W. A. BECKER und Z. BECKEROWA
aus dem Inst. f. allg. Botanik der Univ. Warschau.

ÜBER EINIGE DESINTEGRATIONSERSCHEINUNGEN DES PROTOPLASTEN.

I

Die vitalen, umkehrbaren Kernfärbungen, die Nassonov (1930, 1932a, 1932b) und seine Mitarbeiter (Alexandrov, 1932; Makarov, 1934) seit einigen Jahren an tierischen Zellen durchführen, veranlassten uns zur Durchführung analoger Versuche an Pflanzenzellen. Die Bedeutung derartiger Untersuchungen erschöpft sich nicht nur in dem Werte derselben für die Lösung gewisser strukturalen sowie physiologischen Probleme des Kernes im Ruhestadium (vergl. Nassonov, 1932a, S. 240 — 241, oder 1932b, S. 219), sondern sie ermöglichen uns ebenfalls die Ausarbeitung analoger Methoden für die Phase der Kernteilung. Es wundert somit kaum, dass in der modernen Pflanzenkaryologie die Methode der Vitalfärbung einen ihr gebührenden Platz gefunden hat (Tischler, 1934, S. 59 — 65).

In der gegenwärtigen Auffassung dieses methodischen Problems darf das Postulat der Umkehrbarkeit der hier vorgehenden Erscheinungen nicht übergangen werden. Nicht zu vergessen ist, dass ein analoger Standpunkt bereits in manchen älteren Arbeiten ausgesprochen wurde (siehe Arnold, 1914; Politzer, 1924/25; vergl. auch Becker, 1934, S. 407).

Einen ruhmreichen Platz in der Literatur erlangte die Vitalfärbung der Kerne in den Pflanzenzellen mit sauren

Farbstoffen; denselben verdankt sie den Arbeiten von Küster (1911, 1912, 1926), Gicklhorn (1927, 1930), Albach (1929), Strugger (1931), und letzthin auch Bank (1933). Alle genannten Autoren, vor allem aber Albach und Strugger, unterstreichen in ihren Arbeiten die hier auftretende Reversibilität der Färbung (vergl. auch Küster, 1929, S. 130 — 131). Strugger (1931) unterzog die Färbung Gicklhorns einer gründlichen Untersuchung und bestimmte genau den Moment, in dem die durch den genannten Autor beschriebenen Erscheinungen noch reversibel sind.

Unser Interesse erregte speziell die Frage der Färbung der Pflanzenzellkerne mit basischen Farbstoffen, d. i. Farbstofflösungen, die Nassonov für seine Untersuchungen benutzte. Aus den Untersuchungen Struggers (1931) ergibt sich nämlich, dass solange die Strukturänderungen des Kernes in dem Gicklhorn'schen Verfahren mit Eosin bzw. Erythrosin noch umkehrbar sind, die Färbung bloss auf den Kernsaft beschränkt ist und das Chromatin nicht angreift. Im Jahre 1932 stellte Strugger während seiner Untersuchungen über das Verhalten der pflanzlichen Zellkerne gegenüber Anilinfarbstoffen fest, dass die saueren Farbstoffe bloss in der Karyolymphe und in den Nucleoli gespeichert werden, die basischen dagegen nur im Karyotin. In Anbetracht dessen schien uns die Benutzung basischer Farbstoffe für unsere reversiblen Färbungen überaus interessant. Die letztens von Bank (1933) durchgeführten Färbungen betreffen Kerne von stark veränderter Struktur, die von derjenigen normaler, karyotinreicher Zwiebelkerne weit entfernt ist.

Wir beschlossen unsere Versuche derart zusammenzustellen, dass es möglich sei, die Färbung bzw. Entfärbung des Kernes in der lebenden Pflanzenzelle laufend, ohne Unterbrechungen zu verfolgen. Anfangs versuchten wir, dem Beispiele Nassonov's folgend, das Präparat abwechselnd in einer Sauerstoff — bzw. Wasserstoffatmosphäre zu halten. Wir legten Epidermisstücke von *Rhoeo discolor* - blättern bzw. von Zwiebelschuppen, deren Zellen vorher mit basischen Vacuolarfarbstoffen gefärbt wurden, in einen hängenden Tropfen destillierten Wassers und stellten das Präparat in eine Camera, durch die man das gewünschte Gas durchleiten konnte. Da diese Versuche bei einigen Wiederholungen ziemlich umständlich werden, griffen wir — obwohl das Re-

sultat derselben positiv war — zu einer anderen Methode, die darauf beruht, dass man die Reaktion des Milieus und der Zelle mittels elektrischen Stromes ändert, wobei die Zellen selbst mit dem Strome gereizt wurden [1]).

Bekanntlich lassen sich die von Nassonov und seinen Mitarbeitern beschriebenen Erscheinungen bei der umkehrbaren Kernfärbung auf eine gewisse reversible Gelatinisierung der Kernkolloide zurückführen. Nun gelang es uns, gute umkehrbare Kernfärbungen zu erhalten, indem wir die erwähnte Gelation durch Elektrolyse pflanzlicher Gewebestücke auslösten. Das Verfahren ist ganz einfach: in einen Objektträger werden zwei Metallstücke einmontiert, zwischen denen der Abstand 6 mm beträgt; die Metallblätter werden mit einer Batterie von ca 6 Volt verbunden; der Strom kann mittels eines Schalters nach Belieben ein — bzw. ausgeschaltet werden. Aus der Epidermis der Zwiebelschuppen herausgeschnittene Streifen legen wir nach Färbung mit Neutralrot derart auf den Objektträger, dass sie mit ihren Enden die Elektroden berühren. Wir führten diesen Versuch in Leitungswasser, in destilliertem Wasser, in Zuckerlösungen und in Paraffinöl aus. In einigen Versuchen, von denen noch später die Rede sein wird, haben wir Zellen plasmolysiert, indem wir sie der Einwirkung des Stromes in einer 10% KNO_3 — Lösung bzw. in Glyzerin aussetzten. Es ist klar, dass der Widerstand bei Benutzung von Wasser ein anderer als bei Benutzung z. B. von Paraffinöl war; im letztgenannten Falle strömte der elektrische Strom bloss durch das Gewebe. Am vorteilhaftesten für die Beobachtung der umkehrbaren Kernfärbung erwies sich reines Leitungswasser. Einige Minuten nach der Stromeinschaltung konnte man bereits eine deutliche Alkalisierung der Flüssigkeit und des Gewebes an der Anode, sowie eine Ansäurung derselben an der Kathode feststellen. Die Vacuolen wurden auf den mit Neutralrot gefärbten Präparaten an der Anode orangegelb und gelb, an der Kathode kirschrot. Bei längerer Einwirkung des Stromes zerstreuen sich die während der Elektrolyse entstehenden Produkte auf den ganzen Tropfen und das dargestellte Bild verwischt sich dann meistens; für eine Färbung der Kerne ge-

---

[1]) Eine ähnliche Methode haben Gicklhorn und Dejdar (1931) angewandt, um in der Zelle eine reversible Permeabilitätserhöhung zu gewinnen.

nügt jedoch bereits ein kurzer, höchstens ein paar Minuten dauernder Strom.

Von den Vorgängen, die wir in der Nähe der Kathode beobachteten, ist zunächst die entsprechende Farbänderung der Vacuole zu erwähnen. Gleich darauf beginnt sich in dem bis nun ungefärbt gebliebenen und eine regelrechte Struktur aufweisenden Kern, das Kernkörperchen zu färben. Zugleich koaguliert das in der nächsten Nähe der Zellmembran gelegene Zytoplasma stellenweise und färbt sich rot. Manche Zytoplasmafäden, die die Vacuole durchschneiden, zerfallen und ihre Reste liegen als rotgefärbte Körnchen in dem ungefärbten Zytoplasma. Im Zusammenhang mit diesen Degenerationserscheinungen beobachteten wir auch eine gewisse — wenn auch unbeträchtliche — Kontraktion des Tonoplasten.

Alle erwähnten Erscheinungen müssen aufmerksam verfolgt werden und der Strom muss zur Zeit ausgeschaltet werden, da sonst eine Zersetzung des Protoplasten droht (siehe weiter). Nach kurzer Zeit ist bereits der ganze Kern rot bzw. kirschrot. Eine genaue Analyse überzeugt, dass es die Chromatinfäden und der Nucleolus sind, die sich gefärbt haben. Was die Kernmembran anbelangt, so trat eine selektive und deutliche Färbung derselben an dem betreffenden Objekt (Kerne von *Allium*) nicht auf, solange die Struktur des gefärbten Kernes mikroskopisch unverändert blieb. Bei weiterer Koagulation des Kernes waren derartige Membranstrukturen bereits unterscheidbar.

Der Umstand, dass die derart gefärbten Kerne bis zu einem gewissen Momente eine Struktur besitzen, die derjenigen normaler, ungefärbter Kerne ganz ähnlich ist — was sich stets an Kontrollpräparaten aus der Epidermis von *Allium* feststellen lässt — scheint uns nicht ohne Bedeutung zu sein. Am Beginn der Färbung lässt sich keine irgendwelche Verdichtung der betreffenden Struktur beobachten. Erst bei weiterer Durchleitung des elektrischen Stromes wird die Kernkoagulation stärker. Obwohl wir nun die dargestellten Erscheinungen auf eine gewisse Gelation der Kernkolloide zurückzuführen geneigt sind (Nassonov),[1]) kann die nach unserer Methode erzielte Gelation derart fein sein, dass sie zwar für die Kernfärbung genügt, für die mikroskopi-

[1]) Eine bedeutsame Rolle spielen auch hier die Umladungserscheinungen im Farbstoff (Keller, Gicklhorn) und Kernkolloiden (Strugger).

sche Feststellung der Koagulation aber nicht ausreicht. Wir lassen die Frage offen, ob diese Gelation in dem Anfangsstadium sich ultramikroskopisch nicht feststellen liesse.

Stellen wir uns auf den Standpunkt der Karyomorphologie und betrachten die fädige — netzartige Struktur der *Allium*-kerne als die normale Struktur — wie die allerletzten Forschungen bewiesen (Martens, 1927; Sharp, 1929; Teleżyński, 1930; Nebel, 1932, u. a.) — so müssen wir feststellen, dass die bisherigen Untersuchungen über reversible Kernfärbungen in pflanzlichen Zellen grösstenteils an pathologisch sehr stark veränderten Kernen durchgeführt wurden. Dies bezieht sich sowohl auf die Färbungen mit sauren (Gicklhorn, 1927; Albach, 1929; Bank, 1933 a), wie mit basischen Farbstoffen (Bank, 1933 a). Die von uns angewandte Methode erlaubt es, derartige Färbungen an Kernen mit mikroskopisch unveränderter Struktur auszuführen.

Die Zellen mit den mit Neutralrot (an der Kathode) gefärbten Kernen übertrugen wir nachher in reines Leitungswasser. Hier kann man im Laufe von einigen Stunden den ganzen reversiblen Prozess verfolgen. Die rote Färbung der Kerne verschwindet allmählich bis zur vollständigen Entfärbung. Wir haben die umkehrbaren Färbungen sowohl an unveränderten Kernen, wie an stark koagulierten Kernen durchgeführt. Stets war die Färbung, solange die Vacuole gefärbt ist, umkehrbar. Erst bei starker Degeneration des Protoplasten (siehe unten) gelang die Umkehr nicht. Bemerkenswert ist, dass der Nucleolus am längsten gefärbt blieb, eine Zeit noch nach der vollständigen Chromatinentfärbung. Die Art, wie das Kernkörperchen sich entfärbt, ist ziemlich charakteristisch; der zentrale Teil entfärbt sich nämlich rascher als der periphere, so, dass der Nucleolus zu dieser Zeit wie ein Ring aussieht. Mit der Zeit verschwindet ebenfalls die Färbung des Kernkörperchens. Nach längerem Aufenthalt im Wasser (bis 3 Stunden) wird die Struktur der entfärbten Kerne infolge Quellung undeutlich. Schwache Zytoplasmaströmungen konnten wir noch nach 24 Stunden beobachten. Sogar nachher konnte man noch gefärbte Überreste des degenerierten Zytoplasmas (vgl. oben) finden. Ebenso ist noch zu unterstreichen, dass der kontrahierte Tonoplast sich wieder streckt und seinen normalen Raum zurück einnimmt.

