

O kemijskom karakteru peridije, kapilicija i membrana spora u miksomiceta.

(Über den chemischen Charakter der Peridie, des Kapillitiums und der Sporenmembranen bei Myxomyceten.)

Mr. Ph. Dragan Boić.

U novije se doba poslužila filogenija u nekim slučajevima i kemizmom kao kriterijem za prosuđivanje srodnosti (Wettstein 19. p. 33). Tako je i Fritz Wettstein pokušao, da stanovita filogenetska pitanja rješava uvaživši kemizam membranskih tvari. Raspravljajući o sistematskom položaju miksomiceta daje F. Wettstein osobitu važnost kemizmu membranskih tvari, koje se prema njegovim istraživanjima sastoje iz bjelančevina odnosno vjerojatno iz keratina. Kako su rezultati Wettsteinovih istraživanja od velike važnosti za filogenetsko prosuđivanje miksomiceta, a stoje u protimbi sa prijašnjim istraživanjima, potaknuo me je g. prof. Dr. V. Vouk, da preispitam sva istraživanja o kemizmu membranskih tvari miksomiceta. Kako su međutim kapilicij, peridija i membrane spora kod miksomiceta različite morfološke tvorevine, to ne možemo općenito govoriti o membranskim tvarima, već ćemo svaku od ovih tvorevina napose lučiti. Prva mi je zadaća bila, da mikrokemijskim reakcijama ispitam u koliko se doista radi o prisutnosti bjelančevina poimence keratina kod peridije, kapilicija i membrana spora, kako je to ustvrdio F. Wettstein. Pošto su već mnogi autori (de Bary, Wigand, van Wisselingh, Jahn i Wettstein) nalazili celulozu, to sam napose svratio pozornost ispitivanju celuloze. I ako je pitanje hitina u miksomiceta u glavnom u negativnom pravcu riješeno, to sam ipak smatrao potrebnim, da se i vlastitim ispitivanjem o tome uvjerim.

Smatram ugodnom dužnošću, da se i na ovom mjestu zahvalim g. prof. Dr. V. Vouku, koji je cijeli moj rad zorno pratio i mnogim

me savjetom pomogao, a zatim jav. redovnom profesoru kr. tehničke visoke škole u Zagrebu g. Karlu Mareku, koji je s najvećom susretljivošću izradio organsku elementarnu analizu.

I.

F. Wettstein (p. 8.) raspravljajući o membranskim tvarima kod miksomiceta, veli ovo: »Ich konnte feststellen, dass die Membranen dieser Pilze, des Kapillitiums, der Sporen und der Sporangienwände von Substanzen zusammengesetzt sind, die eiweissartigen Charakter tragen und wohl in die Gruppe der Keratine gehören. Sie geben die Eiweissreaktionen. Mit Salpetersäure tritt Gelbfärbung ein, Zusatz von Ammoniak färbt orangegelb, von Natriumhydroxyd braun. Die Millon'sche Probe ist deutlich und Zucker + Schwefelsäure gibt meist eine purpurne Färbung, selten mehr violett. Die starke Schwarzfärbung durch Kalilauge und Bleiacetat deutet auf den für die Keratine charakteristischen Reichtum an abspaltbarem Schwefel. Die Substanzen sind nur in heissen Laugen und Säuren löslich. Sehr störend wirken hier verschiedene Farbstoffe, die aber meistens durch sehr schwache Chromsäure oder Kaliumpermanganat + Schwefelsäure entfernt werden können. Die Zugehörigkeit zu den Keratinen scheint mir sehr wahrscheinlich und in der Verbreitung dieser Substanzen zeigt sich bei den untersuchten Formen grosse Einheitlichkeit.

Der Stamm der Myxophyten erscheint durch die Zusammensetzung aus Keratinen, durch das Zurücktreten von Zellulose der Membranen und Fehlen von Chitin gegenüber den übrigen Pflanzenstämmen, bei denen eiweissartige Substanzen als Membranbildner fehlen, scharf charakterisiert.«

Dosljedno ovim svojim istraživanjima zaključuje F. Wettstein, uvaživši kemizam membranskih tvari, (p. 16.): »Die auch sonst isolierte Stellung der Myxomyceten unter den Pflanzen kommt dadurch auch in membranchemischer Hinsicht zum Ausdruck.«

Wettstein ne spominje pojedine vrste, kod kojih mu je uspjelo dokazati bjelančevine, već veli općenito, da se membrane spora, kapilicija i stijenke sporangija sastoje iz bjelančastih tvari, vjerojatno iz keratina.

Za dokazivanje bjelančevina služio se Wettstein tek Millonovim i Raspailovim reagensom, zatim ksantoprotein i sumporovom reakcijom i zaključuje jamačno baš po ovoj potonjoj reakciji na prisutnost keratina, jer su objekti, prema njegovim istra-

živanjima, poprimili jako crnu boju nakon djelovanja kalijeve lužine s olovnom acetatom. U istraživanjima posvetio sam za to osobitu pažnju upravo onim reakcijama, koje su karakteristične za keratine. To su bjelančevine iz grupe proteinoida (albuminoida) sa relativno mnogo sumpora (1. p. 551 i 575, 2. p. 169 i 193, 10. p. 330, 11. p. 327). Keratini su netopivi u probavnim fermentima, a vrlo su otporni prema kemijskim agencijama. Hladne kiseline otapaju ih tek djelomično nakon duljeg djelovanja. U 20% otopini kalijeve lužine otapaju se keratini kod obične temperature, a u 10% otopini tek kod zagrijavanja. U vrućoj solnoj kiselini bojadišu se violetno ili modro. Millonova i sumpor-olovna reakcija su karakteristične za keratine. Osim ovih reakcija daju nam keratini i sve ostale reakcije na bjelančevine izuzev Molischevu.

Za istraživanja upotrijebio sam ove miksomicete: *Cribraria aurantiaca* (Schrader), *Lycogala epidendrum* (Fr.), *Trichia Botrytis* (Pers.) i *Trichia decipiens* (Mach.).

