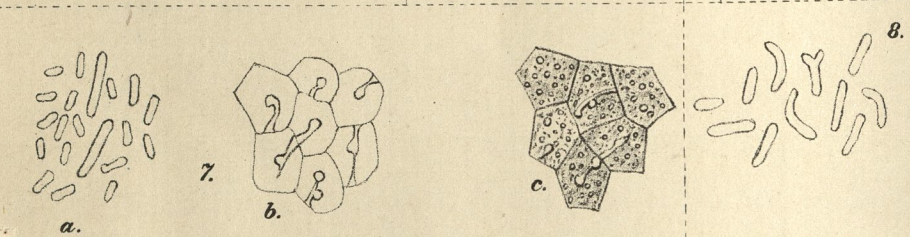
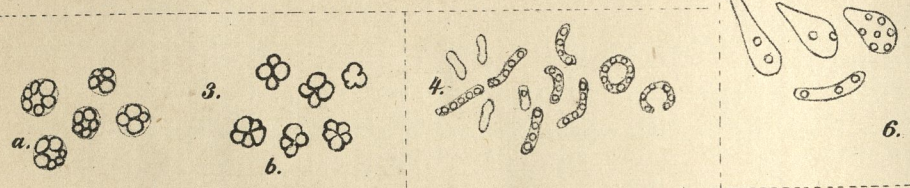
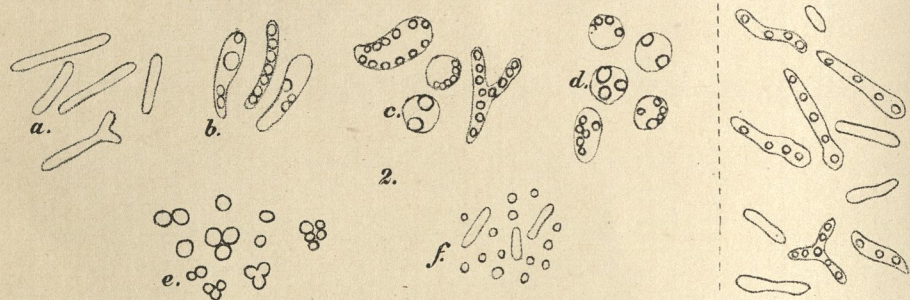
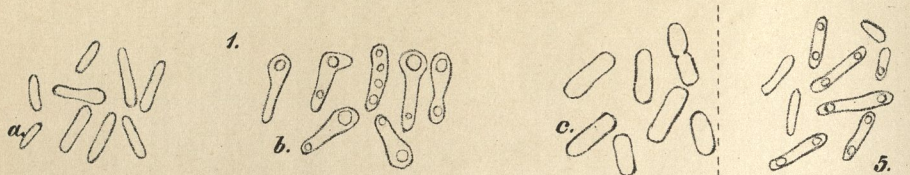
Inhalt.

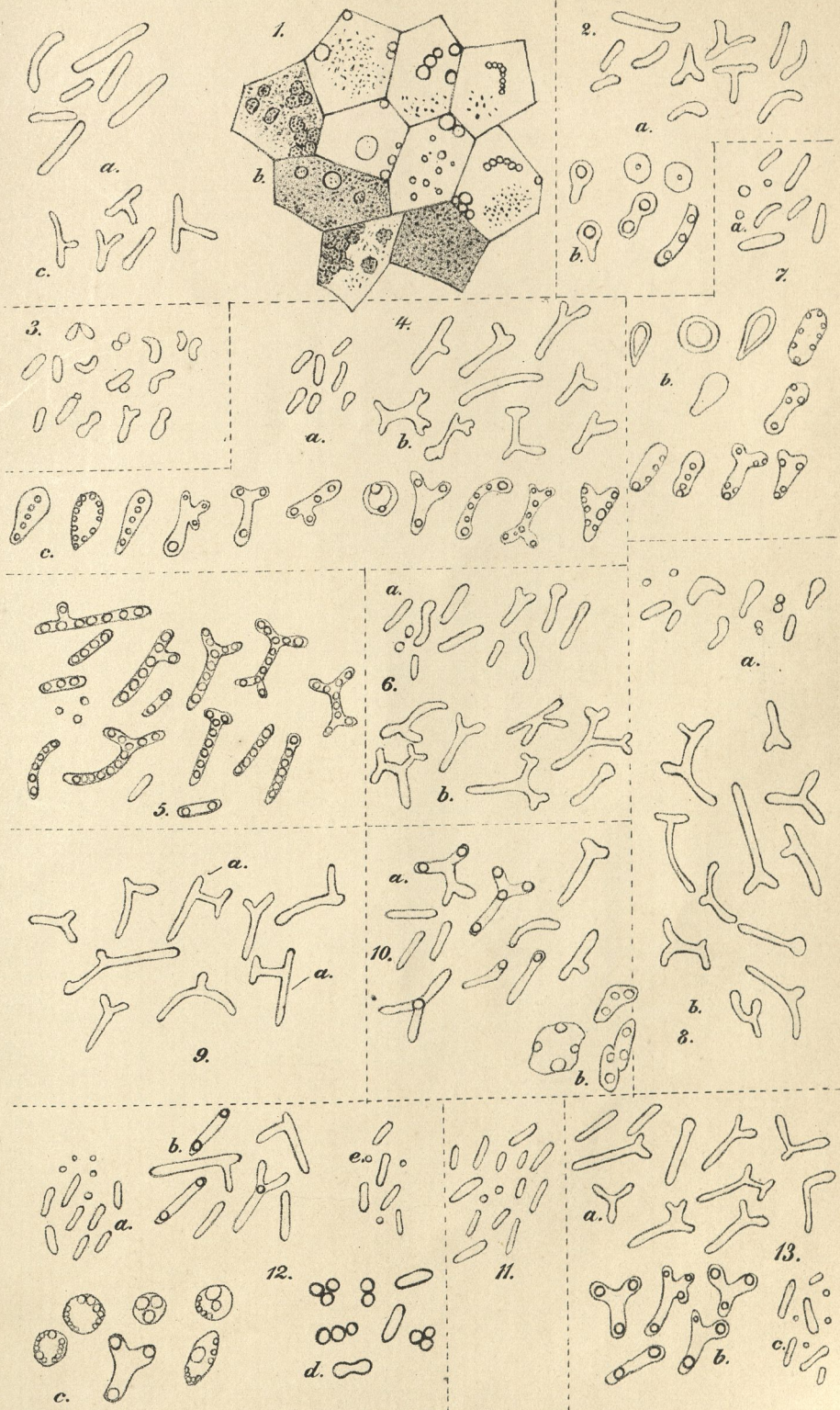
	Seite
I. Einleitung	1
II. Allgemeiner Teil.	
1) Die von den verschiedenen Forschern bis jetzt gefundenen Resultate der Bakteroiden-Untersuchungen	1
2) Auf das eigentliche Thema bezügliche Vorbemerkungen	8
a. Beschreibung des inneren Baues der Knöllchen	8
b. Die Tinktion der Bakteroiden und die Aufbewahrung von Präparaten	10
III. Spezieller Teil. *)	
1. Papilionaceen	11
2. Caesalpiaceen	33
3. Mimosaceen	34
IV. Resumé und Schluss	36

*) cf. Seite 38.











UB Wien



+AM505831004

Druck von Hesse & Becker in Leipzig.