Die von uns angewandte Methode für umkehrbare Kernfärbungen mit derartigen Farbstoffen, wie Neutralrot, sich des elektrischen Stromes zu bedienen, scheint uns überaus bequem zu sein. Wir versuchten auf zahlreichen Objekten ähnliche Färbungen auszuführen, wobei wir die Kerne mit verdünnten Säuren koagulierten. In diesem Falle kommt oft eine sehr starke (aber vollständig umkehrbare; vergl. Bělař, 1930) Koagulation des Kernes zustande, trotzdem aber unterliegt er keiner Färbung. Meistens sind die Koagulationen derart stark, dass sie die Kernstruktur bedeutend deformieren. Auf diesem Wege konnten wir eine Färbung mikroskopisch unveränderter Kerne nicht erzielen, während bei Durchleitung des elektrischen Stromes dieselbe ziemlich leicht gelingt.

Wir möchten an dieser Stelle noch folgendes hinzufügen: umkehrbare Kernfärbungen mit Neutralrot lassen sich überaus leicht ausführen, falls man die Neutralrotlösung durch $Na_2S_2O_4$ reduziert. Legen wir Staubfadenhaare von *Tradescantia* in einen Tropfen einer derart reduzierten Farbstofflösung, so entsteht nach kurzer Zeit ein sehr charakteristisches Bild: die Zellmembranen färben sich augenblicklich gelb, die Vacuolen bleiben gänzlich ungefärbt, der Kern sowie das Zytoplasma koagulieren langsam und sind vorläufig ebenfalls ungefärbt. Nach Ablauf einer gewissen Zeit färbt sich der stark koagulierte Kern zitronengelb, das Zytoplasma kann sich ebenfalls ähnlich färben. In diesem Zustande kann die Zelle ziemlich lange (bis eine Stunde lang) bleiben, trotzdem entfärben sich nach Durchwaschen mit Leitungswasser sowohl die Zellmembran, wie das Zytoplasma und der Kern binnen kurzem vollständig. Der Farbstoff speichert sich bloss in den Vacuolen, die jetzt stark goldgelb werden. Der entfärbte Kern erhält seine normale Struktur zurück, manchmal jedoch quillt er auf und unterliegt der Homogenisierung. Diesen Vorgängen, wie auch der Anwendung dieser Färbungsmethode werden wir demnächst eine besondere Arbeit widmen.

In den Zellen von *Allium cepa*, durch die wir den elektrischen Strom durchleiteten, dienten als einzige Beweise für die Vitalität der Zelle nach der Kernentfärbung, die Fähigkeit derselben zur Plasmolysierung sowie die schwachen Zytoplasmaströmungen. Da wir noch nach anderen Beweisen für die Vitalität des Protoplasten nach der reversiblen Färbung suchten, beschlossen wir die Pollenmutterzellen von *Trades-*

cantia mit Neutralrot zu färben. Bekanntlich färben sich die Kerne sowie die Chromosomen dieser Zellen sehr leicht mit Neutralrot, wie noch Dangeard im Jahre 1923 an den PMZ von *Ginkgo* bewies (siehe auch Shigenaga, 1933). Dank den Arbeiten von Sakamura (1927), Kuwada und Sakamura (1927), Yamaha und Ishii (1932) wissen wir, unter welchen Bedingungen der Kern und die Chromosomen der Pollenmutterzellen ihre Struktur unverändert beibehalten. Wir benutzten jedoch in unseren Untersuchungen keine künstlichen Lösungen, sondern pressten die PMZ mitsamt dem Schleime aus der Anthere direkt auf das Deckgläschen, betupften sie mit einem Tropfen Neutralrot (1 : 10000 in dest. Wasser), das wir gleich mit Fliesspapier aufsogen. Die Kerne sowie die Chromosomen färbten sich augenblicklich rot. Das Deckgläschen hefteten wir mit Hilfe von Vaseline an Glasringe, die an dem Objektträger angeklebt waren. In die so entstandene Camera gaben wir noch einen Tropfen Wasser, um die Atmosphäre feucht zu erhalten. Unter diesen Bedingungen blieben die PMZ in manchen „Kulturen" drei Tage und länger am Leben. Manche Zellen degenerierten zwar, manche jedoch sahen durch die ganze Zeit vollkommen „gesund" aus und die Kerne derselben wiesen eine deutliche, typische Struktur auf. In manchen Zellen nun konnte man bemerken, wie nach Ablauf von 24 Stunden Kern und Chromosomen sich zu entfärben begannen; die rote Färbung verschwand mit der Zeit ohne irgendwelche Spur zu hinterlassen, während die Struktur weiterhin deutlich blieb. Auf diese Weise verhielten sich diejenigen Zellen, deren Kerne bzw. Chromosomen sich kirschrot gefärbt haben.

In den Diadenzellen, in denen die Chromosomen sich in der Metaphase bzw. Anaphase der zweiten Teilung befanden, konnten wir einigemal beobachten, wie die Chromosomen sich entfärbten und wie bald darauf die Zellmembran sich bildete. Dieselbe wies manchmal eine unregelmässige Lage auf und teilte zuweilen ein kernloses Phragment, manchmal wieder zufällig eine Chromosomengruppe ab. In den beobachteten Zellen kam es nie zu einer Rekonstruktion der Ruhekerne durch die Chromosomen. Dies erinnert ganz an die Beobachtungen, die einer von uns an den Staubfadenhaarzellen von *Tradescantia* machte. Bei gehemmter Karyokinese kann hier in der Pro - Meta - und Anaphase eine Zellmembran ent-

stehen, wobei der Kern seine Chromosomenstruktur nicht verliert (Becker, 1933).

Diese Vorgänge beweisen, dass die Zellelemente in allen erwähnten Fällen noch leben und eine gewisse Vitalität noch beibehalten haben. Als Beweis dieser Vitalität dient die Bildung der Zellmembran, wenn auch dieser Prozess den Charakter eines Degenerationsvorganges trägt. Allem Anschein nach dürften alle erwähnten Vorgänge in die Kategorie derjenigen Erscheinungen hingehören, die Küster (1924) als „partielle Tötung" bezeichnet.

II.

Im Laufe unserer Untersuchungen über umkehrbare Kernfärbungen nach unserer „elektrolytischen" Methode begegneten wir zahlreichen Zersetzungs—und Desorganisationserscheinungen im Protoplasten (siehe Kühne, 1864; Klemm 1895; Weis, 1926), deren Skala ganz von der Intensität der Elektrolyse abhängig ist. Einige dieser Desintegrationserscheinungen wollen wir nun eingehender besprechen.

In seinen Untersuchungen über die Zellsaftentmischung in den Epidermiszellen von *Allium cepa* überprüfte Bank (1933a) genau die Wirkung verschiedener „Entmischungssalze" wie KCNS, KJ, KBr, KCl, Na_2SO_4, $CuCl_2$, NH_4CNS, sowie die Bedingungen, unter denen die Entmischung zustandekommt. Nach Bank hängt die Entmischung von der Viscosität, von der Wirkungsdauer des Plasmolyticums, von der Art der Salze, der Farblösungen u. s. w. ab. Die Ergebnisse Bank's bleiben unbestritten. Die Myelinfiguren Gicklhorn's z. B. kann man in dem Zellsaft der Epidermiszellen von Zwiebelschuppen (aus der konvexen Seite) nur mit Kupfersalzen hervorrufen. Die von Bank benutzten Salze wirkten nur auf plasmolysierte Protoplasten entmischend.

Als besonders bemerkenswert in unseren Untersuchungen scheint uns der Umstand zu sein, dass die Entmischungsformen vor allem von der Geschwindigkeit des Entmischungsprozesses selbst abhängig sind (Bank, 1933a, S. 622 — 623). In unserem Versuch wurde die Entmischung durch die Reaktionsänderung der Untersuchungsflüssigkeit an der Anode sowie an der Kathode ausgelöst; die Anode reagierte nach der Änderung alkalisch, die Kathode sauer. Diese Reaktionen sowie

die Wirkung des Stromes auf die Zellen selbst bewirken die Entstehung zahlreicher Entmischungsformen ohne Plasmolyse. Da an der Anode andere und an der Kathode andere Entmischungsformen entstehen, wobei sie aber für jeden Pol immer typisch waren (für die von uns benutzten Untersuchungsflüssigkeiten), müssen wir dieselben getrennt beschreiben. Wir müssen auch die Flüssigkeit berücksichtigen, in der der Versuch durchgeführt wurde; dieselbe kann in Anbetracht des Charakters der an der Anode bzw. Kathode entstehenden Substanzen einen gewissen Einfluss auf die Formen der Entmischung ausüben. In den von uns gebrauchten Flüssigkeiten (Leitungswasser, dest. Wasser, KNO_3—, Zückerlösung, Glyzerin, Paraffinöl) war der Charakter der Anoden — bzw. der Kathodenentmischung im allgemeinen in allen Fällen gleich.

A. Entmischung und Desintegration an der Anode [1]).

Kurz nach der Einschaltung des Stromes kommen in vielen Zellen braungefärbte Klumpen zum Vorschein. Sie bilden sich gleich unter der Membran der Zelle und zwar, falls wir den Strom der Längsachse der Zelle entlang leiten, meistens in den Ecken der Zelle; sie treten jedoch auch an anderen Stellen unter der Zellwand auf und insbesondere dann, wenn der Strom senkrecht zur Längsachse der Zelle geleitet wird. Aus dieser braunen Masse, die wahrscheinlich den degenerierten Teil des Protoplasmas repräsentiert, beginnen gegen die Vacuole gelbbraune Fäden zu wachsen. In dem Masse in dem

[1]) Die im diesem Abschnitt dargestellten Entmischungserscheinungen und insbesondere die Endphasen derselben, wie z. B. die Kristallisierung, sind durch die alkalische Reaktion der Flüssigkeit an der Anode bedingt. Ähnliche Vorgänge können durch unmittelbare Einwirkung von verdünnten Basen (NH_4OH, KOH, NaOH) hervorgerufen werden. Es scheint uns auch erwähnungswürdig, dass die von Bank (1933 a) beschriebenen Entmischungsformen zum grössten Teil von der Reaktion (pH) abhängig sind. Wir haben die Bank'sche Entmischungsmethode mit KCNS in unserem Institute für den Studentenunterricht gebraucht, wobei wir sie etwas modifiziert haben. Die, mit Neutralrot vitalgefärbten, Zwiebelzellen wurden mit 10% KNO_3 plasmolysiert und dann der Einwirkung von 0,3% KCNS (oder NaCNS) unterworfen. Da ergibt sich, dass die von Bank beschriebenen Entmischungsformen nur in diesen Zellen zum Vorschein kamen, in welchen die Vacuolen orangerot gefärbt waren, also eine [alkalische Reaktion hatten. In keinem Falle konnten wir diese Erscheinungen in den kirschrot gefärbten Zellen beobachten.

das Wachstum derselben fortschreitet, wird der Zellsaft allmählich entfärbt (Phot. 1 — 2, Tafel V). Durch Ausschaltung des elektrischen Stromes sind wir imstande die Geschwindigkeit dieses Prozesses zu regulieren; das Wachstum der erwähnten strauchartigen Strukturen findet dann langsam statt und kann schrittweise verfolgt werden. Gleichzeitig weicht die Färbung der Vacuole vor den vordringenden Fäden allmählich zurück. In der Durchgangsphase ist ein Teil der Vacuole bereits vollkommen farblos, während der andere noch stark orangengelb gefärbt ist. In der Endphase ist das Gebiet des Zellsaftes ganz farblos, während aus einer der Zellecken ein Bund brauner Fäden hervorwächst (Phot. 2, Tafel V). Nach längerem Aufenthalt in reinem Leitungswasser erhalten wir aus diesen Fäden typische Farbstoffkristalle.

Falls die Elektrolyse energischer durchgeführt wird, bilden sich keine fadenförmigen Kristaliformen, sondern der Tonoplast platzt und die Vacuole zerfällt in eine Masse kleiner, gelber Kügelchen und Kristalle bzw. anderer Formen, die den auf Photo 2 bei Bank (1933 a) abgebildeten Figuren ähneln. In der Endphase unserer Entmischung findet stets die Kristallisation des Farbstoffes statt. Es ist interessant, dass am meisten typisch der Farbstoff rings um den Kern auskristallisiert, so dass derselbe wie eine bestachelte Kugel aussieht.