Istraživanja koncentrovanim i razrijeđenim mineralnim kiselinama (HCl, H₂SO₄ i HNO₃) vrućom 10% i hladnom 20% otopinom kalijeve lužine pokazala su, da su kapilicij, peridija i membrane spora doista vrlo otporne prema kiselinama i lužinama, kako je to i F. Wettstein konstatovao. Samo u vrućoj koncentrovanoj sumpornoj kiselini i dušičnoj kiselini otapaju se peridija, kapilicij i membrane spora posvema. Poredimo li pak djelovanje spomenutih mineralnih kiselina i lužina na prave keratine (u tu mi je svrhu poslužio čovječji nokat) sa djelovanjem na peridiju, kapilicij i membrane spora, to vidimo različito djelovanje. Tako na pr. nokat u vrućoj koncentrovanoj solnoj kiselini lijepo pomodri (tipično za keratine) i doskora se posve otapa, naprotiv peridija, kapilicij i membrane spora ne pomodre i tek u gdiekojem slučaju se neznatno otapaju. U vrućoj 10% i hladnoj 20% otopini kalijeve lužine nokat se posvema otapa (karakteristično za keratine), naprotiv peridija i membrane spora se ne otapaju tek na gdiekojem kapiliciju zapaža se neznatno otapanje (?). U hladnim agensima ostavio sam objekte 6 sati, a onim objektima, koje sam promatrao u vrućim agensima dodao sam pod pokrovnim stakalcem po nekoliko puta dotični agens i uvijek ugrijavao do vrelišta.

Prema svemu ovome proizlazi, da po djelovanju mineralnih kiselina i lužina na peridiju, kapilicij i membrane spora ne možemo još zaključivati na keratine.

Od mikrokemijskih reagensa, koji bojadišu bjelančevine (15. p. 409, 8. p. 62, 9. p. 311), upotrijebio sam:

1. *Millonov reagens*. Objekti su odležali cijeli sat u hladnom reagensu.
2. *Ksantoprotein reakcija*. Nakon kratkog grijanja u koncentrovanoj dušičnoj kiselini dodana je objektima koja kap razrijeđenog amonijaka.
3. *Sumpor-olovna reakcija*. Objekti su grijani kratko vrijeme u smjesi otopine bazičnog olovnog acetata i 50% otopine kalijeve lužine.
4. *Molischeva reakcija*. Objektina u 15% alkoholnoj otopini α -naftola dodana je pod pokrovnim stakalcem kap koncentrovane sumporne kiseline.
5. *Adamkiewiczeva reakcija*. Objekti su promatrani u smjesi jednakih voluma koncentrovane sumporne kiseline i ledenoga octa (*acidum aceticum glaciale*) najprije kod obične temperature, a onda nakon zagrijavanja.
6. *Biuret-reakcija*. Nakon posatnog djelovanja zasićene otopine bakrenog sulfata ispirani su objekti koji čas u destilovanoj vodi i onda im je pod pokrovnim stakalcem dodana kap 50% otopine kalijeve lužine.
7. *Aldehid-reakcija*. Nakon 24-satnog djelovanja 0.5% alkoholne otopine (95% alkohol) vanilina preneseni su objekti u smjesu jednakog voluma koncentrovane sumporne kiseline i destilovane vode, kojoj je dodana kap 10% otopine ferisulfata.
8. *Pikrinova kiselina*. Objekti su bili cijeli sat u zasićenoj otopini pikrinove kiseline, zatim su ispirani po više sati destilovanom vodom, a onda promatrani u glicerinu.
9. *Reakcija s ferocijankalijem*. Nakon 4-satnog djelovanja smjese od 2 voluma 5% otopine kalijeva ferocijanida i 1-nog voluma octene kiseline ispirani su objekti 18 sati u tripot izmijenjenom 60% alkoholu. Zatim im je dodana pod pokrovnim stakalcem kap smjese od 1-nog voluma željeznog klorida i 9 voluma destilovane vode.
10. *Raspailov reagens*. Nakon posatnog djelovanja zasićene sladorne otopine promatrani su objekti u koncentrovanoj sumpornoj kiselini. Taj reagens služi za dokazivanje sladora i bjelančevina. Tunmann (p. 416) ga zabacuje kao reagens na bjelančevine, a Mayer (p. 62) ga govoreći o mikrokemijskim reakcijama na bjelančevine uopće i ne spominje. Pošto se Wettstein njime služio, to sam ga uvrstio kontrole radi.

Vrsta *Trichia Botrytis* je više ili manje grimizno crveno obojena, pa se radi prirodne boje ne bi mogle kod nje jasno zapažati mnoge reakcije poimence Millonova, to sam mjesto nje istražio vrstu *Stemonitis fusca*. Pošto kod materijala vrste *Stemonitis fusca*, koja je služila mojim istraživanjima nije više bilo peridije, koja u zrelim

stadijima redovno nestaje, to je istražen mjesto peridije hipotalus. I kod ovih istraživanja promatrao sam paralelno reakcije na noktu. Rezultati ovih istraživanja prikazani su u skrižaljci I.

Pregledamo li skrižaljku, to možemo konstatovati ovo: na noktu, kao čistom keratinu, sve su reakcije izuzev Molischevu dale pozitivne rezultate, naprotiv peridija pokazala je gotovo u svim, kapilicij u većini slučajeva, a membrane spora u svim slučajevima negativni rezultat.

Skrižaljka I.

Reakcije na bjelančevine.

Reagens	Nokat	Cribraria aurantiaca			Lycogala epidendrum			Trichia decipiens			Stemonitis fusca		
		Peridija	Kapilicij	Membrane spora	Peridija	Kapilicij	Membrane spora	Peridija	Kapilicij	Membrane spora	Hipotalus	Kapilicij	Membrane spora
Millonov	+	+?	+?	-	+?	+?	-	+?	+?	-	-	-	-
Biuret	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ksantoprotein	+	-	+	-	+*	+	-	-	+	-	-	+	-
Sumpor-olovni (Schwefelblei)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Raspailov	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pikrinova kiselina	+	+?	-	-	-	+	-	-	+?	-	+?	-	-
Aldehyd	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Molischev	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ferocijan-kalij	+	+?	+	-	+*	+	-	-	-	-	-	-	-
Adamkiewiczew	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+* znači pozitivnu reakciju na mjestima gdje izlazi kapilicij.

Millonovim reagensom obojadesali su se unutarnji dijelovi peridije i kapilicij vrste *Trichia decipiens*, zatim kapilicij i dijelovi peridije (mjesto gdje izlazi pseudokapilicij) vrste *Lycogala epidendrum*.

drum i dijelovi peridije vrste *Cribraria aurantiaca* više ili manje tamno smeđe-crvenkasto. Reakcija nije u nijednom slučaju izuzev nokat pokazala tipsku (poput opeke) crvenu boju.

Biuret reakcija pokazala je uvijek negativne rezultate. Kod peridije i kapilicija vrste *Cribraria aurantiaca* zapažala se doduše violetna boja, no jednaka se boja pojavila i nakon djelovanja same 50% kalijeve lužine.

Ksantoprotein reakcija pokazala je kod sviju kapilicija izrazito pozitivne rezultate. Kod peridije nijesam se mogao uvjeriti radi li se tu doista o pozitivnoj reakciji, budući da se pojedini dijelovi peridije bojadišu već amonijakom više ili manje žuto (9. p. 311).

Sumpor-olovna reakcija (Schwefelbleiprobe), koja je zajedno s Millonovom karakteristična za dokaz keratina, pokazala je uvijek negativan rezultat. Svi dijelovi istraživanih objekata potamnili su doduše nešto, no jednako sam potamnjenje mogao zapaziti, ako sam objekte grijao u samoj 50% kalijevoj lužini. Ni jedan objekt nije pocrnio, kako to Wettstein izričito tvrdi.

Raspailova reakcija pokazala je također uvijek negativan rezultat. Prikrinova kiselina obojadisala je kapilicij vrste *Lycogala epidendrum*, dijelove peridije vrste *Cribraria aurantiaca* i pojedina mjesta hipotalusa vrste *Stemonitis fusca* neznatno žuto.

Aldehid, Molischeva i Adamkiewiczzeva reakcija pokazale su negativne rezultate.

Reakcija s ferocijankalijem pokazala je pozitivan rezultat kod kapilicija i onih dijelova peridije vrste *Lycogala epidendrum* gdje izlazi pseudokapilicij. Peridija vrste *Cribraria aurantiaca* obojadisala se tu i tamo neznatno modro-smeđe.

Membrane spora pokazale su dakle u svim slučajevima negativnu reakciju, tek sadržina spora, a to je posve razumljivo, dala je u više slučajeva (osobito kod ksantoproteinske i Raspailove) pozitivnu reakciju na bjelančevine.

Smeđe-crvena boja kapilicija kod vrsta *Trichia decipiens*, *Lycogala epidendrum* i *Cribraria aurantiaca* nakon djelovanja Millonovog reagensa ne znači nikako još sigurnu reakciju na bjelančevine, pogotovo kad znamo (15. p. 411, 9. p. 311), da se i mnogi aromatski spojevi bojadišu Millonovim reagensom više ili manje smeđe-crveno, ali ksantoprotein-reakcija, koja je kod svih istraživanih kapilicija dala pozitivne rezultate, upućuje nas na prisutnost bjelančevina. Od dušične kiseline kapilicij je požutio, zatim je nakon dodanog amonijaka postao naglo smeđe-žut. a T u n m a n n veli (15. p. 412.)

govoreći o ksantoprotein reakciji: »... denn den scharfen Übergang der gelben Farbe in Braungelb bei Ammoniakzusatz zeigen nur die Eiweissstoffe.« Osim ksantoprotein reakcije pokazao je kapilicij vrste *Lycogala epidendrum* pozitivnu reakciju s pikrinovom kiselinom i s ferocijankalijem.

Kod peridije nijesam dobio u nijednom slučaju izrazitu reakciju na bjelančevine. Pozitivna reakcija s ferocijankalijem u onim dijelovima peridije vrste *Lycogala epidendrum*, gdje izlazi pseudo-kapilicij potječe jamačno od kapilicija.

Fermenti pepsin i tripsin ne otapaju peridiju, kapilicij, a ni membrane spora. Svi su istraživani objekti postali nakon višednevnog djelovanja fermentata (specijalno nakon djelovanja tripsina) znatno jasniji, tako su se na pr. jasno isticala odebljanja kod kapilicija vrsta *Trichia Botrytis*, *Trichia decipiens* i *Arcyria denudata*, no u nijednom slučaju nijesam mogao konstatovati otapanje nakon djelovanja fermentata. Otopine pepsina i tripsina priređene su po Meyeru (p. 63), a djelovale su na objekte 5—7 dana kod temperature od cca 38—40° C. Tu treba odmah istaknuti, da netopivost peridije, kapilicija i membrana spora u fermentima ne znači još mnogo, jer ima i drugih organskih supstanca, tako na pr. hitinske membrane (15. p. 606), koje se ne otapaju u fermentima.

Kako su mikomiceti više manje intenzivno obojeni, a boje često vrlo smetaju pojedinim reakcijama (18. p. 8), to sam pokušao da odbojadišem istraživane objekte i nakon toga da ispitam reakcije na bjelančevine. Benzol, toluol, ksilol, kloroform i destilovana voda ne djeluju gotovo ništa na naše objekte.

Nakon djelovanja alkohola objekti su se neznatno odbojadisali. Reakcije na bjelančevine, one kojima se Wettstein služio (Millonova, Raspailova, ksantoprotein i sumpor-olovna), dale su jednake rezultate kao kod posve nebojenih objekata.

Van Wisselingh (21. p. 641), Wester (p. 43), Jahn (p. 292), a i Wettstein (p. 8.) služili su se slabom otopinom kromove kiseline, da uklone kod istraživanih objekata razne boje. Pokušao sam dakle raznim otopinama kromove kiseline, da uklonim kod istraživanih objekata razne boje. Objekti ležali su različito dugo (sat, dva, dan, a i po više dana) u 0.01, 0.02, 0.05, 0.10, 0.20 i konačno u 1% otopini kromove kiseline, no u nijednom slučaju nijesam mogao konstatovati, da su objekti postali bezbojni. Nakon djelovanja kromove kiseline prevalirala je uvijek sad manje, a sad opet više žuta boja (jamačno od kromove kiseline). Kad sam na to

kušao kod vrsta *Lycogala epidendrum* i *Stemonitis fusca* Millonovu, Raspailovu, ksantoprotein i sumpor-olovnu reakciju, došao sam i opet do istih rezultata kao kod neobojenih objekata.

Htio sam nadalje, da odbojadišem objekte diafanolom. No kako ovaj reagens djeluje na nekoje aminokiseline (14. p. 1534) među ovima i na tirozin i cistin, koje dolaze u keratinima, to se nijesam njime poslužio.

Da podkrijepim mikrokemijskim putem dobivene rezultate, bilo je potrebno, da se učini paralelno i makrokemijsko ispitivanje.

U ovu svrhu sabrao sam toliku količinu vrste *Lycogala epidendrum*, da su osušene i izolirane peridije od ove vrste dostajale za elementarnu analizu. Sav materijal je najprije pomno očišćen od spora i kapilicija. Zatim je jedan dio ispran hladnom destilovanom vodom, a drugi dio eterom.

Ovaj na oko posve očišćen materijal (velim na oko, jer se pod mikroskopom i sad mogla zapaziti po gdjevoja spora i dosta kapilicija, kako se drži peridije) osušen je kroz više dana u eksikatoru i podvrgnut analizi, koju je izveo g. prof. Marek u laboratoriju za organsku kemiju na tehničkoj visokoj školi.