Alle diese Vorgänge sind—falls sie im langsamen Tempo sich abspielen—zur Gänze, aber nur in dem Anfangsstadium, umkehrbar. Nach der völligen Entmischung der Vacuole gelang es uns nicht, dieselbe in ihren normalen Zustand zurückzubringen. Leicht zu beobachten sind diese Vorgänge ebenfalls in Paraffinöl, nur verlaufen sie hier langsamer und schwieriger. Zur Durchleitung des Stromes und Bildung der Entmischungsformen genügt hier das blosse gefärbte Pflanzengewebe.

Vergleichen wir das Bild der „Anodenentmischung" bei rascher Desintegration mit demselben Bild bei langsamer Reaktion, so wird der Einfluss der Reaktionsgeschwindigkeit auf die Art der entstehenden Strukturen deutlich sichtbar. Bank schreibt dieser Erscheinung einen allgemeinen Charakter zu (1933 a, S. 623). Wir glauben hier an die Anschauungen Haber's (1922) erinnern zu dürfen, der von ordnenden Kräften während der Ausflockung spricht. Falls der Niederschlag sich sehr rasch bildet, dann entstehen ungeordnete „Flocken", bei

langsamerem Tempo entstehen Strukturen verschiedenster Art. Zweifelsohne spielt dieses Gesetz bei der Entstehung organisierter Strukturen, die auf dem Wege der Entmischung (Koazervation) entstehen, eine grundsätzliche Rolle.

Die bei langsamer Entmischung entstehenden zweigförmigen Kristalle erinnern in ihrer Gestalt an die Bildungen, die Mangenot (1928) in den Vacuolen von *Laminaria* beschrieb, und die nach dessen Annahme die Anwesenheit von Jod in diesen Algen beweisen. Es wäre interessant zu untersuchen, was für eine Rolle bei der Entstehung derselben die Geschwindigkeit des Entmischungsprozesses spielt.

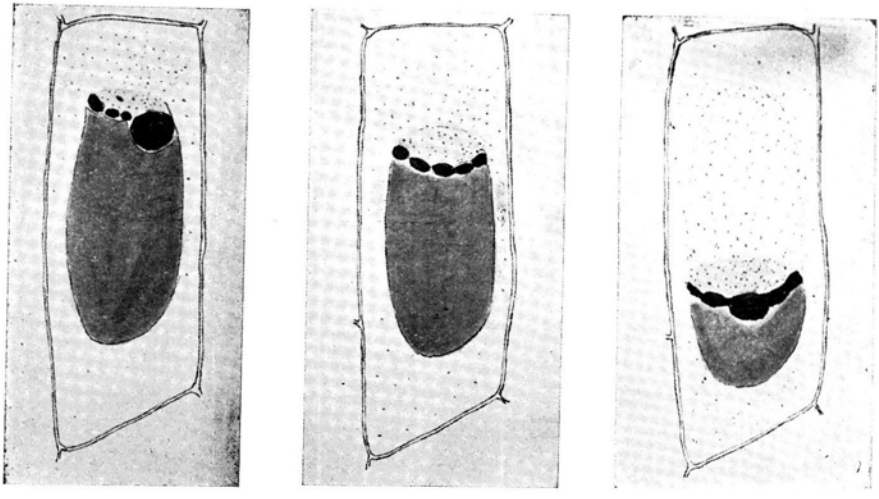
Wir möchten noch auf gewisse Erscheinungen äusserster Degeneration der Tonoplasten hinweisen, die man nach Einwirkung des elektr. Stromes auf vitalgefärbte Zellen in plasmolysierten Geweben beobachten kann. Je nach der Intensität des Stromes platzt der kontrahierte Protoplast total und stirbt momentan ab und die rotgefärbte Vacuole zerfällt in eine Masse gelber Kügelchen, oder es gelingt den Tonoplast zu isolieren und das Plasma getrennt zu töten (Klemm, 1895) [1]. Nach der Isolierung konnten wir den weiteren Zerfall der Tonoplasten mit Hilfe des elektrischen Stromes hervorrufen. Manche Einzelheiten davon verdienen eine nähere Betrachtung.

Während unserer Untersuchungen an Zellen, die mit Neutralrot oder Kresylblau stark gefärbt waren, bemerkten wir, dass die isolierten und stark gefärbten Tonoplasten an einer gewissen Stelle platzen und dass der äussere, stark gefärbte Teil eines jeden Tonoplasten sich während des Desintegrationsprozesses ähnlich wie ein Sack aufrollt. Aus dem inneren, schwächer gefärbten Teil der Vacuole schüttet sich wie aus einem Sacke eine Masse winziger Körnchen und Kristalle aus, die sich überall in der Zelle zerstreuen

---

[1]) Bekanntlich stehen uns jetzt zahlreiche Isolierungsmethoden zur Verfügung. Klemm (1895) tötete das Zytoplasma und isolierte die Tonoplasten mit Induktionsstrom, Weis (1926) mit Gleichstrom. Mikrochirurgisch isolierten die Tonoplasten Seifriz (1928), Küster (1929), Lorey (1929), Plowe (1931), Chambers und Höfler (1931). De Vries (1885) isolierte die Tonoplasten durch mehrstündige Plasmolyse in KNO_3, Gicklhorn (1932 a) durch dieselbe Plasmolyse und oligodynamisch wirkende Kupferionen. Weber (1932 b) benutzte 2-mol Harnstoff und $^1/_{10}$ mol. oxalsaures Kali. Eichberger (1934) wandte letztens zur Plasmolyse $NaNO_3$ an, das Plasma tötete er durch verschiedene Faktoren ab. Ausser der Plasmolyse benützte Eichberger auch die Plasmoschise.

und bald darauf auskristallisieren. Aus der äusseren, dunkelgefärbten Hülle der isolierten Vacuole bleiben grosse dunkelgefärbte Kugeln zurück, an die herum sich nachher die Farbstoffkristalle ansetzen (Phot. 3 — 4, Tafel V).



a *b* *c*

Abb. 92.
Desintegration des isolierten Tonoplasten bei der Anode, schematisch. Näheres im Text

Während der Diskussion über das Tonoplastenproblem, die sich letztens zwischen Weber (1932a) und Höfler (1932) entwickelte, wies Weber auf die Möglichkeit hin, dass die Vacuole von einer lipoidreichen Hülle vacuolarer Herkunft umgeben ist. Diese Hülle „ist... nicht cytoplasmatischer Natur, stellt vielmehr die Oberflächenschicht der Vacuole selbst dar" (Weber, 1932a, S. 461). Höfler (1932) gibt in seiner Polemik gegen Weber wohl zu, dass dieser Einwand „einfach nicht zu widerlegen ist" und somit „die Herkunft der Wandung wird durch Webers Einwurf in Frage gerückt" (Höfler, 1932, S. 469). Auf S. 466 — 467 zählt Höfler jedoch die Argumente auf, die seiner Meinung nach gegen einen Vergleich der Vacuolen in den Epidermiszellen von Zwiebelschuppen mit den lipoidreichen Vacuolen von *Monotropa* (Bieder-

mann) sprechen [1]). Wir wollen die Frage, ob der stark sich färbende äussere Teil der Vacuole in den Epidermiszellen von Zwiebelschuppen (aus der konkaven Seite) nur Lipoide enthält, hier nicht entscheiden [2]); immerhin scheint es uns, dass auf Grund der angeführten Beobachtungen das Vorhandensein einer derartigen Oberfächenschicht, die sich mit vacuolären Vitalfarbstoffen färbt, sich nicht leugnen lässt. Überzeugend sind auch diesmal bloss jene Fälle, in denen die Desintegration langsam und stufenweise längs der Zellachse sich abwickelt.

Man könnte einwenden, dass die von uns beobachtete Hülle eine Art Niederschlagsmembran sein kann, die nach Höfler (1932, Anm. S. 467) „mit den flüssigen lipoiden Vacuolenwandungen nicht unmittelbar vergleichbar sind". Wir dürfen nicht vergessen, dass unsere Beobachtungen an Zellen gemacht wurden, die — von der Wirkung des Stromes selbst abgesehen — stark gefärbt und mit KNO_3 plasmolysiert waren [3]). Weis (1926), der in den Zellen von *Allium cepa*, einige Minuten nach der Einschaltung des elektr. Stromes beobachtete, wie von der an der Anode gelegenen Wand eine hyaline glänzende Membran sich abriss und durch die Vacuole gegen die Kathode zu sich bewegte, nimmt an, dass diese „wandernde Vacuolenhaut" eine künstliche Niederschlagsmembran ist. Für den flüssigen Charakter unserer äusseren starkgefärbten Vacuolenhaut spricht dagegen ihr Verhalten während des dargestellten Zerfalls: rings um die Stelle, an der nach dem Platzen der Vacuole der äussere Teil derselben sich aufrollt, kann man intensive Bewegungen, Zirkulationen und Strömungen konstatieren, die von den hier vorgehenden Oberflächenspannungserscheinungen zeugen. Der Desintegrationsprozess läuft — trotzdem er langsam von einem Zellende zum anderen fortschreiten kann — jedoch so rasch ab, dass es unmöglich war, ihn der Reihe nach, photographisch aufzunehmen. Infolgedessen haben wir nur Handskizzen verfertigt (Abb. 92). Die Vorgänge dürften sich aber sehr leicht filmen lassen.

---

[1]) dafür sprechen aber die Ergebnisse von Gicklhorn (1932 a) wenigstens was das Ganze des Zellsaftes der Zwiebelzelle anbelangt.

[2]) nach Eichberger (1934) kommen in den „Vakuolenhüllen" auch Eiweissstoffe vor.

[3]) in Anbetracht dessen scheint uns die Meinung Küsters (1929) vollkommen gerechtfertigt zu sein, dass mit dem Tonoplastenproblem sich vor allem die Pathologen beschäftigen sollten (vergl. Höfler, 1931, S. 83).

Wir müssen auch betonen, dass die flüssigen Eigenschaften der Vacuolenwand (von ihrer Herkunft abgesehen), die durch Chambers und Höfler (1931) und Plowe (1931) (siehe auch Höfler, 1931), mit der mikrochirurgischen Methode auf so prächtige Art und Weise bewiesen wurden, auf dem gleichen Untersuchungsmaterial und sogar auf einem ähnlich behandelten Material festgestellt wurden. Die Vitalfärbung mit Vakuolarfarbstoffen einer derartigen flüssigen Oberflächenschicht der Vacuole von *Allium cepa* glauben wir festgestellt zu haben. Dies berechtigt uns jedoch noch nicht zu der Annahme, dass es eben diese Schicht ist, die aus der Vacuole entstanden ist[1]).

Nach Beendigung unserer diesbezüglichen Versuche erhielten wir die Arbeit von Wulff (1934) über Vitalfärbungen der Tonoplasten mittels Chrysoidin. Wulff stellte mit Hilfe dieses Färbeverfahrens in den Epidermiszellen von *Allium cepa* Tonoplasten fest, die sich durch reiches Auftreten von Lipoiden auszeichnen. Wulff betont, dass er typische Färbungen bloss an Tonoplasten aus der morphologischen Unterseite der Alliumschuppen erhielt. Aus den Erörterungen von Wulff scheint zu folgen, dass er die Färbung in der der Vacuole anliegenden Zytoplasmaschicht lokalisiert; er nimmt somit an, dass der mit Chrysoidin sich färbende „Tonoplast" nicht die äusserste Schicht der Vacuole, sondern die innerste Schicht des Zytoplasmas repräsentiert. Dieser Schluss scheint insoferne gerechtfertigt, als von Chrysoidin die lipoiden Bestandteile des Zytoplasmas vitalgefärbt werden (Wulff, 1934). Aus unseren Färbungen mit Vacuolarfarbstoffen (Neutralrot, Kresylblau) vermögen wir jedoch nicht den gleichen Schluss zu ziehen. Wir neigen eher dazu, hier eine stärkere Färbung der äusseren Vacuolenschicht anzunehmen. Eine Verständigung in diesem scheinbaren Streit halten wir jedoch für durchaus möglich. Davon zeugen gewisse Erscheinungen, die bei der

---

[1]) Mit Recht betont Höfler (1932, S. 476—468): „Vor allem aber müsste, so scheint mir, doch in einem Fall dargetan werden, dass aus dem Zellsaft entstandene Lipoidhäute semipermeabel sind. Solange dieser Nachweis fehlt, können wir uns nicht entschliessen, die Vorstellung anzunehmen, dass semipermeable Membranen die in ihren Eigenschaften mit denen des Gesamtplasmas doch so weitgehend übereinstimmen... ohne plasmatische Grundlage spontan aus leblosem Lipoidsol des Zellsaftes entstehen".