Analize su dale ove brojke:

I. Analiza (Materijal ispran destilovanom vodom)	II. Analiza (Materijal ispran eterom)
C 47.43 %	C 45.79 %
H 6.52 %	H 6.15 %
N 3.03 %	N 2.85 %
S 0.25 %	S 0.95 %
O 42.77 %	O 44.26 %
Pepeo 0.54 %	Pepeo 0.47 %

Isporedimo li ove približno jednake rezultate sa postocima analiza kod bjelančevina, kod kojih nalazimo prema H o l l e m a n u (p. 267) ugljika 50—55%, vodika 6.5—7.3%, dušika 15—17.6%, kisika 19—24% i sumpora 0.3—2.4% to vidimo, da se analize tek u postocima vodika i sumpora približno podudaraju, dok su znatnije difference u postocima kisika, a specijalno dušika.

Poredimo li nadalje rezultate Marekove analize sa rezultatima analiza nekih keratina, to vidimo, da je posve isključeno da se glavna sadržina peridije spomenutih vrsta sastoji iz keratina.

Maleni postoci dušika i sumpora, po kojima bismo mogli zaključivati na bjelančevine odnose se vjerojatno samo na sadržinu spora i na kapilicij t. j. na one dijelove, koje nijesmo mogli prije analize od peridije posvema ukloniti, a ne na samu peridiju.

Pregled elementarnog sastava nekih keratina (10. p. 332.)

	C %	H %	N %	S %	Autor
Čovječje vlasi (Menschenhaare)	50,65	6,36	17,14	5,00	v. Laar
Čovječji nokti (Menschennagel)	51,00	6,94	17,51	2,80	Mulder
Neurokeratin	56,11—58,45	7,26—8,02	11,46—14,32	1,63—2,24	Kühne und Argiris
Rog (Horn)	50,86	6,94	—	3,20	Horbaczewski
Kornjačevina (Schildpatt)	54,89	6,56	16,77	2,20	Mulder
Ljušturna koža (Schalenhaut)	49,78	6,94	16,43	4,25	Lindvall
Kokošji koilin (Hühnerkoilin)	53,32	6,79	15,60	1,30	Hofmann und Pregl

Prema djelovanju mineralnih kiselina i lužina, prema reakcijama koje bojadišu bjelančevine i konačno prema rezultatu Marekove organske elementarne analize možemo zaključiti, da se glavna sadržina peridije i membrana spora kod miksomiceta ne sastoji iz bjelančevina, dakle niti iz keratina, kako to misli F. Wettstein.

Djelomično pozitivne reakcije s ferocijankalijem i pikrinovom kiselinom kod kapilicija nekih vrsta, a pozitivna ksantoprotein reakcija kod sviju istraživanih kapilicija dozvoljava ipak mogućnost, da kapilicij sadrži neke nepoznate bjelančaste spojeve. Istraživanja u tom pravcu trebat će napose nastaviti i ako već nakon svih naših reakcija možemo ustvrditi, da o keratinima ne može biti niti govora.

II.

Van Wisselingh (21. p. 658), Wester (p. 73), Jahn (p. 292), Cihlarova (p. 10) i Wettstein (p. 7.) istraživali su van Wisselinghovom metodom (21. p. 658 i 22. p. 18) hitin kod

miksomiceta. Svi su ovi autori u glavnom konstatovali kod velikog broja raznih miksomiceta, da se membranske tvari miksomiceta ne sastoje od hitina. Napose za vrstu *Stemonitis fusca* postoji odvojeno mišljenje. Prema Westerovim, Jahnovim i Wettsteinovim istraživanjima ne dolazi kod te vrste hitin, dok Cihlarova spominje, da kapilicij spomenute vrste sadrži hitin. Ova odvojenost ponukala me je, da se ipak vlastitim ispitivanjem uvjerim o ovom posebnom slučaju. Cihlarova je istraživala hitin van Wisselinghovom metodom skraćenim Voukovim (p. 413—415) načinom. Na jednaki sam način istražio vrste: *Lycogala epidendrum* (L.) *Trichia decipiens* (Pers.) i specijalno *Stemonitis fusca* (Roth.)

Kod svih pokusa dobio sam jodiokalijem i razrijeđenom sumpornom kiselinom (1%) više ili manje jedno-smeđu boju, dakle negativnu hitinsku reakciju. Objekti su se doista kako to Cihlarova ističe u razmjerno kratko vrijeme više ili manje raspadali, no pozitivnu hitinsku reakciju nijesam polučio ni kod preostalih dijelova vrste *Stemonitis fusca*. Kapilicij spomenute vrste nije se u nijednom slučaju obojadesao jasno crveno-violetno. Do istog rezultata kod ove vrste došli su Wester, Jahn i Wettstein. Kako kapilicij ove vrste ima sam po sebi smeđe-violetnu boju, koja prelazi, osobito nakon duljeg djelovanja kalijeve lužine, već samom sumpornom kiselinom u violetno-modru boju (3. p. 34 i 66.), mislim da je to bilo razlogom, da je Cihlarova došla do spomenutog odvojenog rezultata.

Jedini slučaj pozitivne hitinske reakcije preostao je još od van Wisselinghovich istraživanja za vrstu *Plasmodiophora Brassicae*, no kako prema novijim istraživanjima (19. p. 179) ubrajamo vrstu *Plasmodiophora Brassicae* među hitridineje, a ne među miksomicete, to je danas nedvojbeno utvrđeno, da kod miksomiceta nema hitina.

III.

Prema istraživanjima de Barya (3. p. 33 i 78, 4. p. 475) i Wiganda (20. p. 4.) ne mogu se u većini slučajeva kod miksomiceta polučiti celulozne reakcije. Tek u mladim stadijima pokazuju neke trihijaceje, arcirijaceje i vrsta *Lycogala epidendron* celulozne reakcije. Tako se bojadišu nutarnji slojevi peridije kod vrsta *Trichia furcata* Wig., *pyriformis* i *Trichia varia* jodom i sumpornom kiselinom nejasno modro, a membrane spora kod vrsta *Arcyria cinerea*, *punicea*, *nutans* i *Lycogala epidendron* izrazito modro. Kapilicij ne pokazuje prema Wigandu (p. 8.) jasnu celuloznu reakciju, a de Bary (3. p. 34 i 66) spominje, da se kapilicij vrste *Didymium*

nigripes i vrste *Stemonitis fusca* bojadiše već sa samom sumpornom kiselinom jasno modro-violetno, pa ističe, da to može biti uzrokom pogriješnom zaključivanju prisutnosti celuloze. I Z o p f (p. 41) veli, da se peridija (Sporocystenhaut) sastoji u gdje kojem slučaju iz tvari, koje se bojadišu jodom i sumpornom kiselinom modro a isto tako pokazuju celuloznu reakciju nježne, bezbojne ili samo diluirano obojene membrane spora (p. 53) vrstâ *Lycogala epidendrum*, *Trichia varia* i od gdje kojih arcirijaceja.