Vitalfärbung solcher Pflanzenzellen, wie z. B. Schachtelhalmsporen, auftreten [1]).

Hier kommen zytoplasmatische Einschlüsse vor, die einerseits mit Neutralrot, Kresylblau, und anderen Vacuolarfarbstoffen, andererseits mit Chrysoidin und Vesuvin sich färben lassen. In den Tierzellen werden—wie bekannt—gewisse Granula ebenfalls durch Azofarbstoffe, z. B. Bismarckbraun, gefärbt. Andererseits wissen wir, dass typische Vacuolen in ausgewachsenen Pflanzenzellen eigentlich von Azofarbstoffen nicht gefärbt werden. Am besten illustriert diese Verhältnisse ein Vergleich der Färbeergebnisse bei solchen Zellen, wie z. B. Schachtelhalmsporen und Staubfadenhaarzellen von *Tradescantia*. Es zeigt sich, dass die physikalisch-chemische Konstitution des Protoplasten bei der vitalen Färbung eine bedeutende Rolle spielt. Die Einschlüsse, die in den Schachtelhalmsporen mit Neutralrot und Chrysoidin sich färben, können als Vacuolen betrachtet werden. Nach der modernen Auffassung kann nämlich diese Zellstruktur in einem verschiedenen Kolloidzustand auftreten (siehe Guilliermond, 1930, 1932). Ganz allgemein betrachtet sind es leblose Zytoplasmaausscheidungen, Entmischungs-Koazervations- bzw. Sekretionsprodukte (siehe Chlopin, 1927), Stellen wir uns auf den Standpunkt, dass der s. g. „Tonoplast" (gleich wie die Vacuole) ebenfalls ein derartiges Produkt der Zytoplasma-entmischung (Koazervation) ist [2]), dann besteht zwischen den Resultaten unserer Färbungen und denjenigen von Wulff gar kein Widerspruch. Sie würden übereinstimmend von dem Lipoidcharakter und einer bestimmten physikalisch-chemischen Struktur der „Vakuolenhülle" (Küster, 1929) zeugen.

Wir haben angenommen, das der Tonoplast ein Resultat der Zytoplasmaentmischung werden kann. Es ist aber wohl möglich, dass er ein Produkt der Zellsaftentmischung repräsentiert (Weber, 1932). Wir glauben, dass dieses Dilemma auf Grund unserer Vitalfärbungsversuche sowie deren von Wulff nicht entschieden werden kann. Auf Grund solcher

---

[1]) Die erwähnten Erscheinungen wurden in unserem Laboratorium von einem von uns gemeinsam mit Frl. H. Siemaszko einer Untersuchung unterzogen und werden demnächst veröffentlicht werden.

[2]) bemerkenswert ist die durch Bungenberg de Jong (1932) betonte Tatsache, dass der Koazervationsprozess zur Bildung von Grenzschichten führen kann.

Versuche kann man nur sagen, dass aller Wahrscheinlichkeit nach die Vakuolenhülle keine lebendige Struktur ist. Ein derartiger Standpunkt — bei dem über den protoplasmatischen Charakter dieser Struktur und ihre Vitalität nicht entschieden wird — würde sogar vollkommen mit den letzten Untersuchungen von Eichberger (1934) übereinstimmen, der trotz der nachgewiesenen Gemeinsamkeit der Eigenschaften von Plasmahaut und Vakuolenhülle, diese letzte dennoch als leblose Systeme betrachtet. Ihre Eigenschaften werden nach ihrer Isolierung, d. h. in einem ganz veränderten Zustande, geprüft (Küster, 1929, S. 133—141).

Dass wir bei der Vitalfärbung von Epidermiszellen von Zwiebelschuppen mit Vakuolarfarbstoffen eine stärkere Färbung der äusseren Vakuolenschicht in Rechnung ziehen müssen, dafür sprechen ebenfalls gewisse Desorganisationserscheinungen des Protoplasten an der Kathode.

B. Entmischung und Desintegration an der Kathode.

Der Charakter der Desintegration an der Kathode war in allen unseren Versuchen überall sehr typisch. Zuerst färbt sich die Vacuole kirschrot, worauf Zytoplasma und Kern — wie früher dargestellt — teilweise koagulieren und ebenfalls sich färben. Oft kann man beobachten, dass fast noch unkoagulierte Kerne sich bereits zu färben beginnen (vergl. Abschnitt I); nachher wird die Koagulation intensiver. Solange die Vacuolen noch gefärbt sind — ist dieser Vorgang noch ganz umkehrbar (Abschn. I). Nachher zerfällt die Vacuole in eine Reihe kleinerer und grösserer, blutroter Kugeln, die — charakteristischerweise, — stets in der Oberflächenschicht der früheren Vacuole, d. i. gleich unter dem Zytoplasma, liegen (Phot. 5—6, Tafel. V). Das von der früheren Vacuole eingenommene Zentrum ist fast farblos. Diesen Charakter weist die Desintegration an der Kathode in allen Zellen auf, die in reinem Leitungswasser, dest. Wasser, Glyzerin oder Paraffinöl lagen. Den gleichen Charakter trägt sie ebenfalls in den mit 10% KNO_3 plasmolysierten Zellen. Stets liegen die aus dem Zerfall der Vacuole entstandenen kirschroten Kugeln gleich unter dem Zytoplasma. Wir unterstreichen diesen Umstand deshalb, weil allgemein Fälle bekannt sind, in denen man eine tropfige Entmischung auf dem gan-

zen Terrain des Zellsaftes hervorrufen kann (Lit. vergl. Becker, 1932, S. 390). Wie wir im nächsten Abschnitt erfahren werden, lässt sich eine derartige tropfige Entmischung des ganzen Zellsaftes auch mit dem elektr. Strome hervorrufen (bei der Anode). In den Epidermiszellen von Zwiebelschuppen (aus der konkaven Seite) liegen aber die an der Kathode entstehenden Tropfen stets in der Oberflächenschicht der Vacuole. Auch diese Desintegration ist in Gewissen Grenzen umkehrbar. Durch Poländerung gelang es uns die an der Oberfläche des Vacuolenraumes liegenden Kugeln zum Zusammenfliessen und zur Ausbildung eines homogenen „Tonoplasten" innerhalb der früheren Zytoplasmahülle zu bringen. Dies würde, unserer Meinung nach, zugunsten der Annahme sprechen, dass unsere, mit Vakuolarfarbstoffen färbbare Vacuolenhülle, einen flüssigen Charakter länger bewahren kann. Auf Grund dieser Beobachtungen entsteht aber eine andere Frage, ob wir nicht annehmen dürften, dass es zwei verschiedene „Vacuolenhüllen" in einer Zelle gibt: eine die ihre Herkunft dem Zytoplasma verdankt, und eine andere, unabhängige von dieser — die aus dem Zellsaft entstanden ist. Es ist also möglich, dass die s. g. „Tonoplasten", an denen man bisher die physikalisch-chemischen Untersuchungen durchführt, ganz verschiedener Herkunft sein können und ganz verschiedene Strukturen repräsentieren. Ein isolierter „Tonoplast" von *Allium cepa* z. B., kann eine ganz andere Struktur sein, als z. B. ein „Tonoplast" aus *Spirogyra*-zellen. Was für einen „Tonoplasten" wir bei der Isolierung zur Untersuchung bekommen, das ist von den physikalisch-chemischen Eigenschaften des Zellsaftes, sowie des Zytoplasmas verschiedener Zellen abhängig. Beide Vacuolenhüllen, oder eine von ihnen, können bei diesen Untersuchungen als vitale Artefakte entstehen (z. B. als Resultat der Plasmolyse, Koagulation oder Vitalfärbung u. s. w.; vergl. Küster, 1929). Wir glauben, dass auch aus rein theoretischen Gründen diese Annahme erlaubt ist (vergl. Weber, 1932).

Dass derartige Vörgange überhaupt allgemeiner verbreitet sind, beweisen am besten Beobachtungen an Sekretionszellen. Aus den schönen Untersuchungen von Gicklhorn (1932 b) erfuhren wir, dass in den Sekretionszellen von *Gera-*

nium macrorrhizum der grosse mit Neutralrot gefärbte Tropfen in einem bestimmten Entwicklungsstadium in zwei Phasen zerfällt: in eine schwächer gefärbte innere, und eine stärker gefärbte oberflächige, kappenförmige Phase. Ähnliches beobachteten wir in den Sekretionszellen junger Keimlinge von *Nymphaea alba;* da die betreffenden Beobachtungen noch nicht abgeschlossen sind, können wir dieselben hier nicht eingehender darstellen [1]). Die beigefügten Photobilder (Phot. 10—13, Tafel VI) stellen die stark den Vakuolarfarbstoff speichernde Schicht vor; sie ist an der Oberfläche der Vacuole gelegen und ist nicht immer auf der ganzen Oberfläche der Vacuole verbreitet. Oft tritt hier ein schönes Netz von einer dem Golgi'schen Apparat analogen Struktur auf (Phot. 13, Tafel VI) (siehe Gicklhorn, 1932 b). Zwar bewahrt die erwähnte äussere Schicht in den betreffenden Zellen nicht den Charakter einer flüssigen Phase; in den weiteren Entwicklungsphasen der Zelle verhält sich dieselbe wie eine brüchige Membran, deren Überreste nach der Ausscheidung des flüssigen Inhaltes in der Zelle zurückbleiben. Immerhin scheint es uns, dass diese Vorgänge von denjenigen, die in den Zellen von *Allium* sich abspielen, nicht diametral verschieden sind [2]). Wir müssen bei der Interpretation aller erwähnten Erscheinungen in erster Reihe den Einfluss des Vitalfarbstoffes selbst berücksichtigen (über die koagulierende Wirkung der Vitalfarbstoffe siehe Pfeiffer, 1928 und Küster, 1929 b), und zwar nicht nur auf das Zytoplasma, sondern auch auf den Inhalt der Vacuole. Wir müssen nochmals die Richtigkeit der Küster'schen These hervorheben, dass die dargestellten Strukturen eher einen pathologischen Charakter tragen. Diese These ist sogar dann richtig, wenn man den zytoplasmatischen Charakter der s. g. Vakuolenhülle nicht annimmt.

Für die Richtigkeit dieses Standpunktes scheinen auch die Untersuchungen von Gicklhorn und Möschl (1930) über die Vacuolenkontraktion bei *Symphytum* zu sprechen. Die ge-

---

[1]) Die im Herbst in Kristallschalen ausgesäten Samen von *Nymphaea* keimen schon recht gut im Jänner oder Februar. Im Frühling wuchsen aus diesen Samen schon kleine Pflanzen aus, deren Stengel und teilweise auch die Blätter mit Sekretionszellen bedeckt sind. Man kann die ganze Pflanze in Wasser auf den Objektträger legen und die betreffende Zellen ohne Deckglas mit Wasserimmersion in wahrhaft vitalen Bedingungen beobachten.

[2]) vergl. z. B. Küster, 1927, seine Abbildungen.

nannten Autoren behaupten, dass „die Vitalfärbung allein, speziell die zunehmende Farbstoffspeicherung jene Bedingungen und Veränderungen im Zellsaft bewirken, die ihrerseits erst die plasmatischen Grenzschichten alterieren" (S. 530—531, Unterstreichung der Autoren). Ebenso spricht der Umstand, dass die sich kontrahierende Vacuole die Gestalt einer Zelle behält (Gicklhorn und Weber, 1927) unseres Erachtens dafür, dass in der Vacuole feste Oberflächenschichten entstehen. Bei *Symphytum* bildet sich — wie Gicklhorn und Möschl angeben — die neue „Vacuolenhaut" ganz einfach bei einem bestimmten Grad der Zellsaftkontraktion: „An den Papillen von *Symphytum* ist dagegen der Vorgang der erneuten Bildung einer Vacuolenhaut von einem bestimmten Grad der Zellsaftkontraktion an direkt zu verfolgen: ebenso ist die Tatsache auffallend, dass im Raum zwischen dem Plasma und dem ersten, kontrahierten Zellsaft bald wieder Farbstoffspeicherung erfolgt" (S. 531, unsere Unterstreichungen). Gicklhorn konstatierte bereits im J. 1929, dass Vitalfärbung gewisse Änderungen im Aggregatzustand des Zellsaftes in der Richtung einer zunehmenden Verfestigung bzw. Viscositätserhöhung verursacht.