V a n W i s s e l i n g h u (21. p. 649) uspjelo je dokazati celulozu glicerinskom metodom, jodom i sumpornom kiselinom, klorcinkjodom i kuprooksidamonijakom u membranama spora kod vrste *Didymium squamulosum*, naprotiv kod vrste *Fuligo septica* nije mogao dokazati celulozu.

J a h n (p. 292) veli, nadovezujući istraživanja na d e B a r y e v a, da se kod vrste *Stemonitis fusca* bojadišu u mladom stadiju svi membranski dijelovi, koji ostaju bezbojni, naročito bezbojni hipotalus, intenzivno modro klorcinkjodom i jodom i sumpornom kiselinom. U kasnijem stadiju pretvaraju se ti dijelovi po J a h n u (p. 293) u nekakovu modifikaciju celuloze, kod koje se ne mogu više polučiti celulozne reakcije.

W e t t s t e i n (p. 7.) potvrđuje J a h n o v a istraživanja kod vrstâ *Stemonitis* i *Comatricha* i veli, kritikujući d e B a r y e v a istraživanja, da se u mladom stadiju kod trihijaceja, arcirijaceja i likogalaceja ne mogu bez daljnega polučiti celulozne reakcije. U većini slučajeva nije mu uspjelo dokazati celulozu.

Svim spomenutim autorima uspjelo je polučiti celulozne reakcije tek u mladim stadijima kod nekih vrsta. Kako je v a n W i s s e l i n g h međutim dokazao celulozu u zrelih sporama vrste *Didymium squamulosum*, a kod vrste *Fuligo septica* nije mu uspjelo dokazati celulozu, to je bilo od interesa pitanje 1.) dolazi li celuloza samo kod nekih miksomiceta 2.) dolazi li pretežno u mladim stadijima i 3.) da li se stanoviti dijelovi miksomiceta sastoje i u zreлом stadiju iz celuloze.

Poznato je, da se pomoću diafanola (12. p. 1860, 13. p. 3041) mogu kod botaničkih objekata odstraniti razne inkruste, tako da nam preostanu kao skelet ugljohidrati na koje diafanol ne djeluje.

Kako se dosljedno tome, prema istraživanjima E. S c h m i d t a i E. G r a u m a n n a (p. 1860), celuloza diafanolom ne mijenja, to sam pokušao, da istražim celulozne reakcije kod zrelih miksomiceta nakon djelovanja diafanola. U tu sam svrhu istražio ove zrele vrste:

Stemonitis fusca (Roth), *Cribraria aurantiaca* (Schrader), *Lycogala epidendrum* (Fr), *Trichia Botrytis* (Pers.), *Trichia decipiens* (Macb.) i *Arcyria denudata* (Wett.) Objekti su odležali u diafanolu u dobro zatvorenim bočicama u tami 24, 48 i konačno 72 sata. Zatim sam ih oprezno ispirao 12, 20 i 30 sati destilovanom vodom, koja je češće izmjenjivana, a onda sam im dodavao celulozne reagense.

Za dokazivanje celuloze služio sam se: klorcinkjodom (Behrens Tabellen 1908 p. 155), otopinom kalijeva jodida s jodom (KJ 0.50 gr., J 1 gr i H₂O 100 gr.), koncentrovanom sumpornom kiselinom (3 dijela H₂SO₄ i 1 dio H₂O) i Schweizerovim reagensom.

Rezultati ovih istraživanja prikazani su u skrižaljci II.

Skrižaljka II.

Reakcije na celulozu
nakon djelovanja diafanola

Vrsta	Klorcinkjod									Jod i sumporna kiselina								
	Peridija			Kapilicij			Membrane spora			Peridija			Kapilicij			Membrane spora		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
<i>Stemonitis fusca</i> ¹	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+
<i>Cribraria aurantiaca</i> ²	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
<i>Lycogala epidendrum</i> ³	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
<i>Trichia Botrytis</i> ²	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+
<i>Trichia decipiens</i> ²	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
<i>Arcyria denudata</i> ²	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+

I. U diafanolu 24 sata. Ispirano u H₂O 12 sati.

II. " 48 " " " 20 "

III. " 72 " " " 30 "

Nakon 24-satnog djelovanja diafanola i 12-satnog ispiranja destilovanom vodom pokazuje nam reakcija klorcinkjodom neznatnu violetnu boju kod pojedinih nutarnjih dijelova peridije vrste *Lycogala epidendrum*, kod dijelova peridije bliže dršku vrste *Cribraria*

¹ Mjesto peridije istražen je hipotalus. Reakciju daje veći dio hipotalusa.

² Kod peridije daju reakciju dijelovi bliže dršku.

³ Kod peridije daju reakciju tek pojedini nutarnji dijelovi.

aurantiaca, zatim kod membrana spora vrsta *Stemonitis fusca*, *Trichia Botrytis*, *Trichia decipiens* i *Arcyria denudata*.

Jodom i sumpornom kiselinom bojadišu se slabo modro dijelovi peridije bliže dršku kod vrsta *Cribraria aurantiaca* i *Trichia decipiens* i membrane spora kod vrste *Stemonitis fusca*, nadalje se bojadišu više ili manje jasno modro pojedini unutarnji dijelovi peridije i gdje koje membrane spora kod vrste *Lycogala epidendrum*, zatim hipotalus kod vrste *Stemonitis fusca* i membrane spora kod vrsta *Trichia decipiens* i *Trichia Botrytis*. Vrste *Cribraria aurantiaca* i *Stemonitis fusca* su djelovanjem diafanola gotovo posvema izbijelile. Niti jedan kapilicij nije pokazao celuloznu reakciju.

Nakon 48-satnog djelovanja diafanola i 20-satnog ispiranja destilovanom vodom pokazuje nam reakcija klorcinkjodom jasnu violetnu boju kod vrste *Cribraria aurantiaca* u dijelovima peridije bliže dršku, kod vrste *Lycogala epidendrum* u pojedinim unutarnjim dijelovima peridije, zatim kod većeg dijela hipotalusa vrste *Stemonitis fusca* i kod membrana spora vrsta *Trichia decipiens*, *Trichia Botrytis* i *Arcyria denudata*. Kod vrsta *Lycogala epidendrum* i *Cribraria aurantiaca* obojadisale su se membrane spora slabo violetno tek nakon duljeg djelovanja klorocinkjoda.

Jodom i sumpornom kiselinom obojadisali su se modro-zelenkasto dijelovi peridije bliže dršku, a jasno modro su se obojadisali pojedini unutarnji dijelovi peridije kod vrste *Lycogala epidendrum*, veći dio hipotalusa vrste *Stemonitis fusca* i membrane spora kod vrsta *Lycogala epidendrum* i *Trichia decipiens*. Kod sviju ostalih istraživanih vrsta pokazale su membrane spora slabu modru boju. Kapilicij se kod svih vrsta znatno raspao (kod vrste *Cribraria aurantiaca* posvema), a preostali dijelovi dali su uvijek negativne celulozne reakcije.

Nakon 48-satnog djelovanja diafanola pokazale su dakle membrane spora kod sviju istraživanih vrsta celulozne reakcije, naprotiv peridije pokazale su u glavnom jednake rezultate kao nakon 24-satnog djelovanja diafanola. Peridije vrsta *Trichia Botrytis* i *Arcyria denudata* nijesu se obojadisale u nijednom svom dijelu ni violetno, a ni modro.

Istom nakon 72-satnog djelovanja diafanola i 30-satnog ispiranja destilovanom vodom pokazale su peridije kod sviju istraživanih vrsta u stanovitim dijelovima celulozne reakcije. Tako su se obojadisali klorcinkjodom, jodom i sumpornom kiselinom, izrazito violetno odnosno modro pojedini unutarnji dijelovi peridije vrste

Lycogala epidendrum, zatim dijelovi peridije bliže dršku kod vrsta *Cribraria aurantiaca*, *Trichia decipiens*, *Arcyria denudata* i veći dio hipotalusa vrste *Stemonitis fusca*. Peridija vrste *Trichia Botrytis* redovno se za vrijeme istraživanja raspadala, no u jednom mi je slučaju ipak uspjelo polučiti jodom i sumpornom kiselinom neznatnu modru boju i kod te peridije u dijelovima bliže dršku.

Nakon 72-satnog djelovanja diafanola svi su objekti znatno izbljediti. Vrste *Cribraria aurantiaca* i *Stemonitis fusca* posve su se odbojadisale.

Preostali dijelovi kapilicija, koji se u većini slučajeva raspao, reagirali su i ovaj put klorcinkjodom i jodom i sumpornom kiselinom negativno, dok su membrane spora kod svih istraživanih vrsta pokazale izrazite celulozne reakcije.

Sadržina spora i oni dijelovi peridije kod svih istraživanih vrsta kao i dijelovi hipotalusa vrste *Stemonitis fusca*, koji nijesu dali celulozne reakcije, obojadisali su se nakon 24, 48 i 72-satnog djelovanja diafanola klorcinkjodom i jodom i sumpornom kiselinom sad više, a sad' opet manje žuto odnosno jedno-smeđe.

Konačno je izvedena i reakcija na topivost sa Schweizerovim reagensom. Objekte sam ostavio dva dana u svježe priređenom reagensu. Zatim sam ih najopreznije ispirao 4% otopinom octene kiseline (15. p. 546.). Objekti su se raspadali već djelovanjem samog reagensa, a nakon ispiranja 4% otopinom octene kiseline nije redovno više ništa preostajalo, pa je svaka daljnja reakcija bila nemoguća. Ipak sam se mogao uvjeriti u tri slučaja (kod peridije vrste *Cribraria aurantiaca*, kod peridije i membrana spora vrste *Lycogala epidendrum* o pozitivnom djelovanju Schweizerovog reagensa. Peridija vrste *Cribraria aurantiaca* jako se raspala nakon dvodnevnog djelovanja Schweizerovog reagensa, no uza sve to moglo se mikroskopski zapažati, da su se otopili baš oni dijelovi peridije, koji pokazuju nakon djelovanja diafanola klorcinkjodom kao i jodom i sumpornom kiselinom celulozne reakcije. Bolje je uspjela reakcija kod peridije i membrana spora vrste *Lycogala epidendrum*.

Peridija spomenute vrste (najotporniji dio od sviju miksomiceta, koje sam istraživao) odležala je ovaj put čak deset dana u Schweizerovom reagensu. Kroz to vrijeme reagens je triputa izmijenjen svježim. Peridija je nakon toga dobro isprana 4% otopinom octene kiseline. Zatim sam je ostavio dva dana u diafanolu, da se posve

odbojadiše i da se uklone eventualne inkruste, koje onemogućuju celulozne reakcije. Nakon djelovanja diafanola ovaj put nije pokazala peridija celuloznu reakciju. Peridija se vidljivo istanjila, nutarnji su se celulozni dijelovi posvema otopili u Schweizerovom reagensu. Klorcinkjodom obojadisala se peridija slabo žuto, a jodom i sumpornom kiselinom jodno-smede. Kako se slučajno držalo peridije i nekoliko spora, to se i kod njih moglo zapaziti pozitivno djelovanje Schweizerovog reagensa. Membrane spora postale su vidljivo tanje. Klorcinkjodom obojadisale su se jedva zamjetivo žuto, a jodom i sumpornom kiselinom jodno-smede. Jasno je dakle, da se i ovdje otopila celuloza u Schweizerovom reagensu.

Nakon kratkog djelovanja Eau de Javelle-a raspadali su se objekti više manje posvema.

Diafanol djeluje mnogo polaganije od Eau de Javelle-a, ali zato se u njemu ne raspadaju objekti ni nakon više dnevnog djelovanja ni približno onako, kao u Eau de Javelle-u često već nakon nekoliko sati. Hoćemo li dakle kod nježnih i sitnih botaničkih objekata (a među ove ubrajamo i miksomicete) očistiti celulozu od kojekakovih inkrusta, to ćemo se služiti diafanolom, a ne Eau de Javelle-om. U diafanolu istraživani objekti nešto nabubre (13 p. 3241), no to nabubrenje biva tako jednoliko, da se anatomska slika nakon djelovanja diafanola nimalo ne mijenja.

Prema svemu tome je jasno, da membrane zrelih spora i stanoviti dijelovi zrele peridije kod svih istraživanih vrsta kao i dijelovi hipotalusa vrste *Stemonitis fusca* pokazuju nakon djelovanja diafanola celulozne reakcije.

Istraživanja E. Schmidta i E. Graumanna (p. 1860) o djelovanju diafanola na ugljohidrate, poimence na celulozu, upućuju nas, da se tu radi vjerojatno o inkrustama celuloze, koje se mogu djelovanjem diafanola ukloniti.