Wir stellen nochmals die Frage auf, ob alle oben erwähnten Tatsachen, nicht für die Existenz von zwei verschiedenen „Vakuolenhüllen" sprechen können.

III.

Von den zahlreichen Objekten, die uns zur Untersuchung der Desintegrationserscheinungen nach Durchleitung des elektr. Stromes dienten, verdienen die Epidermiszellen von jungen *Aspidistra elatior*-blättern in gewisser Hinsicht eine besondere Erwähnung. Gleich nach Färbung des Tangentialschnittes mit Neutralrot können wir im Zellsaft der der Verwundungsstelle benachbarten Zellen die Entmischung in Form roter, aus der Literatur so gut bekannter Kugeln, konstatieren (Scarth, 1926; Linsbauer, 1927; Gicklhorn, 1929; Küster, 1929; Guilliermond, 1930; Weber, 1930; Becker, 1932 u. a.). Setzen wir darauf die Schnitte der Einwirkung des elektr. Stromes aus, so treten auf der Anode in den entmischten Kugeln merkwürdige Strukturveränderungen auf. Die Kugeln ändern vor allem ihre Farbe, werden gelb (alkalische Reaktion), worauf eine Differenzierung in eine äussere „mem-

branartige" Struktur und im Innern gelegene Körner erfolgt. Die letzteren fliessen zusammen und in diesem Falle wird die Kugel auf eine gewisse Art vacuolisiert, oder sie werden auf eine sehr charakteristische Weise über die Membran explosivartig hinausgeschleudert. Wir erachten es für überflüssig, in Einzelheiten der erwähnten Strukturen einzugehen, da ähnliche Gebilde in den Vacuolen anderer Pflanzenobjekte mehrfach gefunden wurden (Mirande, 1923—1925; Emberger, 1924; Miraton, 1925; Gicklhorn, 1929; Guilliermond, 1934; siehe auch Guilliermond, Mangenot und Plantefol, 1933). Die beigefügten Abbildungen (Phot. 7—9, Tafel VI) illustrieren alle möglichen Formen derselben in den verschiedensten Momenten ihrer Entstehung. Sehr typisch ist die Sprossung der erwähnten Kugeln sowie die Ausscheidung kleinerer Tropfen. Während einer derartigen, manchmal explosiven Sprossung faltet sich die Kugel und kontrahiert sich und es entstehen aus ihr mehrschichtige Gebilde mit konzentrischen Schichten.

Zweifelsohne haben wir es hier mit dem Entstehungsprozess von Strukturen zu tun, die Mirande seinerzeit als „Sterinoplasten" beschrieb. Emberger, sowie Miraton bewiesen jedoch, dass die erwähnten Gebilde in der Vacuole liegen und daher keine Plastiden sind (siehe auch Reilhes, 1933). Die ausführlichen Untersuchungen von Guilliermond (1934) ergaben, dass eine mikrochemische Generalisation dieser Strukturen sich keineswegs durchführen lässt. Was unsere Untersuchungen betrifft, so führten wir an *Aspidistra* keine derartige genaue mikrochemische Analyse aus, wie Guilliermond an *Iris*. Unsere Untersuchungen besitzen somit nur den Wert einer sehr einfachen Beobachtungsmethode, wie Strukturen dieser Art entstehen und vergehen. Mit unserer Methode lässt sich an dem erwähnten Objekt die Sprossung, Umwandlung und der Zerfall der entmischten Kugeln, die Bildung der von Mirande beschriebenen „calcules" und zuletzt die Entstehung der „Membranstrukturen" mit allen Einzelheiten verfolgen. Überdies sind alle dargestellten Veränderungen vollständig umkehrbar. Es genügt die Pole zu ändern, und schon beginnt im raschen Tempo der reversible Prozess: die geschichteten Gebilde runden sich ab, verflüssigen sich, es bilden sich flüssige Kugeln, die miteinander zusammenfliessen und es entsteht wieder eine homo-

gene rotgefärbte Vacuole. An einem Präparat kann man dieses Verfahren mehrmals in beiden Richtungen wiederholen. Die Blattzellen von *Aspidistra* sind — scheint's — gegen die Reaktionsänderungen der Untersuchungsflüssigkeit sehr widerstandsfähig.

All die Veränderungen lassen sich ebensogut hervorrufen, wenn man den Schnitt auf anderem Wege alkalisiert und daraufhin mit einer Säure behandelt. Wir benutzten zu diesem Zwecke verdünntes Ammoniak und Essigsäure. Nach Behandlung mit Ammoniak treten in den Vacuolen massenweise kleine, sich gelb färbende Kugeln auf (alkalische Reaktion)[1], die in grössere Gebilde zusammenfliessen, diese wieder unterliegen den verschiedensten Veränderungen, wie bereits früher dargestellt. Nach Durchwaschen mit Essigsäure bilden sich wieder die roten Kugeln zurück, die in eine homogene Vacuole zusammenfliessen. Der Prozess ist sehr klar und effektvoll.

Die Frage der chemischen Beschaffenheit des Zellsaftes in den Epidermiszellen der *Aspidistra*-blätter lassen wir einstweilen unentschieden, wir müssen jedoch betonen, dass bei *Tulipa, Iris, Lilium* bzw. *Aspidistra* (siehe Gicklhorn, Guilliermond, Miranda) der Zellsaft wahrscheinlich gewisse Substanzen von ähnlicher physikalisch-chemischen Beschaffenheit enthält.

Nicht überall lassen sich nämlich aus den entmischten Kugeln des Zellsaftes die erwähnten Strukturen zum Vorschein bringen. So z. B. kann man in der Epidermis von *Allium*-blättern oder in den Spaltöffnungsapparatzellen derselben (s. Linsbauer, 1927) die Kugeln sehr deutlich mit Vitalfarbstoffen entmischen; mit der bei *Aspidistra* benutzten Methode erhielten wir jedoch keine derartigen Strukturen.

Zusammenfassung.

1. Durch Durchleitung des elektr. Stromes lässt sich in vitalgefärbten Epidermiszellen von *Allium*-schuppen eine umkehrbare Vitalfärbung der Zellkerne leicht erreichen. Manche Einzelheiten dieser Färbung wurden hier bekanntgegeben.

---

[1]) Sie treten hier in der ganzen Vacuole und nicht nur in der Oberflächenschicht derselben auf. Vergl. die Desintegration an der Kathode bei *Allium* in dem vorigen Abschnitt.

Überdies enthält die Arbeit auch Beobachtungen über andere, anders behandelte Objekte.

2. Die angewandte Methode führt unter gewissen Bedingungen zur Desorganisation des Protoplasten. Einige Erscheinungen derselben wurden einer näheren Diskussion unterzogen:

a) Die charakteristische Form gewisser Entmischungserscheinungen hängt in erster Reihe von dem pH und der Geschwindigkeit des Entmischungsprozesses ab.

b) In den isolierten „Tonoplasten" von *Allium* ist eine, die basischen Vacuolarfarbstoffe stark speichernde, Oberflächenschicht vorhanden. Im Anhang daran werden einige Tatsachen veröffentlicht, die unserer Meinung dafür sprechen, dass die s. g. Vacuolenhülle ein lebloses Sekretionsprodukt ist. Es ist auch auf die Möglichkeit hingewiesen, dass in einer Zelle zwei verschiedene „Vakuolenhüllen" entstehen können.

c) In den Epidermiszellen von jungen *Aspidistra*-blättern lassen sich durch umkehrbare Entmischung im Zellsaft Strukturen hervorrufen, die den s. g. „Sterinoplasten" von Mirande analog sind.

Literatur.

Albach W. 1929. Zellenphysiologische Untersuchungen über vitale Protoplasmafärbung. Protoplasma, 5, p. 412.

Alexandrov W. 1932. Über die Bedeutung der oxydo-reduktiven Bedingungen für die vitale Färbung mit besonderer Berücksichtigung der Kernfärbung in lebendigen Zellen. Protoplasma, 17, p. 161.

Arnold J. 1914. Über Plasmastrukturen. Jena.

Bank O. 1933a. Die Entmischung des vitalgefärbten Zellsaftes der Zwiebelepidermis. Protoplasma, 18, p. 620.

— 1933b. Die umkehrbare Entmischung des Kernes bei *Allium Cepa* und im *Arbacia*-Ei. Protoplasma, 19, p. 125.

Becker W. A. 1932. Experimentelle Untersuchungen über die Vitalfärbung sich teilender Zellen. Studien über die Zytokinese. Acta Soc. Bot. Poloniae, 9, p. 381.

— 1933. Vitalbeobachtungen über den Einfluss von Methylenblau und Neutralrot auf den Verlauf von Karyo- und Zytokinese. Beitrag zur Pathologie der Mitose. Cytologia, 4, p. 135.

Bělař K. 1930. Über die reversible Entmischung des lebenden Protoplasmas I. Protoplasma, 9, p. 209.

Bungenberg de Jong H. G. 1932. Die Koazervation und ihre Bedeutung für die Biologie. Protoplasma, 15, p. 110.

Chambers R. and Höfler K. 1931. Micrurgical Studies on the tonoplast of *Allium cepa*. Protoplasma, 12, p. 338.

Chlopin N. 1927. Experimentelle Untersuchungen über die sekretorischen Prozesse im Cytoplasma. I. Über die Reaktion der Gewebselemente auf intravitale Neutralrotfärbung. Arch. f. exp. Zellf., 4, p. 462.

Dangeard P. 1923. Recherches sur l'appareil vacuolaire dans les végétaux. Le Botaniste, 15, p. 1.

Eichberger R. 1934. Über die „Lebensdauer" isolierter Tonoplasten. Protoplasma, 20, p. 606.

Emberger L. 1924. Observations cytologiques sur Lilium candidum. C. Rend. Acad. Sci., 177.

Gicklhorn J. 1927. Über vitale Kern- und Plasmafärbung an Pflanzenzellen, Protoplasma, 2, p. 1.

— 1929. Beobachtungen über die vitale Farbstoffspeicherung. Kolloidchem. Beihefte, 28, p. 367.

— 1930. Zur Frage der Lebendbeobachtung und vitalfärbung von Chromosomen pflanzlicher Zellen. Protoplasma, 10, p. 345.

— 1932a. Intracelluläre Myelinfiguren und ähnliche Bildungen bei der reversiblen Entmischung des Protoplasmas. Protoplasma, 15, p. 90.

— 1932b. Beobachtungen zu Fragen über Form, Lage und Entstehung des Golgi — Binnenapparates. Protoplasma, 15, p. 365.

Gicklhorn J. und Dejdar E. 1931. Beobachtungen an elektrisch gereizten Pflanzenzellen und die Frage des Nachweises reversibler Permeabilitätserhöhung. Protoplasma, 13, p. 592.

Gicklhorn J. und Möschl L. 1930. Vitalfârbung und Vacuolenkontraktion an Zellen mit stabilem Plasmaschaum. Protoplasma, 9, p. 521.

Gicklhorn J. und Weber F, 1927. Über Vakuolenkontraktion und Plasmolyseform. Protoplasma, 1, p. 427.

Guilliermond A. 1930. Le vacuome des cellules végétales. Protoplasma, 9, p. 133.

— 1932. La structure de la cellule végétale: Les inclusions du cytoplasme et en particulier les chondriosomes et les plastes. Protoplasma, 16, p. 291.

— 1934. Recherches cytologique sur les pigments anthocyaniques et les composés oxyflavoniques. Revue gen. de Bot., 46, p. 1.

Guilliermond A., Mangenot G., Plantefol L. 1933. Traité de cytologie végétale. Paris, 1195 pp.

Haber F. 1922. Über amorphe Niederschlâge und Kristallinische Sole. Ber. Deutsch. Chem. Ges., 55.

Höfler K. 1931. Das Permeabilitätsproblem und seine anatomischen Grundlagen. Ber. Deutsch. Bot. Ges., 49, p. 79.

— 1932. Zur Tonoplastenfrage. Protoplasma, 15, p. 462.

Klemm P. 1895. Desorganisationserscheinungen der Zelle. Jahrb. f. wiss. Bot., 28, 627.

Kuwada Y, and Sakamura T. 1927. A contribution to the colloid-chemical and morphological study of chromosomes. Protoplasma, 1, p. 239.

Kühne W. 1864. Untersuchungen über Protoplasma und Contractilität. Leipzig.

Küster E. 1911. Über die Aufnahme von Anilinfarben in lebende Pflanzenzellen. Jahrb. f. wiss. Bot., 50, p. 95.

— 1912. Über die Aufnahme von Anilinfarben in lebende Pflanzenzellen. Jahrb. f. wiss. Bot., 50, p. 261.

— 1924. Experimentelle Physologie der Pflanzenzelle. Abderhald. Handb. biol. Arbeitsmeth., 11. Abt. I.

— 1926. Über vitale Protoplasmafärbung. Zeitschr. f. wiss. Mikr., 43, p. 378.

— 1927. Beiträge zur Kenntnis der Plasmolyse. Protoplasma, 1, p. 73.

— 1929a. Beobachtungen an verwundeten Zellen. Protoplasma, 7, p. 150.

— 1929b. Pathologie der Pflanzenzelle. I T. Pathologie des Protoplasmas. Berlin.

Linsbauer K. 1927. Weitere Beobachtungen an Spaltöffnungen. Planta, 3, p. 527.

Lorey E. 1929. Mikrochirurgische Untersuchungen über die Viscosität des Protoplasmas. Protoplasma, 7, p. 171.

Makarov P. 1934. Analyse der Wirkung des CO und der Cyanide auf die Zelle mit Hilfe der Vitalfärbung. Untersuchung am Darmepithel des Frosches. Protoplasma, 20, p. 530.

Mangenot G. 1928. Sur la signification des cristaux rouges apparaissant, sous l'influence du bleu de crésyl, dans les cellules de certaines algues. C. Rend. Acad. Sci., 186, p. 93.

Martens P. 1927. Le cycle du chromosome somatique dans les phanérogames. III. Recherches experimentales sur la cinèse dans la cellule vivante. Cellule, 38, p. 67.

Mirande M. 1923a. Sur la nature protéolipoidique des stérinoplastes du Lis blanc. C. Rend. Acad. Sci., 176.

— 1923b. Sur les organites élaborateurs particuliers (stériplastes de l'épiderme des écailles de bulbes de Lis blanc). C. Rend. Acad. Sci., 176.

— 1925. Sur la phytostérine des écailles des bulbes dans les espèces du genre Lilium. C. Rend. Acad. Sci., 180.

Miraton A. 1925. Recherches morphologiques sur le bulbe de Lis blanc (Lilium candidum L.). Contribution à l'étude des qualités pharmacopexiques des mitochondries. Thèse. Montpellier, 136 pp.

Nassonov D. 1930. Über den Einfluss der Oxydationsprozesse auf die Verteilung von Vitalfarbstoffen in der Zelle. Zeitschr. f. Zellf. u. mikr. Anat., 11, p. 179.

— 1932a. Über die Ursachen der reversiblen Gelatinierung des Zellkerns. Protoplasma, 15, 239.

Nassonov D. 1932b. Vitalfärbung des Macronucleus aerober und anaerober Infusorien. Protoplasma, 17, p. 218.

Nebel B R. 1932. Chromosome Structure in Tradescantiae I. Methods and Morphology. Zeitschr. f. Zellf. und mikr. Anat., 16, p. 251.

Pfeiffer H. 1928. Über Methoden zum Studium der Verkieselungsprozesse innerhalb lebender pflanzlicher Zellen. Arch. f. exp. Zellf., 6, p. 418.

Plowe J. Q. 1931. Morphological membranes at protoplasmic surfaces. Protoplasma, 12, p. 196.

Politzer G. 1924/25. Histologische Untersuchungen über die Giftwirkung der sogenannten Vitalfarbstoffe. Verh. der Zool.-Bot. Ges. in Wien, 74/75, p. 288.

Reilhes R. 1933. Sur la nature chimique et la signification des stérinoplastes. C. Rend. Soc. Biol., 113, p. 267.

Sakamura T. 1927. Chromosomenforschung an frischem Material. Protoplasma, 1, p. 537.

Scarth G. W. 1926. The mechanism of accumulation of dyes by living cells. Plant Physiology, 1, p. 215.

Seifriz W. 1928. New material for microdissection. Protoplasma, 3, p. 191.

Sharp L. W. 1929. Structure of large somatic chromosomes. Bot. Gazette, 88, p. 249.

Shigenaga M. 1933. On the action of sodium glycocholat on nuclei and chromosomes. Mem, of the Coll. of Sci. Kyoto Imp. Univ. Ser. B. 8, p. 217.

Strugger S. 1931. Zur Analyse der Vitalfärbung pflanzlichen Zellen mit Erythrosin. Ber. Deutsch. Bot. Ges., 49, p. 453.

— 1932. Über das Verhalten des pflanzlichen Zellkernes gegenüber Anilinfarbstoffen. Ein Beitrag zur Methodik der Bestimmung des Isoelektrischen Punktes der Kernphasen. Planta, 18, p. 561.

Teleżyński H. 1930. Cycle évolutif du chromosome somatique I. Observations vitales sur les poils staminaux de *Tradescantia virginiana* L. Acta Soc. Bot. Poloniae, 7, p. 381.

Tischler G. 1934. Allgemeine Pflanzenkaryologie. II Aufl. I Teil. Der Ruhekern. Berlin.

Vries de H. 1885. Plasmolytische Studien über die Wand der Vacuolen. Jahrb. wiss. Bot., 16, p. 465.

Weber F. 1930. Vacuolenkontraktion, Tropfenbildung und Aggregation in Stomata-Zellen. Protoplasma, 9, p. 128.

— 1932a. Plasmalemma oder Tonoplast? Protoplasma, 15, p. 453.

— 1932b. Plasmolyse und „surface precipitation reaction". Protoplasma, 15, p. 522.

Weis A. 1926. Beiträge zur Kenntnis der Plasmahaut. Planta, 1, p. 145.

Wulff H. D. 1934. Lebendfärbungen mit Chrysoidin. Planta, 22, p. 70.

Yamaha G. und Ishii T. 1932. Über die Ionenwirkung auf die Chromosomen der Pollenmutterzellen von *Tradescantia reflexa* I. Cytologia, 3, p. 333.

Erklärung der Tafeln V und VI.

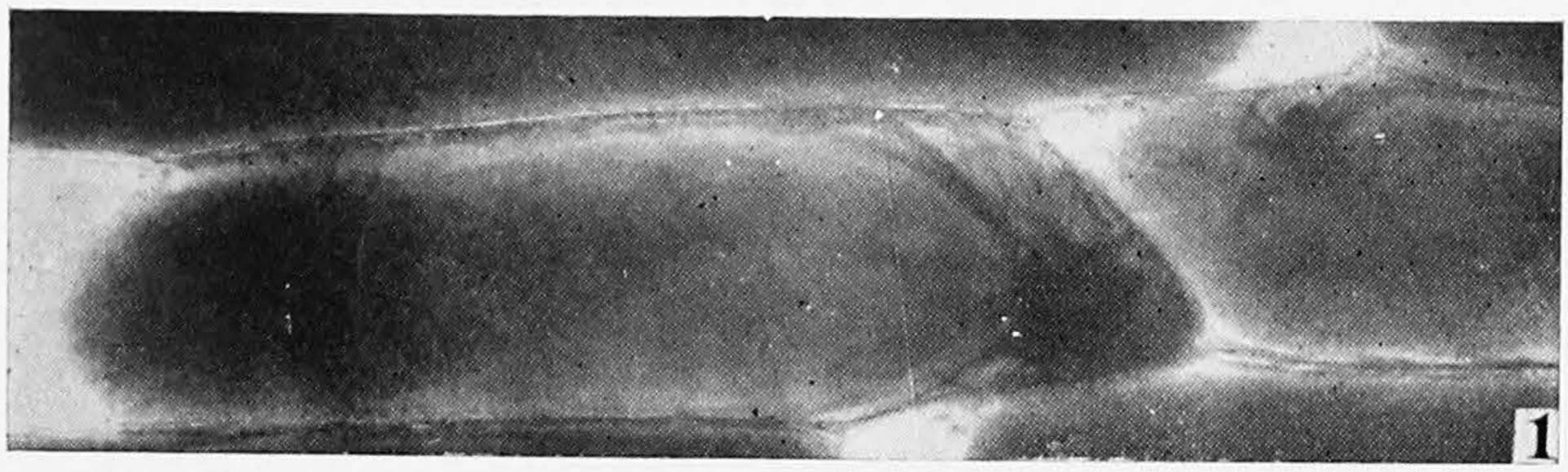
Phot. 1—2. Desintegration und Entmischnug an der Anode. Die Entstehung strauchartiger Kristalle bei langsamer Entmischung.

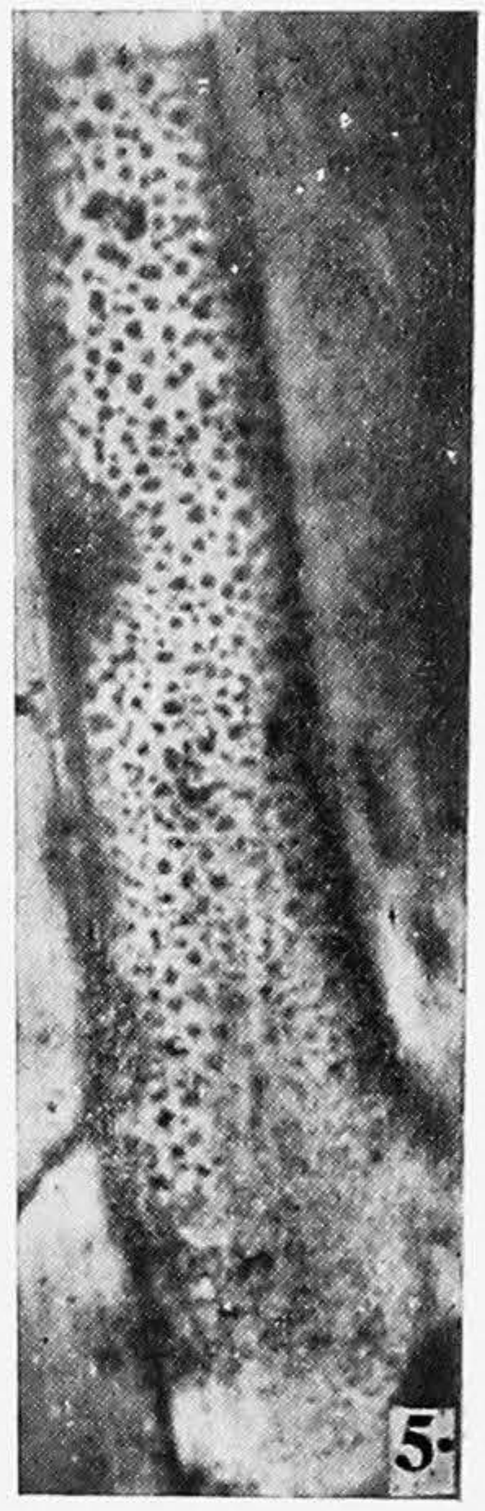
Phot. 3—4. Desintegration an der Anode. Entstehung der stark gefärbten Kugeln aus der Oberflächenschicht der isolierten Vacuole. (verg. Abb. 92 im Text).