Da li se pak i u onim dijelovima peridije i hipotalusa, koji ne pokazuju nakon djelovanja diafanola celulozne reakcije radi o inkrustama celuloze, koje se djelovanjem diafanola mogu tek djelomično ukloniti ili se tu radi o kakvoj modifikaciji celuloze (7. p. 293.), koja se djelovanjem diafanola doduše ne mijenja, a ipak ne daje celulozne reakcije, pokazat će daljnja istraživanja.

Kapilicij nije pokazao nakon djelovanja diafanola u nijednom slučaju jasnu celuloznu reakciju.

Zaključak :

1. Osnovna je sastavna tvar u membrana spora kod miksomiceta celuloza.

2. Osnovna je sastavna tvar u peridije miksomiceta također većim dijelom celuloza.

3. Da li se radi o inkrustiranoj ili modificiranoj celulozi treba još odlučiti.

4. Osnovna sastavna tvar kapilicija miksomiceta sastoji se od nepoznatih spojeva, a u koliko se može po djelomično pozitivnim mikrokemijskim reakcijama zaključivati, to nije isključeno, da se kapiliciji sastoje od nepoznatih bjelančastih spojeva.

Zusammenfassung.

Neulich hat Fritz Wettstein in seiner Abhandlung »Das Vorkommen von Chitin und seine Verwertung als systematisch-phylogenetisches Merkmal im Pflanzenreich« die Behauptung aufgestellt, dass die Membranen der Myxomyceten »des Kapillitiums, der Sporen und der Sporangienwände von Substanzen zusammengesetzt sind, die eiweissartigen Charakter tragen und wohl in die Gruppe der Keratine gehören.«

Obwohl Wettstein selbst das Vorhandensein der Keratine bei Myxomyceten nur als »sehr wahrscheinlich« erklärt, kommt er doch in phylogenetischer Hinsicht zur bestimmten Schlussfolgerung, die er folgendermassen zusammenstellt: »Der Stamm der Myxophyten erscheint durch die Zusammensetzung aus Keratinen, durch das Zurücktreten von Zellulose der Membranen und Fehlen von Chitin gegenüber den übrigen Pflanzenstämmen, bei denen eiweisartige Substanzen fehlen, scharf charakterisiert.«

Diese Behauptung über das Vorkommen der Keratine bei Myxomyceten ist an und für sich so sehr interessant, insbesondere in Hinblick der Tatsache, dass mehrere Forscher (de Bary, Wigand, van Wisselingh, Jahn, F. Wettstein) in einigen Fällen unzweifelhaft Zellulose nachgewiesen haben. Obwohl es nicht von vornherein ausgeschlossen ist, dass verschiedene Substanzen als Baustoffe der Membranen nebeneinander auftreten können, so ist doch das sporadische Auftreten der Zellulose sehr auffallend. Andererseits soll noch hervorgehoben

werden, dass Kapillitien, Peridien und Sporenmembranen verschiedenen morphologischen Charakter haben, dass es unserer Ansicht nach nicht erlaubt erscheint sie alle als gleichwertige Membranen zu behandeln.

Alle diese Bemerkungen haben Herrn Prof. Dr. V. Vouk veranlasst, dass er die Nachprüfung aller bisherigen mikrochemischen Untersuchungen über den chemischen Charakter der Peridie, Kapillitiums und der Sporenmembranen auf erweiterter Basis mit anvertraut hat.

Bei der Nachprüfung auf das Vorhandensein der Keratine bediente ich mich vieler mikrochemischer Reaktionen auf Keratine, die in drei Gruppen eingeteilt werden können: 1.) die Prüfung mit starken Säuren und Alkalien, 2.) die Prüfung auf Lösungsverhältnisse mit Fermenten und 3.) die Prüfung mit den wichtigsten bekanten mikrochemischen Eiweissreaktionen. Zur Kontrolle bediente ich mich der Reaktion auf menschlichen Nagel. Untersucht wurden: *Stemonitis fusca*, *Cribraria aurantiaca*, *Lycogala epidendrum*, *Trichia Botrytis* und *Trichia decipiens*. Die Prüfung mit starken Säuren und Alkalien ergab das Resultat, dass die untersuchten Objekte sehr resistent sind gegen starke Säuren und Alkalien. Die Auflösung erfolgt nicht in kalten, sondern nur in heissen konzentrierten Säuren, wie dies auch F. Wettstein konstatiert hat. Die auf Keratine charakteristische Blaufärbung in heisser konzentrierter HCl zeigt sich nicht. 10% heisse und 20% kalte KOH löst die Objekte nicht. Das Verhalten gegen Säuren und Alkalien spricht entschieden gegen das Vorhandensein der Keratine. Die Objekte werden durch Trypsin und Pepsin nicht aufgelöst, wenn sie auch nach mehrtägiger Wirkung aufgehellt werden.

Die Resultate der Prüfung mit den bekannten Eiweissreaktionen sind aus der I. Tabelle im kroatischen Texte ersichtlich. Die positive deutliche Reaktion bekam ich nur auf Xanthoprotein und zwar allein bei Kapillitien, in einem Falle mit Pikrinsäure und in zwei Fällen mit Ferrocyanium bei Kapillitien. Sehr undeutlich und keinesfalls typische ziegelrote Färbung ergab das Millon'sche Reagens und zwar auf Kapillitien, teilweise auf Peridie und in keinem Falle auf Sporenmembranen. Sehr auffalend ist das vollkommene Ausbleiben einer positiven Reaktion mit Schwefelbleiprobe, was mit Wettsteins Befunden im Widerspruche steht. Die Dunkel-

färbung tritt schon allein auf Zusatz von heisser KOH. Die Parallelprobe auf Nagelkeratine war in allen Fällen (ausser Reaktion nach Molisch) positiv.

Alle diese Reaktionen sprechen gegen Wettsteins Behauptung von dem Vorhandensein der Keratine. Ganz entschieden gilt das für Sporenmembranen und die Peridie. Die positive Reaktion bei Kapillitien auf Xanthoprotein lässt vermuten, dass es sich hier eventuell doch um gewisse unbekannte eiweissartige Körper handelt.

Zur Vervollständigung der mikrochemischen Arbeit bereitete ich eine genügende Menge der Peridien von *Lycogala epidendrum*, die einer makrochemischen Elementaranalyse unterzogen worden ist. Das Material wurde von Sporen und Kapillitien so weit es möglich befreit, gereinigt und getrocknet. Die organische Elementaranalyse wurde in liebenswürdiger Weise von Herrn Prof. Marek, Vorstand des Laboratoriums für organische Chemie an der technischen Hochschule in Zagreb ausgeführt. Der relativ sehr niedrige Gehalt von Stickstoff (3.03%—2.85%) und Schwefel (0.25%—0.95%) im Vergleich zu den Elementaranalysen von verschiedensten Keratinen spricht gegen die Annahme von Keratinen, was nur unsere mikrochemischen Befunde bestätigt hat.