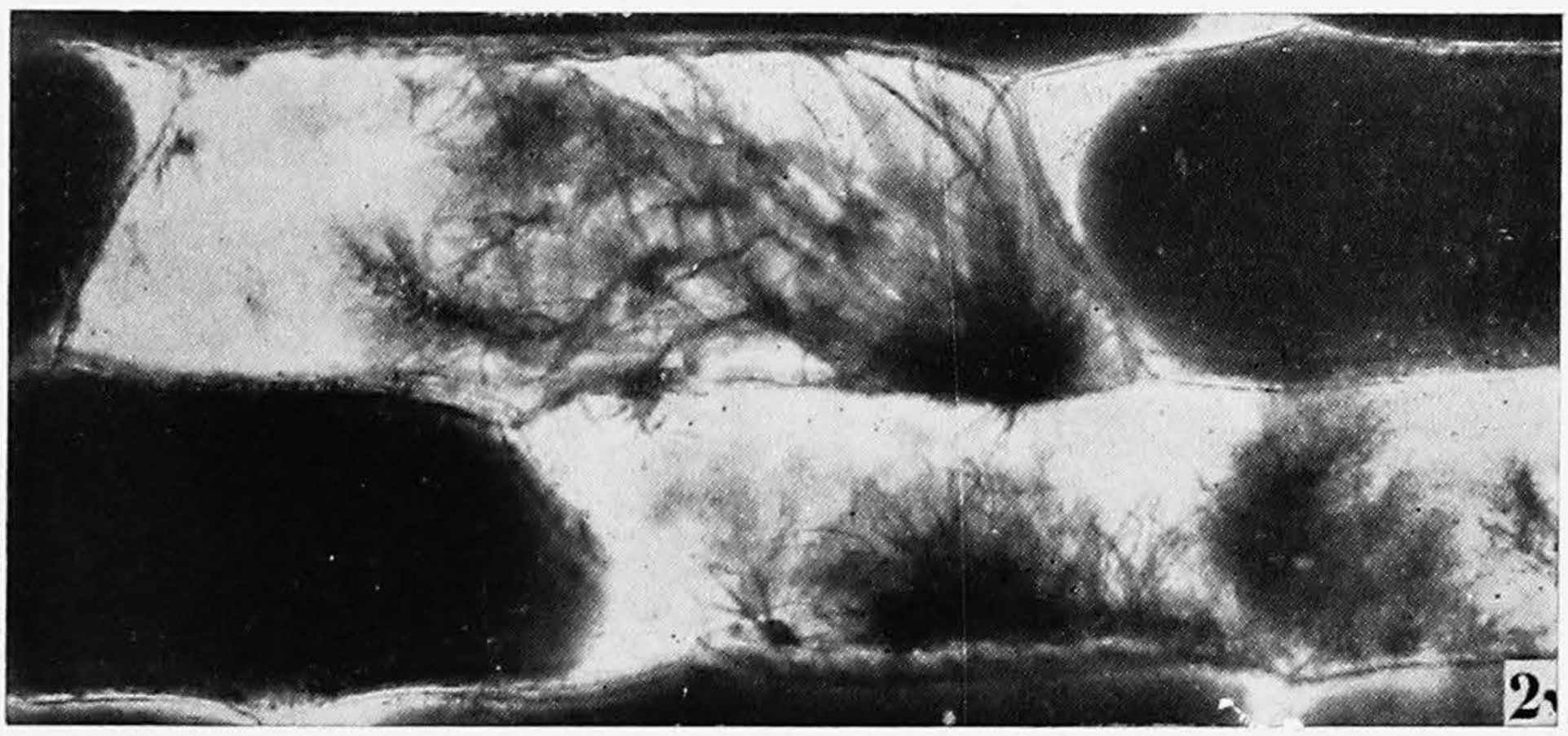
Phot. 5—6. Desintegration an der Kathode. Zerfall der vitalgefärbten Vakuolenhülle in Tropfen, die unmittelbar unter der Zytoplasmaoberfläche liegen. Diese Erscheinung ist reversibel.

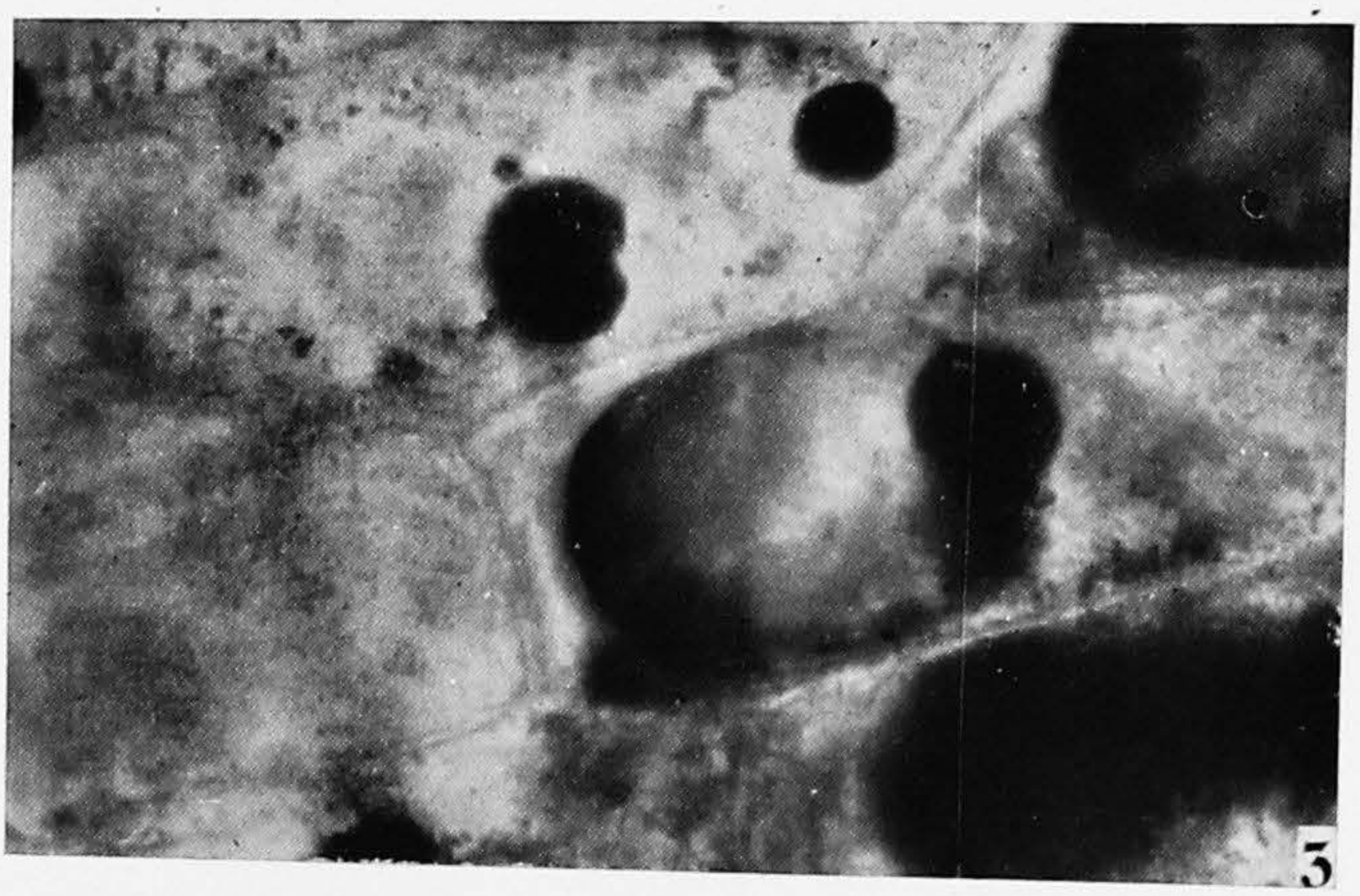
Phot. 7—9. Die reversible Entmischung des Zellsaftes in *Aspidistra*-blättern. Verschiedene Formen der entmischten Kugeln und Membranstrukturen

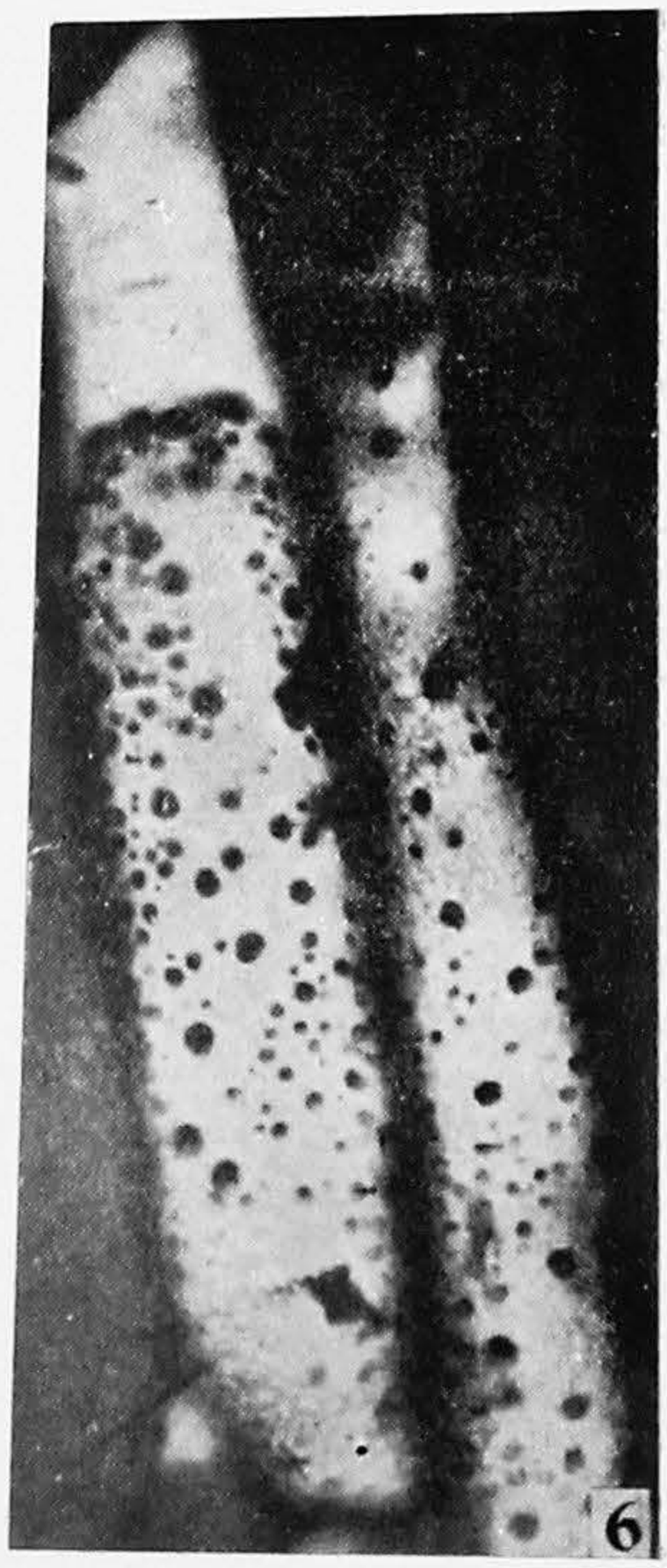
Phot. 10—13. Verschiedene Entwicklungsstadien einer mit Neutralrot vitalgefärbten Sekretionszelle von *Nymphaea alba*. Bei Phot. 13 eine netzförmige „Golgi"-Struktur.