Obwohl die Frage nach dem Vorhandensein von Chitin bei Myxomyceten schon im negativen Sinne beantwortet ist (van Wisselingh, Wester, Jahn, F. Wettstein) so habe ich hinsichtlich des positiven Ausfalles der Chitinreaktion in einem einzigen Falle (Cihlar bei Kapillitien von *Stemonitis fusca*) die ganze Frage nachuntersucht. Es stellte sich heraus, dass in keinem einzigen Falle die Chitinreaktion positiv war. Die Angabe von C. Cihlar ist durch ein Irrtum erklärlich, da Kapillitien von *Stemonitis fusca* an und für sich einen violetten Ton haben und sich nach Zusatz von Schwefelsäure allein blauviolett färben (de Bary). Da eben kein Keratin und auch kein Chitin nachzuweisen ist, so konzentrierte ich die ganze Arbeit auf den Nachweis von Zellulose, die von mehreren Vorschern (de Bary, van Wisselingh, Wiggand, Jahn, F. Wettstein) in einzelnen Fällen angegeben wird. Alle diese Forscher betonen, dass die Zellulosereaktion nicht ohne weiteres gelingt und in den wenigen angegebenen Fällen sich hauptsächlich an junge Entwicklungsstadien bezieht.

Es ist mir aber gelungen durch Behandlung der Objekte mit Diaphanol (Chlordioxydessigsäure) die Zellulose sicher nachzuweisen.

Die Sporenmembranen von allen untersuchten Myxomyceten (*Stemonitis fusca*, *Cribraria aurantiaca*, *Lycogala epidendrum*, *Trichia Botrytis*, *Trichia decipiens* und *Arcyria denudata*) geben sichere Zellulose Reaktionen. Bei Peridien ist die positive Reaktion nur in den äusseren Teilen ausgeblieben. Bei Kapillitien hingegen ist die Zellulosereaktion auch nach Behandlung mit Diaphanol nicht erfolgt.

Ob es sich bei Sporenmembranen und Peridienteilen die nach Diaphanol's Behandlung Zellulosereaktionen zeigen um inkrustierte Zellulose und bei jenen Peridienteilen die nach Diaphanol's Behandlung keine Zellulosereaktion zeigen um inkrustierte oder modifizierte Zellulose (Jahn), handelt, bleibt natürlich zu entscheiden. Jedenfalls können wir mit Bestimmtheit von Zellulose, als einer Grundsubstanz sprechen.

Aus allen diesen Untersuchungen können wir die Resultate zusammenfassen:

1. Die Grundsubstanz der Sporenmembranen bei Myxomyceten besteht aus Zellulose.
2. Die Grundsubstanz der Peridie ist ebenfalls grösserenteils aus Zellulose aufgebaut.
3. Die Grundsubstanz der Kapillitienfaser besteht aus einer noch unbekanntem Substanz, welche nach gewissen Eiweissreaktionen zu urteilen möglicherweise aus unbekanntem Eiweisskörpern zusammengesetzt ist.

Literatura.

1. Abderhalden. Biochemisches Handlexikon IV. Band.
2. Abderhalden. Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden. Abt. I., Teil 8, Heft 3.
3. de Bary. Die Mycetozoen. 1864.
4. de Bary. Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze, Mycetozoen und Bacterien. 1884.
5. Cihlar C. Mikrokemijska istraživanja o hitinu u bilinskim membranama. Glas. Hrv. Prirod. Društva, godište XXVII. 1915.
6. Holleman A. F. Lehrbuch der organischen Chemie. 1915.

7. Jahn E. Zur Kenntniss des Schleimpilzes *Comatricha obtusata* Preuss (Festschrift für Schwendener) p. 288—300.
8. Meyer A. Morphologische und physiologische Analyse der Zelle der Pflanzen und Tiere. I. Teil. 1920.
9. Molisch H. Mikrochemie der Pflanzen. 1921.
10. Oppenheimer C. Handbuch der Biochemie des Menschen und der Tiere. I. Band 1909.
11. Oppenheimer C. Handbuch der Biochemie des Menschen und der Tiere. Ergänzungsband 1913.
12. Schmidt E. und Graumann E. Zur Kenntnis pflanzlicher Inkrusten. I. Mitteilung: Methode zur Reindarstellung pflanzlicher Skelettsubstanzen. Ber. der deutsch. Chem. Ges. 54, p. 1860. 1921.
13. Schmidt E. und Duysen F. Zur Kenntnis pflanzlicher Inkrusten. (Mitteilung II.) Ber. der deutsch. Chem. Ges. 54, p. 3241. 1921.
14. Schmidt E. und Braunsdorf K. Zur Kenntnis der natürlichen Eiweisstoffe. I. Mitteilung: Verhalten vom Chlordyoxyd gegenüber organischen Verbindungen. Ber. der deutsch. Chem. Ges. 55, p. 1529. 1922.
15. Tunmann O. Pflanzenmicrochemie 1913.
16. Vouk V. Zur Kenntnis der Chitinreaktion. Ber. der deutsch. Bot. Ges. p. 413—415. 1915.
17. Wester D. H. Studien über das Chitin. 1909.
18. Wettstein Fritz. Das Vorkommen von Chitin und seine Verwertung als systematisch-phylogenetisches Merkmal im Pflanzenreich. Sitzber. Akad. der Wiss. Wien. Math.-naturw. Kl. Abt. I. 130. Band, 1 bis 3 Heft. 1921.
19. Wettstein Richard. Handbuch der systematischen Botanik. 1924.
20. Wigand A. Zur Morphologie und Systematik der Gattungen *Trichia* und *Arcyria*. Pringsheim Jahrb. f. Wiss. Bot. III. Band p. 1863.
21. Wisselingh van C. Mikrochemische Untersuchungen über Zellwände der Fungi. Pringsheim Jahrb. f. Wiss. Bot. XXXI. Band p. 619—687. 1898.
22. Wissenligh van C. Über die Anwendung der in der organischen Chemie gebräuchlichen Reaktionen bei der phytomikrochemischen Untersuchung. Fol. Microbiologica, III. Jahrg. Heft. 3. Delft. 1915.
23. Zopf W. Die Pilzthiere oder Schleimpilze (Separatabdruck aus der Enzyklopaedie der Naturwissenschaften). 1885.