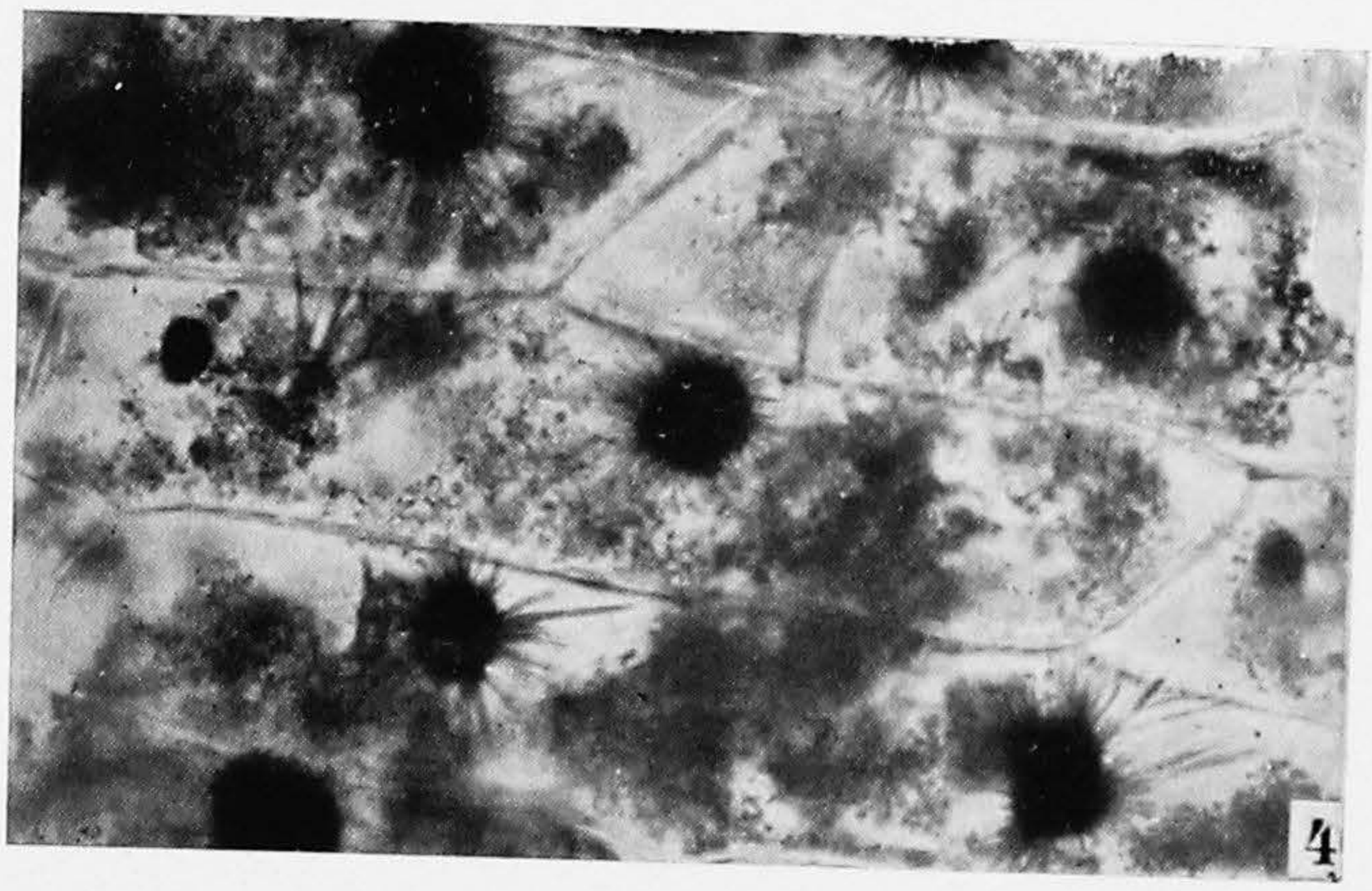




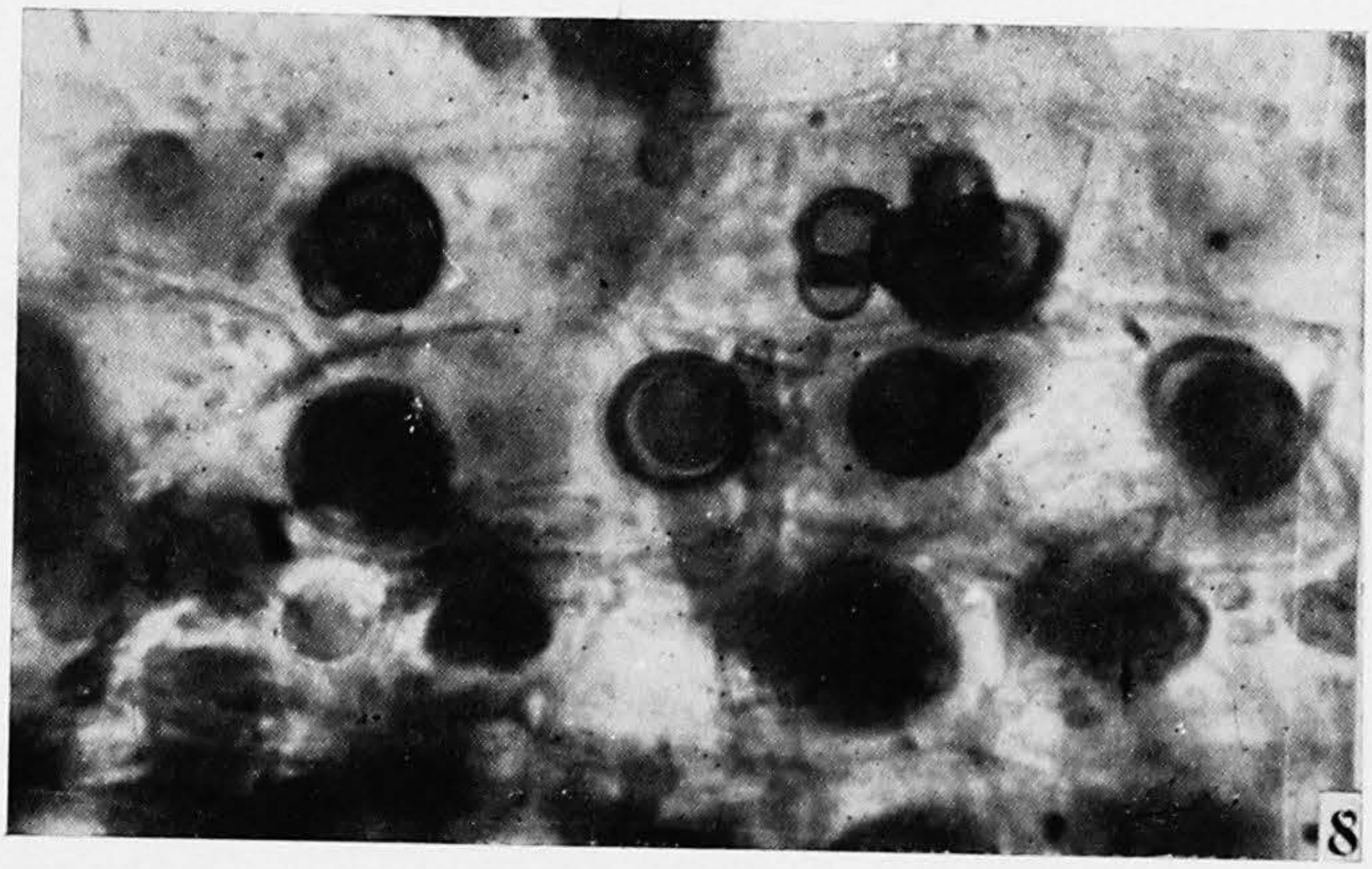


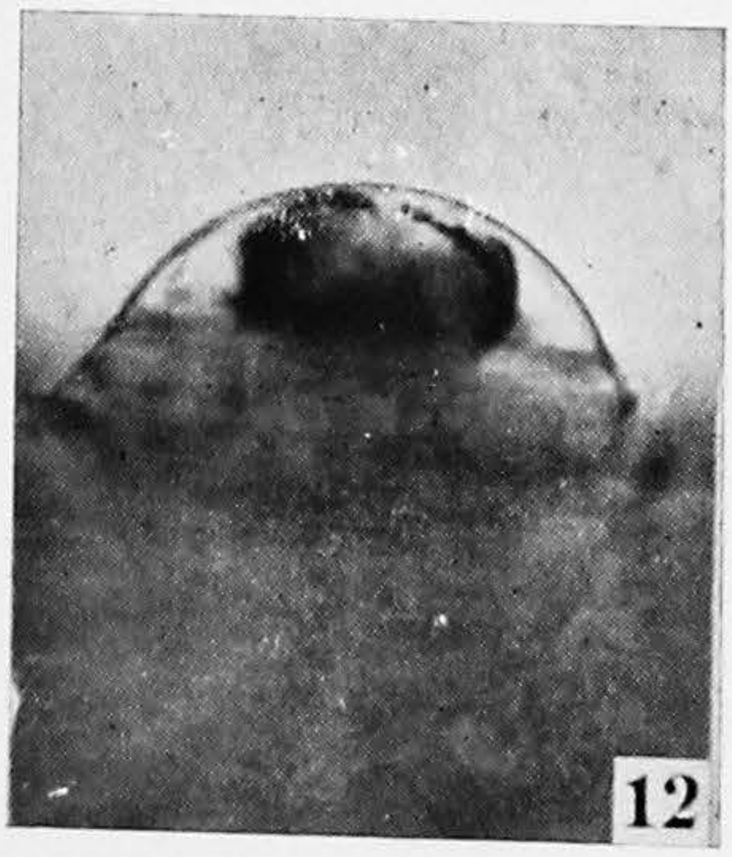


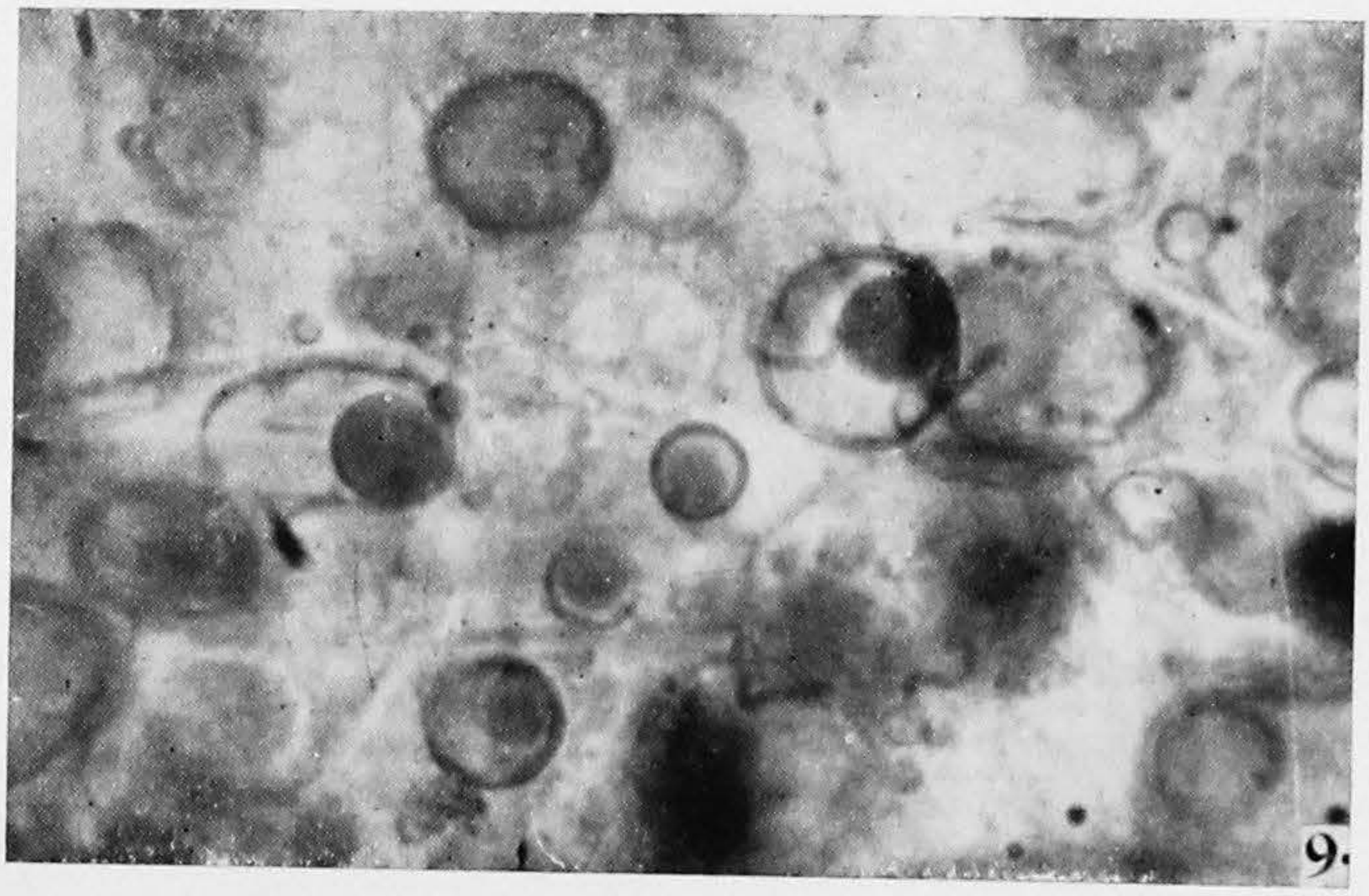




W. A. Becker und Z. Beckerowa.







W. A. Becker und Z. Beckerowa.